

Balıkesir İli'nden Toplanan *Geranium Macrorrhizum* (Geraniaceae) Türünün Metanol Ekstresinin Biyolojik ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

Yasemin SUNUCU KARAFAKIOĞLU*

Uşak Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Türkiye
Geliş / Received: 15/07/2018, Kabul / Accepted: 17/01/2019

Öz

Dünyanın değişik bölgelerinde *Geranium* türleri, ağrı kesici, kan dindirici, antihemoroidal, antidiyabetik, ateş düşürücü, antidiyareik, kan temizleyici ve gastrointestinal sistem rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışma da Balıkesir ili'nden toplanan *Geranium macrorrhizum* türünün metanol ekstresinde biyolojik ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmıştır.

“*Geranium macrorrhizum* metanol ekstresinde”, numunenin toplam fenolik içerik miktarı 130.18 µg GAE / 1g kuru örnek olarak bulunmuştur. *Geranium macrorrhizum* metanol ekstresinde, toplam flavonoid içerik miktarı $55,56 \pm 1,20$ mg QE/g kuru numune olarak belirlenmiştir. *Geranium macrorrhizum* (Geraniaceae)'nin metanol ekstresinde ABTS radikal giderme aktivitesi $5.80 \pm 0,55$ IC50 (µg/mL) olarak bulunmuştur. DPPH radikali olarak antioksidan aktivitesi 10,05 µg/mL olarak belirlenmiştir. *Geranium macrorrhizum* metanol ekstresi için en duyarlı bakterinin *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 (13 mm) olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular *Geranium macrorrhizum* bitkisinin tıbbi bitki olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

İleri araştırmalarda *G. macrorrhizum*'un içerdiği kimyasal bileşenlerin belirlenmesinin yanı sıra *in situ* ve *in vivo* testler ile etki mekanizmalarının daha detaylı araştırılmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Geranium macrorrhizum*, Geraniaceae, Toplam fenolik içerik, Antimikrobiyal aktivite

Determination of Biological and Antimicrobial Activity of Methanol Extract of *Geranium Macrorrhizum* (Geraniaceae) Species Collected from Balıkesir Province

Abstract

Geranium species are used in various regions of the world to treat pain relief, blood-relieving, antihemoroidal, antidiabetic, antipyretic, antidiarrheal, blood-purifying and gastrointestinal system disorders. In this study, biological and antimicrobial activity studies were performed on the methanol extract of *Geranium macrorrhizum* species collected from Balıkesir province.

In the *Geranium macrorrhizum* methanol extract, the total phenolic content of the sample was found to be 130.18 in GAE / 1g dry sample. In the *geranium macrorrhizum* extract, the total amount of flavonoid content was determined as 55.56 ± 1.20 mg QE / g dry sample. ABTS radical removal activity in the methanol extract of *Geranium macrorrhizum* (Geraniaceae) was 5.80 ± 0.55 IC50 (µg / mL). Antioxidant activities as DPPH radicals were determined as 10,05 µg / mL. The most sensitive bacterium for *Geranium macrorrhizum* extract was *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 (13 mm). The results show that *Geranium macrorrhizum* can be considered as a medicinal plant.

The chemical compounds in *G. macrorrhizum* as well as *in situ* and *in vivo* tests and the mechanisms of action should be investigated in more detail in further investigations.

Keywords: *Geranium macrorrhizum*, Geraniaceae, Total phenolic content, Antimicrobial activity

1. Giriş

Türkiye' de alt türlerle beraber endemik takson sayısı 11 olan 36 *Geranium* türü yetişmektedir (Aedo vd., 1998; Baytop, 1994; Güner, 2000, İlçim ve Behçet, 2006).

Türkiye' de 'Turnagagası' adı ile tanınmakta olan *Geranium* türleri, farklı yörelerde, leylekgagası, dakika otu, iğnelik, leylek ayağı, saat otu olarak da bilinmekte ve Ege bölgesinde bazı türlerinin yaprakları sebze olarak tüketilmektedir (Baytop, 1994). Halk

arasında *Geranium* türleri kuvvet verici, kan dindirici, idrar artırıcı, kabız ve şeker hastalığında kullanılmaktadır (Baytop, 1999). *Geranium* türlerinin antioksidan, antibakteriyel, antiprotozoal, antiviral, antidiyabetik, antilasma, HIV-RT enzim inhibitör, antialerjik, antienflamatuvar, antihepatotoksik, trankilizan aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (Kayser vd., 1986;

Guo vd., 1987; Mantle vd., 2000; Milinaric vd., 2000; Alanis vd., 2005; Serkedjieva vd., 2005; Katalinic vd., 2006; Valezquez vd., 2006; Küpeli vd., 2007; Pokharel vd., 2007). *Geranium* türlerinden bugüne kadar tanenler, steroller, flavonoidler, antosiyaninler ve lignanlar elde edilmiştir. Bazı *Geranium* türlerinin uçucu yağlarının yapısı aydınlatılmıştır (Ivancheva, 1976; Okuda vd., 1979; Okuda vd., 1982; Ivancheva ve Wollenweber, 1989; Calzada vd., 1999; Bara vd., 2006; Liu et al., 2006). Literatürde *Geranium* türleri arasında, flavonoid içerikleri açısından, değişikliklerin bulunduğu bildirilmektedir. Kersetin, mirsetin ve kemferol *Geranium* türlerinde bulunabilen başlıca flavonoidlerdir (Peter, 2004). Literatürde *Geranium* türlerinden uçucu yağ elde edilmesi üzerine az sayıda çalışma vardır. Pedro ve arkadaşlarının

(1992) yayınladıkları bir çalışmada *G. macrorrhizum*'dan az miktarda uçucu yağ elde edilebildiğini bildirmişler. *G. macrorrhizum* türünün uçucu yağının incelenmesi neticesinde "Germazon" adı verilen trisiklik seskiterpen lakton yapısında bir bileşik içerdiği bulunmuştur (Tatlı, 1999). *Geranium* esansiyel yağının topikal olarak kullanıldığı bir çalışmada, yağın Postherpetik nevraljili 30 hastanın semptomlarını geçici olarak rahatlattığı bildirilmiştir (Greenway vd., 2003). *G. macrorrhizum*'un yapraklarından hazırlanan ekstraktlar ve bitkiden izole edilen elajik asit, gallik asit, kersetin, 4-galloil kinik asit, kersetin 3-O-β-glukopiranozit, kersetin 3-O-β-galaktopiranozit ve kersetin-4'-O-β-glukopiranozitin radikal süpürücü aktiviteleri

incelenmiştir. Kersetin 3-O-β-galaktopiranozit ve kersetin 3-O-β-glukopiranozit yüksek antioksidan kapasite göstermişlerdir (Miliauskos vd., 2004).

Bu çalışmada Balıkesir ili'nden toplanan *Geranium macrorrhizum* türünün metanol ekstresinde antimikrobiyal ve biyolojik aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1 Bitki Materyali:

Geranium macrorrhizum türü 19.05.2016 tarihinde 70 m yükseklikte Balıkesir ilinin Ballıpınar köyüne 10 km uzaklıktaki ormanlık yamaçlardan (40.50753°N, 27.85041°E) toplanmıştır. Dr. Ahmet Kahraman tarafından teşhis edilen, 2362 herbaryum numarası verilen örnekler, Uşak Üniversitesi'nde Bitki Sistemik ve Filogenetik Araştırma Laboratuvarı'nda yer alan herbaryumda muhafaza edilmiştir.

2.2. Ekstraksiyon

Oda sıcaklığında karanlık bir odada kurutulmuş bitki numuneleri laboratuvar tipi değirmende 80 mesh altı tane boyutuna öğütüldü. 1 gr kurutulmuş, öğütülmüş numunedan tartılarak 100 mL'lik erlene aktarıldı. Üzerine 30 mL (%70 Metanol + %30 Deiyonize Su) ekstraksiyon solventinden eklendi. Ultrasonik banyoda (Bandelin Sonorex marka) 30 dk süreyle ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Ekstraksiyon tamamlanınca ekstre beyaz bant süzgeç kâğıdı ile süzüldü. Analize kadar ekstraktlar buzdolabında saklandı.

2.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH)

Serbest radikal giderme aktivitesi Liyana-Pothirano metodunda bir kaç modifikasyon yapılarak belirlendi (Liyana-Pathirana and Shahidi, 2005). Bitki ekstresinin stok çözeltileri deney tüplerine konularak, hacimleri etil alkol ile 3 mL'ye tamamlandı. Üzerlerine 1 mL DPPH çözeltisi (0,26 mM) ilave edilerek vorteks yardımı ile karıştırıldı. Karanlık ortamda 30 dakika bekletildikten

sonra absorbansları spektrofotometrede (Shumadzu Marka UV-1800) 517 nm'de okundu. Elde edilen veriler IC₅₀ olarak hesaplandı.

2.4. Katyon Radikali Giderme Aktivitesi (TEAC)

Bu analiz Re ve arkadaşları tarafından uygulanan metoda göre yapıldı (Re vd., 1999). 0,1 M pH'ı 7,4 olan fosfat tamponu (Merck) ile hazırlanan 2 mM ABTS (2,2'-Azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (Sigma-Aldrich) ve 2,45 mM sodyum persülfat (Na₂S₂O₈) (Sigma-Aldrich) çözeltileri 1:2 oranında karıştırılarak, karanlık ortamda 6 saat bekletildi. Farklı miktarlarda bitki ekstresinin stok çözeltileri deney tüplerine konularak, hacimleri 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) (Merck) ile 3 mL'ye tamamlandı. Üzerine 1 mL ABTS çözeltisi ilave edilerek vorteks yardımı ile karıştırıldı. 30 dk oda şartlarında bekletildikten sonra spektrofotometrede (Shumadzu UV-1800) 734 nm'de absorbans değeri okundu. Örneğin sonuçları IC₅₀ değeri olarak hesaplandı.

2.5. Toplam Fenolik İçerik Tayini

Toplam fenol içerik (TPC) Folin-Ciocalteu testi kullanılarak belirlendi (Kähkönen vd., 1999). Ekstreden 0,2 mL'lik bir ve 0.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi (10 kere su ile seyreltilmiş) (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, ABD) test tüplerine eklenmiştir. Çözelti daha sonra 5 dakika boyunca karanlıkta tutuldu ve daha sonra 1 mL sodyum karbonat (%7.5 w/v) (Merck) ilave edildi. Tüpler parafilm ile örtülmüş ve 1 saat boyunca tekrar karanlıkta tutulmuştur. 765 nm'de absorbans UV-Vis spektrofotometresi (Shumadzu UV-1800) ile ölçüldü. Gallik asit kalibrasyon eğrisiyle karşılaştırıldı. Sonuçlar mg gallik asit/g kuru numune olarak ifade edildi. Her bir deney üç tekrarlı olarak yürütülmüştür.

2.6. Toplam Flavonoid İçerik Tayini

Ham ekstrenin toplam flavonoid içeriği, alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi ile belirlendi (Chang vd., 2002). Test tüpüne 50 µL ekstre alındı. Üzerine 950 µL metanol (Merck) ve 4 mL saf su ve daha sonra da 300 µL % 5 NaNO₂ (Merck) çözeltisi ile karıştırıldı; İnkübasyondan sonra 5 mL 300 µL % 10 AlCl₃ (merck) solüsyonu ilave edildi ve karışımın 6 dakika beklemesi sağlandı. Ardından 2 mL 1 M NaOH çözeltisi (Merck) ilave edildi ve karışımın nihai hacmi, saf su ile 10 mL'ye tamamlandı. Karışım 15 dakika beklemeye bırakıldı ve 510 nm'de absorbans değeri ölçüldü. Toplam flavonoid içeriği quercetin kalibrasyon eğrisinden hesaplandı ve sonuç kuru ağırlık başına mg quercetin eşdeğeri olarak ifade edildi.

2.7. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları için kullanılan bakteri ve maya suşları (*Streptococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* ATCC 1911, *Klebsiella pneumoniae* NRLLB 4420, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Candida glabrata*) Uşak Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

% 70'lik metanol ile ekstre Naylon membran filtreler kullanılarak süzülen ekstreler kullanılmıştır. Testte kullanılacak mikroorganizmaların kültür süspansiyonundan 200 µL (yaklaşık olarak Mf 0.5 eşitliğine göre 106 koloni içerir) eküvyon çubuğu Mueller Hinton agara yayılmıştır. Sonrasında 3 mm kalınlık ve 6 mm çapa sahip disklerle 0,22 µm'lik filtreden süzülüp steril bir ortamda tutulan her bir ekstreten 20 µL emdirilmiştir. Negatif kontrol olarak 20 µL metanol emdirilmiş diskler kullanılmıştır. Streptomisin (S10), Penisilin (P10), Tetramisin (TE30) ve Kloramfenikol (C30) referans antimikrobiyal ajan olarak kullanılmıştır. Sonrasında petri

kapları 24 saat 37 °C'de inkübe edilmiştir. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi ekstre emdirilmiş disklerin etrafındaki zonların ölçülmesi ile sağlanmıştır (Bauer vd., 1966, Zaidan vd., 2005).

Bu çalışmada kullanılan test organizmaları; *Escherichia coli* ATCC35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 ve *Listeria monocytogenes* ATCC1911'dir. Etyromisin (E 15µg), Kloramfenikol (C 30µg), Ofloksasin (OFX 5µg), Eritromisin (E 15µg), Tetrasiklin (TE 30µg), Cefizoksım (ZOX 30µg), Penicillin (P), Vankomisin (VA. 30µg) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan test bakterileri Nutrient Broth sıvı besiyeri ortamında 37°C'de 24 saat inkübe edilerek aktifleştirildikten sonra 0.5 Mac Farland (10^8 mikroorganizma/mL) hücre yoğunluğunda antimikrobiyal aktiviteyi saptamak için kullanılmıştır. Steril bir eküvyon yardımıyla alınan örnek Mueller-Hinton agar yüzeyine inoküle edilmiştir. Plakalar 15 dakika boyunca kurutulduktan sonra. 25, 12,5 ve 7.5 µL MeOH bitki ekstraları, boş sterilize edilmiş diske (6 mm çapında, Oxoid) emdirilerek kurutulmuştur. Ekstreleri içeren diskler steril bir pens yardımıyla agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Bu işlem yapılırken, oluşacak zonların birbiri üzerine gelmemesi için diskler arasında 22 mm, petri kenarından ise 14 mm uzaklık olmasına dikkat edilmiştir. Daha sonra besiyerleri 18-24 saat süreyle 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda oluşan inhibisyon zonları ölçülmüştür (Bauer vd., 1966, Zaidan vd., 2005).

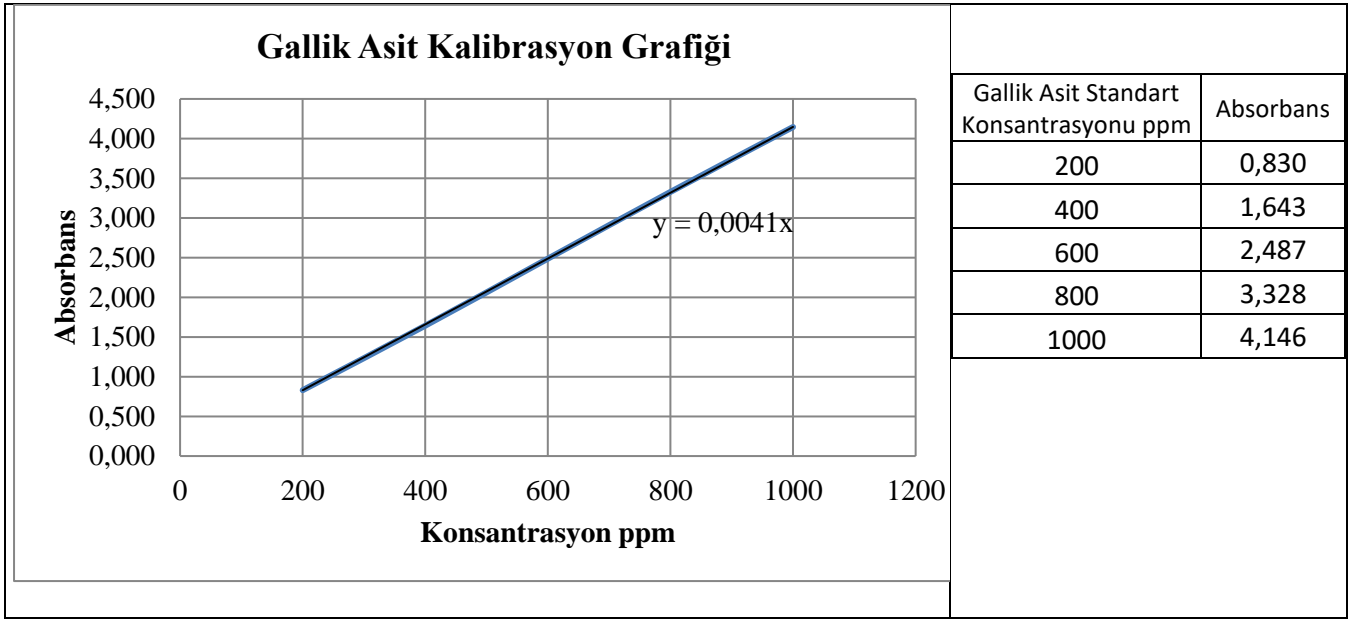
3.Bulgular

3.1. Toplam Fenolik Madde Analizi

Fenolik bileşikler bitkilerde bulunan, suda çözünen maddelerdir. Fenolik asitler ve flavanoidler olarak iki kısımda incelenirler. Fenolik bileşikler, yapılarında aromatik halka bunun yanında da en az bir -OH grubu içermektedirler. Radikal temizleme ve metal şelatlama gerçekleştirebilirler. Fenolik maddelerinin antioksidan aktivitesi yapılarındaki hidroksil grubu sayısı ve hidroksil grubunun pozisyonuyla ilişkilidir. Bu yapıları dolayısıyla antioksidan özelliğe sahip moleküllerdir (Ghasemzadeh ve Ghasemzadeh, 2011). Bitkinin içerdiği fenolik bileşikler, hücreyi reaktif oksijen türleri veya serbest radikallerden kaynaklanan oksidatif hasara karşı korumaktadırlar (Baba ve Malik, 2015).

Geranium macrorrhizum yapraklarının metanol ekstresinde bulunan toplam fenolik bileşik miktarı belirlenmiştir. Bunun için standart fenolik bileşik olarak kullanılan gallik asit kullanılmış ve grafik hazırlanmıştır. Standart grafikten elde edilen formülden de yine her iki ekstrede bulunan toplam fenolik bileşik miktarları gallik asit ekivalent (GAE) olarak hesaplandı ($r^2:0,9998$).

Geranium macrorrhizum ekstresinde, absorbans değerine karşı 1g numunedeki toplam fenolik içerik miktarı 130,18 µg GAE/1g olarak bulunmuştur. Gallik asit kalibrasyon grafiği aşağıda verilmiştir (Şekil 1).



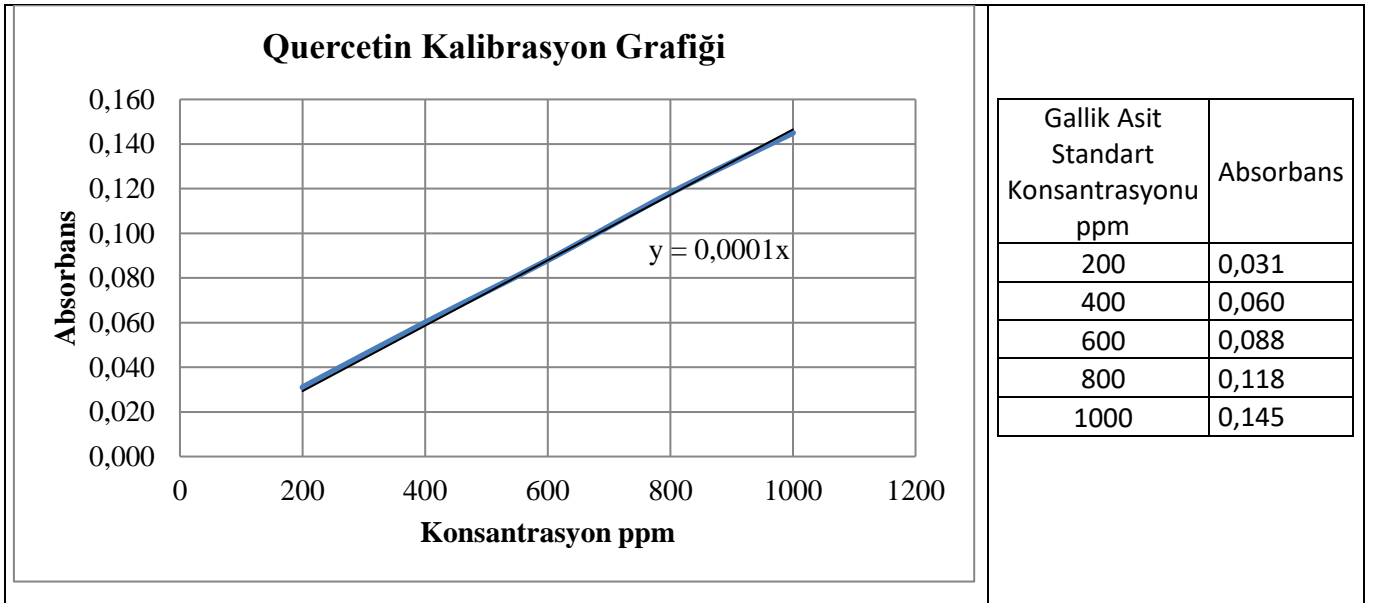
Şekil 1: Gallik asit kalibrasyon grafiği

3.2. Toplam Flavonoid Madde İçeriği

Geranium macrorrhizum yapraklarının metanol ekstresinde (1 gr/30 mL) bulunan toplam flavonoid miktarı belirlenmiştir. Bunun için standart flavonoid bileşik olarak kullanılan quercetin kullanılmış ve grafik hazırlanmıştır. Standart grafikten elde edilen formülden de yine her iki ekstrede bulunan toplam fenolik bileşik miktarları quercetin

eşdeğer (QE) olarak hesaplanmıştır ($r^2:0,9990$).

Geranium macrorrhizum ekstresinde, absorbans değerine karşı 1 g numunedeki toplam flavonoid içerik miktarı $55,56 \pm 1,20$ mg QE/g numune bulundu. Quercetin kalibrasyon grafiği aşağıda verilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2: Quercetin kalibrasyon grafiği

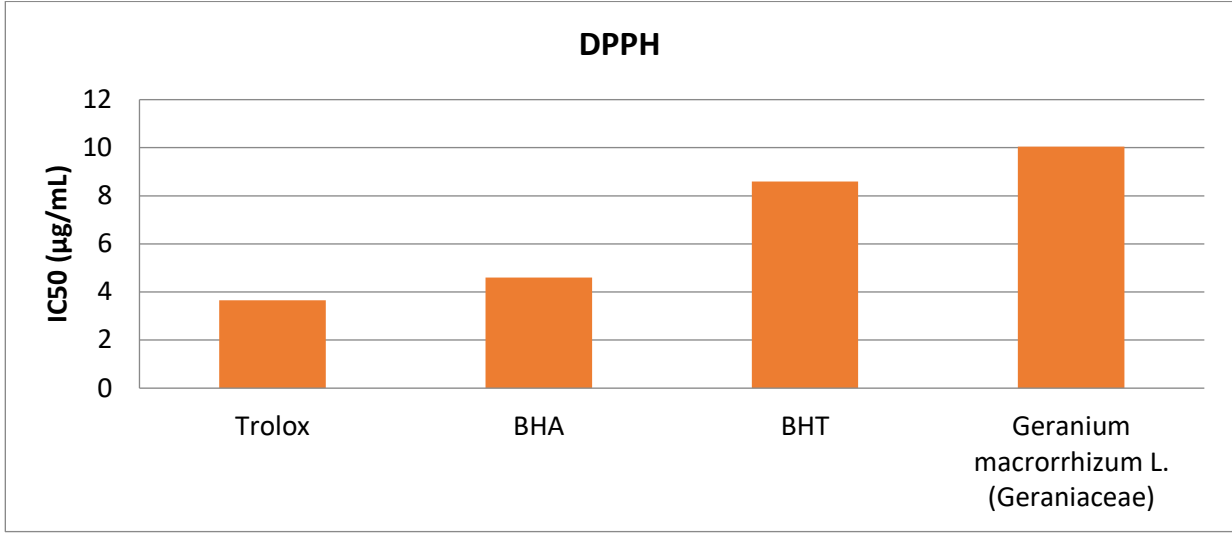
3.3. DPPH analizi

DPPH radikali doğal antioksidanların serbest radikal yakalama aktivite testlerinin

değerlendirilmesinde kullanılır. *Geranium macrorrhizum* 'un metanol ekstresinin ve standartların DPPH serbest radikal süpürücü

etkileri IC₅₀ (µg/mL) olarak Şekil 3'de verilmiştir. BHT, BHA ve Trolox için farklı konsantrasyonlarda (100, 200, 300, 400 µg/mL) standart çözeltileri hazırlanarak

antioksidan aktivite değeri IC₅₀ olarak belirlenmiştir (Manuel olarak hesaplanmıştır).



Şekil 3. *Geranium macrorrhizum* 'un serbest radikal süpürücü aktivitesi

DPPH analizi ile yapılan antioksidan aktivitesi tayinlerinde sonuç IC₅₀ (Inhibitory concentration) değerişeklinde belirlenmektedir. IC₅₀ değeri; ortamda bulunan DPPH radikalinin yarısını yok etmek için gerekli olan örnek miktarını

belirtmektedir. IC₅₀ değerinin düşük olması örneğin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu, yüksek olması ise örneğin antioksidan aktivitesinin düşük olduğunu göstermektedir (Molyneux 2004).

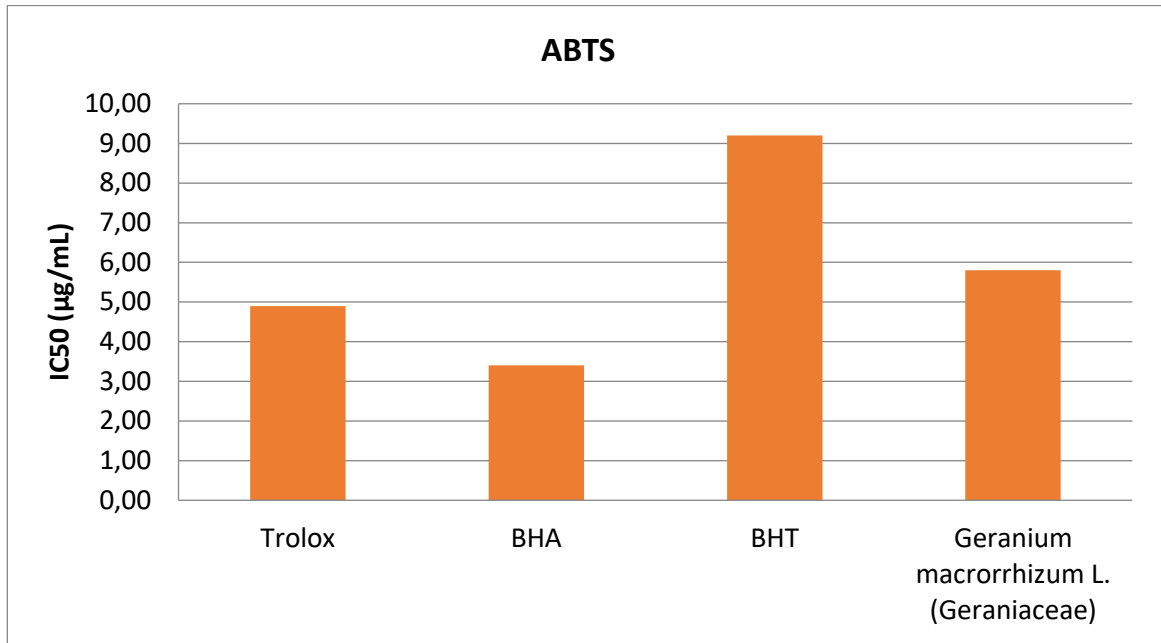
Tablo 1. *Geranium macrorrhizum* ekstresinin ve standart antioksidanların IC₅₀ değerleri

| Antioksidan | IC ₅₀ (µg/mL) |
|------------------------------|--------------------------|
| Trolox | 3.65 |
| BHA | 4.60 |
| BHT | 8.60 |
| <i>Geranium macrorrhizum</i> | 10.05 |

3.4. ABTS Radikali Giderme Aktivitesi

Geranium macrorrhizum 'un metanol ekstresinin ABTS radikal giderme aktivitesini $5.80 \pm 0,55$ IC₅₀ (µg/mL) standart olarak kullanılan BHT $9.20 \pm 0,36$ IC₅₀ (µg/mL), BHA $3.40 \pm 0,10$ IC₅₀ (µg/mL) ve Trolox $4.90 \pm 0,12$ IC₅₀ (µg/mL) ile

karşılaştırdığımızda BHA standardının en yüksek radikal giderme aktivitesine sahip olduğu gözlenmiştir. *Geranium macrorrhizum* 'un metanol ekstresinin ABTS radikal giderme aktivitesinin, BHA ve Troloks standartlarından yüksek BHT standardından ise düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4).



Şekil 4: ABTS analizi sonucunda *Geranium macrorrhizum* (*Geraniaceae*)'nın radikal giderme aktivitesi.

3.5. Antimikrobiyal Analiz Sonuçları

Geranium macrorrhizum metanol ekstresinin antimikrobiyal aktivitesi, standart antibiyotik

disk ile karşılaştırıldı ve inhibisyon çapları 9 ila 18 mm arasında değişmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Disk difüzyon metodu sonuçları

| | <i>Geranium macrorrhizum</i> | | | E | C | T | OFX | ZOX | VA | P |
|---|------------------------------|------|-----|----|----|----|-----|-----|----|----|
| | 25 | 12.5 | 7.5 | | | | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC35218 | - | - | - | 12 | 18 | 21 | 33 | 28 | 8 | 10 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC700603 | 18 | 14 | 15 | 25 | 20 | 19 | 23 | 18 | 15 | 32 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 12 | 10 | 9 | 34 | 18 | 15 | 25 | 12 | 24 | 26 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853 | - | - | - | 9 | 15 | 13 | 23 | 8 | - | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923 | 16 | 14 | 13 | 24 | 19 | 20 | 27 | 14 | 12 | 31 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299 | 16 | 16 | 16 | 22 | 18 | 20 | 20 | 16 | 17 | 18 |

Türkiye'de *Geranium Macrorrhizum* L. (*Geraniaceae*) Metanol Ekstresinin Biyolojik ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

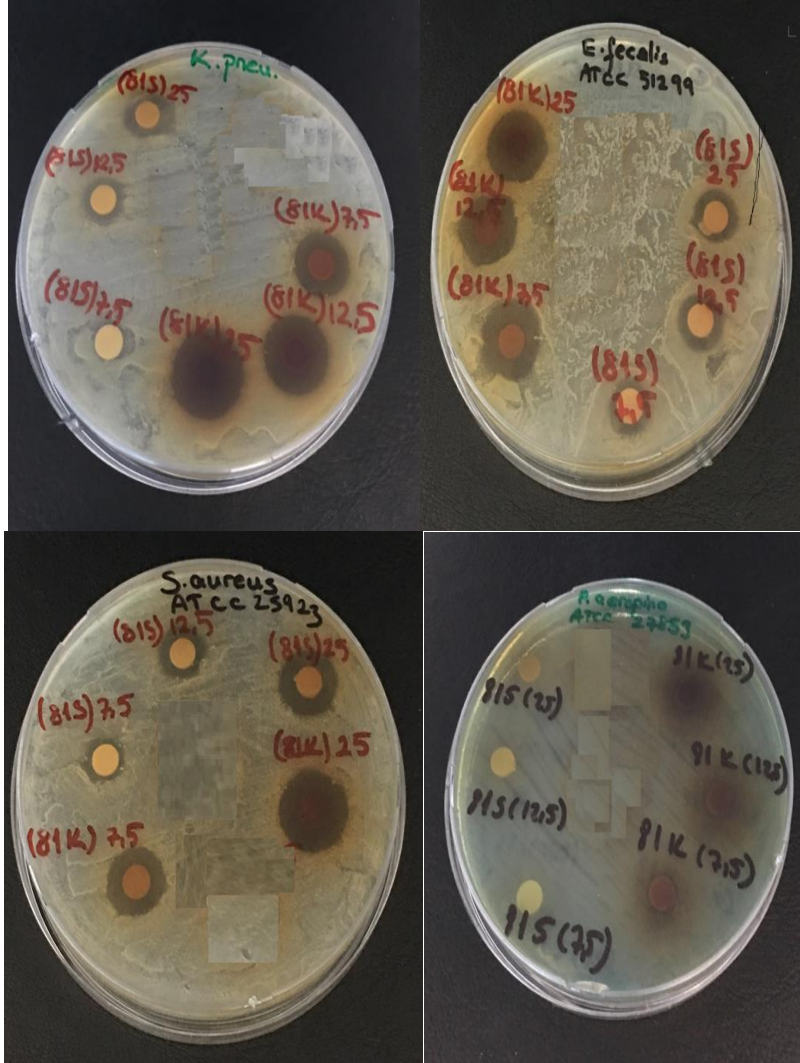
Listeria monocytogenes - - - 9 23 24 23 - 18 12
ATCC1911

Candida glabrata - - -

GE; *Geranium macrorrhizum* metanol ekstraktı., E; Etyromisin, C; Kloramfenikol, OFX; Ofloksasin, E; Eritromisin, TE; Tetrasiklin, ZOX; Ceftrizoksım, P; Penicillin, VA; Vankomisin.

Geranium macrorrhizum metanol ekstresinin 25,12.5 ve 7.5 µL'lik konsantrasyonları *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ve *Enterococcus faecalis*'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği saptanmıştır. En fazla inhibisyon 18 mm ile *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603'de olup bu zon çapı VA'de görülen zon çapından büyük ve

ZAX ile aynıdır. *Enterococcus faecalis* dışında artan bitki ekstre konsantrasyonu ile zon çapının da arttığı belirlenmiştir. GM metanol ekstreleri *Escherichia coli* ATCC35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Listeria monocytogenes* ATCC1911 ve *Candida glabrata*'ya karşı antimikrobiyal etki göstermemiştir (Şekil 5).



Şekil 5. *Geranium macrorrhizum* türünün antimikrobiyal aktivitesi

4.Sonuç ve Tartışma

Geranium türleri üzerinde yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda; flavonoidler, tanenler, antosiyanidin heterozitleri, polifenolik bileşikleri taşıdıkları belirlenmiştir (Ivancheva, 1976; Okuda vd., 1979; Okuda vd., 1982; Ivancheva ve Wollenweber, 1989; Calzada vd., 1999; Bara vd., 2006; Liu vd., 2006).

Yapılan literatür taramalarında *Geranium macrorrhizum* türünde antimikrobiyal ve biyolojik aktivitenin birlikte çalışıldığı bir çalışmaya raslanmamıştır. Bu çalışmada Balıkesir İli'nden toplanan *Geranium macrorrhizum* türünün metanol ekstresinde antimikrobiyal ve biyolojik aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

Öztürk (2008), *Geranium pyrenaicum* kök ve herba ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesinin Gram pozitif suşlarda (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*), Gram-negatif suşlara göre (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii*) daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Hazırlanan *Geranium pyrenaicum* ekstrelerinin her ikisi de Gram-pozitif suşlardan *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı *P. sidoides* ve *P. reniforme* kökü sıvı ekstresi ile eşit düzeyde (MİK: 8 µg/mL) antibakteriyel aktivite göstermişlerdir. Bununla birlikte Gram-pozitif suşlardan *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel aktivite ekstre örneklerinin her ikisinde de 32 µg/mL, *Pelargonium sidoides* ve *P. reniforme* kök ekstresinde ise daha yüksek, 16 µg/mL konsantrasyonda belirlenmiştir.

Uzun vd. (2004) *Geranium asphodeloides* etanol ekstrelerinin antibakteriyel aktivitelerini *in-vitro* mikrodilüsyon tekniği ile araştırdığı çalışmasında; *Staphylococcus epidermidis*'de MİK değeri 78,1 µg/mL, *Staphylococcus aureus*' da ise 312,5 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Başka bir *Geranium* türü olan *Geranium sanguineum*'un metanol ekstresi ile yapılan

bir çalışmada ekstrenin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisi disk difüzyon testi ile belirlenmiştir. Bu çalışmada ise MİK değeri 1000 µg/mL olarak (Serkedjieva, 1997); *Geranium pyrenaicum* kök ve herba ekstrelerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı MİK değeri de 8 µg/mL olarak belirlenmiştir. *Geranium* türlerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı MİK değerlerinin 312-1000 µg/mL arasında değiştiği bildirilmiştir (Ivancheva vd., 1992; Serkedjieva, 1997; Tatlı, 1999; Uzun vd., 2004).

Radulovic vd., (2012) Sırbistan'ın güneydoğusundaki Svrlijg kentinden topladıkları *G. macrorrhizum* yaprak metanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarını 160.2 ± 3.1 µG GAE/1g bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar CCl₄ ile indüklenen karaciğer hasarına karşı *Geranium macrorrhizum*'un metanol ekstraktının hepatoprotektif etki gösterdiğini de bulmuşlardır.

Nikolova vd., (2010) *Geranium macrorrhizum*, *G. sanguineum*, *G. pyrenaicum*, *G. robertianum* bitki ekstrelerinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesini araştırmışlar ve sırasıyla 10.58, 11.93, 13.61, 14.93 µg/mL bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda Balıkesir yöresinden toplanan *Geranium macrorrhizum* türünün metanol ekstresinin DPPH radikal giderme aktivitesi IC₅₀ (µg/mL) olarak 10.05 µg/mL bulunmuştur.

Sharopov vd., (2017) yaptıkları bir çalışmada *Geranium macrorrhizum* türünün metanol ekstresinde Folin-Ciocalteu metoduna göre toplam fenolik madde miktarını araştırmışlardır. Yaprak ekstresinde 753 mg CAE/g, kök ekstresinde 93 mg CAE/g olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda Balıkesir yöresinden toplanan *Geranium macrorrhizum* türünün metanol ekstresinin toplam fenolik madde miktarı yine Folin Ciocalteu prosedürüne göre belirlenmiş ve 76,32mg/g bulunmuştur. Aynı araştırmacılar toplam flavonoid madde miktarını Alüminyum klorür kolorimetrik metoduyla araştırmışlar ve yaprak ekstresinde

49 mg QE/g, kök ekstresinde 4.5 mg QE/g olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada, *Geranium macrorrhizum* ekstresinde, absorbans değerine karşı 1 g numunedeki toplam flavonoid içerik miktarı $55,56 \pm 1,20$ mg QE/g numune olarak tespit edilmiştir.

Bazı *Geranium* türleri halk arasında yiyecek olarak tüketilmektedir. Mevcut yüksek antioksidan etkileri nedeniyle *Geranium* türleri hastalıklardan korunmak amacıyla ve bağışıklık sistemini düzenlemek amaçları için de iyi birer kaynaktır. Bu çalışma Balıkesir yöresine ait olan *Geranium macrorrhizum* türünün toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı, DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, ABTS radikali giderme aktivite aktivitesi ve antimikrobiyal etkinliğinin incelendiği ilk çalışma olması dolayısıyla literatüre katkı sağlayacaktır. Elde edilen verilerin, ülkemizde doğal olarak yetişen *Geranium* türlerinin kimyasal kompozisyonuyla ilgili daha ileride yapılabilecek çalışmalara ışık tutması beklenmektedir. İleri araştırmalarla *G. macrorrhizum*'un taşıdığı kimyasal bileşenlerin belirlenmesi ve *in situ* ve *in vivo* testler ile etki mekanizmalarının daha detaylı araştırılması gerekmektedir.

5.Kaynaklar

Aedo, C., Garmendia, F. M., Pando, F. 1998. "World Checklist of *Geranium* L. (*Geraniaceae*)", *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 56(2), 211-252.

Alanis, A. D., Calzada, F., Cervantes, J. A., Torres, J., Ceballos, G. M. 2005. "Antibacterial Properties of Some Plants Used in Mexican Traditional Medicine for The Treatment of Gastrointestinal Disorders", *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 153-157.

Baba, S.A., Malik, S. A. 2015. "Determination of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antimicrobial and Antioxidant Activity of A Root Extract of *Arisaema Jacquemontii* Blume", *Journal of Taibah University for Science*, 9, 449-454.

Bara, A., Norouzi-Arasi, H., Sedaghat-Sharehjini, S., Baldovini, N. 2006. "Volatile Constituents of *Geranium tuberosum* L. from Iran", *Natural Product Communications*, 1 (5), 387-390.

Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M. 1966. "Antibiotic Susceptibility Testing by A Standardized Single Disk Method", *Am J Clin Pathol.*, 45(4),493-496.

Baytop, T., 1994. "Türkçe Bitki Adları Sözlüğü", *Ankara: Türk Dil Kurumu Yayınları*, No:578.

Baytop, T., 1999. "Türkiye' de Bitkilerle Tedavi 2. Baskı", İstanbul: *Nobel Tıp Kitabevi*.

Calzada, F., Cerda-Garcia-Rojas, C. M., Meckes, M., Cedillo-Rivera, R., Bye R., Mata, R., 1999. "Geranins A and B, New Antiprotozoal A-Type Proanthocyanidins from *Geranium Niveum*", *Journal of Natural Products*, 62, 705- 709.

Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chern, J. 2002. "Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods", *J. Food Drug Anal.*, 10 pp. 178-182.

Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N. 2011. "Flavonoids and Phenolic Acids: Role and Biochemical Activity in Plants and Human", *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31), 6697-6703.

Greenway, F.L., Frome, B.M., Engels, T.M., McLellan, A. 2003. "Temporary Relief of Postherpetic Neuralgia Pain With Topical *Geranium* Oil", *Am J Med.*, 115(7):586-587.

Guo, J., Wang, S., Li, X., Zhu, T. 1987. "Antibacterial Constituents of *Geranium Sibiricum* L.", *Yaoxue Xuebao*, 22(1), 28-32.

Güner, A. 2000. *Geranium* L. Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K. H. C.(ed.) "Flora of Turkey and East Aegean Islands Suppl. II.", Edinburgh: Edinburgh University Press., 104-105.

- Ivancheva, S., Zapesochay, G., Ognyanov, I. 1976. "Flavonoids and Other Substances in Roots of *Geranium macrorrhizum* L." *Doklady Bolgarskoi Akademii Nauk*, 29(2), 205-8.
- Ivancheva, S., Wollenweber, E. 1989. "Leaf Exudate Flavonoids in *Geranium macrorrhizum* and *G. lucidum*", *Indian Drugs*, 27 (3), 167-168.
- Ivancheva, S., Manolova, N., Serkedjieva, J., Dimov, V., Ivanovska, N. 1992. "Polyphenols From Bulgarian Medicinal Plants with Anti-Infectious Activity", *Basic Life Sci*, 59,717-728.
- İlçim, A., Behçet, L. (2006). "Geranium Kalendarianum (Geraniaceae), A New Species from Turkey", *Annales Botanici Fennici*, 43, 451-455.
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. 2006. "Screening of 70 Medicinal Plant Extracts for Antioxidant Capacity and Total Phenols", *Food Chemistry*, 94, 550-557.
- Kayser, O., Kolodziej, H., Kimura, Y., Okuda, H., Okuda, T., Arichi, S. 1986. "Studies On The Activities of Tannins and Related Compounds VIII. Effects of Geraniin, Corilagin, and Ellagic Acid Isolated From Geranii Herba On Arachidonate Metabolism in Leukocytes", *Planta Medica*, 4, 337-338.
- Küpeli, E., Tatlı, I.İ., Akdemir, Z. S., Yeşilada E. 2007. "Estimation of Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activity on *Geranium pratense* subsp. *Finitimum*". *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 234-240.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Heikki, J.V., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M. 1999. "Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds", *J. Agric. Food Chem.* 47:3954–3962. doi: 10.1021/jf990146l.
- Liu, Q. H., Jeong, J. E., Choi, E. J., Moon, Y. H., Woo, E. R. 2006. "A New Furonofuran Lignan from *Geranium Thunbergii* SIEB. Et ZUCC", *Archives of Pharmacal Research*, 29 (12), 1109-1113.
- Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F. 2005. "Antioxidant Activity of Soft Commercial Soft and Hard Wheat (*Triticum aestivum* L.) As Affected By Gastric pH Conditions", *J. Agric. Food Chem*, 53,2433–2440.
- Mantle, D., Eddeb, F., Pickering, A. 2000. "Comparison of Relative Antioxidant Activities of British Medicinal Plant Species in Vitro", *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 47-51.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., Van Beek, T.A. 2004. "Screening of Radical Scavenging Activity of Some Medicinal Plant Extracts", *Food Chemistry*, 85, 231-237.
- Milinaric, A., Kreft, S., Umek, A. ve Strukelj, B. 2000. "Screening of Selected Plant Extracts for in Vitro Inhibitory Activity On HIV-1 Reverse Transcriptase (HIV-1 RT)", *Pharmazie*, 55, 75-77.
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl(DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarın J. Sci. Technol.* 26 2 211-219.
- Nikolova, M., Tsvetkova, R., Ivancheva, S. 2010. "Evaluation of Antioxidant Activity in Some Geraniacean Species", *Botanica Serbica*, 34(2), 123-125.
- Okuda, T., Mori K., Seno, K., Hatano, T. 1979. "Constituents of *Geranium Thunbergii* Sieb. Et Zucc. VII. High-Performance Reversed-Phase Liquid Chromatography of Hydrolysable Tannins and Related Polyphenols", *Journal of Chromatography*, 171, 313-320.
- Okuda, T., Hatano, T., Yazaki, K. 1982. "Dehydrogeraniin, Furosinin and Furosin,

- Dehydroellagitannins from *Geranium Thunbergii*”, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 30 (3), 1113-1116.
- Öztürk, S. 2008. “*Geranium* Türlerinde Fitoterapötik Çalışmalar”, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Pedro, L., Pais, M.S.S., Scheffer, J.J.C. 1992. “Composition of The Essential Oil of *Geranium Robertianum L.*” *Flavour and Fragrance Journal*, 7,223-226.
- Peter, K.V. 2004. “*Geranium*”. Handbook of Herbs and Spices. Cambridge: Woodhead Publishing.
- Pokharel, Y. R., Liu, Q. H., Aryal, D. K., Kim, Y. G., Woo, E.R., Kang, K. W. 2007. “7, 7-Dihydroxy Bursehernin Inhibits the Expression of Inductible Nitric Oxide Synthase Through NF- κ B DNA Binding Suppression”, *Nitric Oxide*, 16, 274-285.
- Radulović, N.S., Stojković, M.B., Mitić, S.S., Randjelović, P.J., Ilić, I.R., Stojanović, N.M., Stojanović-Radić, Z.Z. 2012. “Exploitation of The Antioxidant Potential of *Geranium macrorrhizum* (Geraniaceae): Hepatoprotective and Antimicrobial Activities”, *Nat Prod Commun.* 7(12),1609-14.
- Re, R., Pellegrini, N., Protrggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. “Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay”, *Free Radical Biology and Medicine*, 26,1231-1237.
- Serkedjjeva, J. 1997. “Antiinfective Activity of A Plant Preparation from *Geranium Sanguineum L.*” *Pharmazie*, 52(10),799-802.
- Serkedjjeva, J., Roeva, I., Ivonova, I. 2005. “Combined Anti-influenza Virus Effect of Synthetic and Natural Viral Inhibitors”, *Biotechnology & Biotechnology, Virology Supplement*, 6-10.
- Sharopov, F., Ahmed, M., Satyal, P., Setzer, W. N., Wink, M. 2017. “Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Methanol Extracts of *Geranium Macrorrhizum* and Chemical Composition of its Essential Oil”, *Journal of Medicinally Active Plants*, 5(2), 53-58.
- Tatlı, İ.İ. 1999. “*Geranium Pratense Subsp. Finitimum (Woronow) Knuth* Üzerinde Farmakognozik Arastirmalar”, Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe Üniversitesi. Ankara
- Uzun, E., Sariyar, G., Adsersen, A., Karakoc, B., Otuk, G., Oktayoglu, E., Pirildar, S. 2004. “Traditional Medicine in Sakarya Province (Turkey) and Antimicrobial Activities of Selected Species”, *J Ethnopharmacol*, 95(2-3),287-296.
- Velazquez, C., Calzada, F., Torris, J., Gonzalez, F., Ceballos, G. 2006. “Antisecretory Activity of Plant Used to Treat Gastrointestinal Disorders”, *Journal of Ethnopharmacology*, 103, 66-70.
- Zaidan, MRS., Noor Rain, A., Badrul, A.R., Adlin, A., Norazah, A., Zakiah, I. 2005. “In vitro Screening of Five Local Medicinal Plants for Antibacterial Activity Using Disc Diffusion Method”, *Tropical Biomedicine*, 22(2),165–170.