

## ***Paeonia* Türlerinin Antibakteriyal Aktivitesi**

**Kenan Tunç, Dilek İnceçayır, Vusale Mammadova, Alican Bahadır Semerci\***

*Sakarya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Serdivan/ Sakarya.*

### **Öz**

Bu çalışmada *Paeonia peregrina*, *Paeonia mascula* subsp. *mascula* ve *Paeonia tenuifolia*'nın antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Türkiye'de geniş yayılış alanlarına sahip *Paeonia* türleri Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Kök ve yapraklarından metanol, etanol, aseton, hekzan çözücülerini kullanılarak ekstraktlar elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktların *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 suşları üzerine disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel etkileri incelenmiştir. *Paeonia* türlerinin yaprak ekstraktlarında en iyi çözücünün aseton olduğu ve *Paeonia peregrina* aseton ile hazırlanan ekstraktın *S. aureus* bakterisi üzerinde 17,3 mm inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. *Paeonia* türlerinin patojenlerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde bazı sentetik antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabilceği gösterilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal aktivite, *Paeonia*, Disk difüzyon, Doğal ekstrakt

## **Antibacterial activity of *Paeonia* species**

### **Abstract**

The aim of this study was to determine the antibacterial activity of the *Paeonia peregrina*, *Paeonia tenuifolia* ve *Paeonia mascula* subsp. *mascula*. *Paeonia* species that also have widespread dissemination in Turkey were collected from Yalova Atatürk Horticultural Central. Extracts were obtained from the root and leaf parts using methanol, ethanol, acetone, hexane solvents. The antibacterial effect of the obtained extracts was examined by disk diffusion method on *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 and *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. It was determined that the best solvent in the *Paeonia* species leaf extracts was acetone and that the extract prepared with acetone produced a 17,3 mm inhibition zone diameter in *S. aureus* bacteria. It was demonstrated that *Paeonia* species can be used as an alternative to some synthetic antibiotics in the treatment of diseases caused by pathogens.

**Keywords:** Antimicrobial activity, *Paeonia*, Disc diffusion, Natural extract

### **Giriş**

Sentetik kökenli ilaçların yan etkilerinin fazla olması ve antimikrobiyal

olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı organizmaların direnç geliştirmesi günümüzün en önemli sorunlarından. Bu

\* Sorumlu Yazar: ORCID ID: [orcid.org/0000-0001-9502-9321](https://orcid.org/0000-0001-9502-9321)  
e-mail: [alicannn5434@gmail.com](mailto:alicannn5434@gmail.com)

**Received:** 15.11.2018  
**Accepted:** 06.01.2019

durum da, sentetik antimikrobiyallere alternatif olarak doğal bitkisel kaynakların kullanılmasının önemini arttırmıştır [1].

Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye’de de tıbbi açıdan önemli bitkiler yüzyıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) 91 ülkenin farmokopeleri, tıbbi bitkiler ile ilgili yayınlara dayanarak hazırlamış olduğu bir araştırmaya göre, tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam sayısının 20.000 olduğu bildirilmiştir [2,3].

Türkiye’de ayı gülü olarak bilinen *Paeonia* çok yıllık, otsu ve rizomlu bir bitkidir. Bocur, gülor, eşekgülü, şakayık, yer şakağı gibi çeşitli adlarla tanınmaktadır. Kültür türleri bahçelerde süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Pembe ve kırmızı çiçekli olanları geniş yayılış alanına sahiptir [4,5,6].

Fenolik bileşikler [7], monoterpen glikozitler [8] açısından zengin olan *Paeonia* türleri üzerine birçok farmasötik çalışma yapılmıştır. Çiçekleri (*Flores paeonia*) ve kökleri (*Radix paeonia*) epilepsi, boğmaca öksürüğünde yatıştırıcı, sedatif ve spazmolitik, mikrop öldürücü, kanı temizleyici, kalp, mide ve bağırsak rahatsızlıklarını tedavi edici olarak kullanılır [9,10].

Bu çalışmada *Paeonia peregrina*,

*Paeonia tenuifolia* ve daha önce literatürde antibakteriyel çalışması bulunmayan *Paeonia mascula* subsp. *mascula*’nın antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## **Materyal ve Yöntem**

### **Bitki Materyali**

Araştırmada kullanılan *Paeonia peregrina* L., *Paeonia tenuifolia* L. ve *Paeonia mascula* (L.) Mill. subsp. *mascula* örnekleri Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü’nden toplanmıştır. Gölgede kurutulan bitki kısımları aseptik koşullarda ayrı ayrı öğütülerek toz haline getirilmiştir.

### **Bitkisel Özütlerin Hazırlanması**

Öğütülmüş bitki örnekleri 10 g olacak şekilde hassas terazide tartılarak ayrı ayrı 100 mL metanol (MERCK), etanol (MERCK), aseton (MERCK) ve hekzan (MERCK) içerisine eklenmiştir. Karanlık ortamda 25°C’de 72 saat bekletilen ekstraktlar maserasyon yöntemine göre hazırlanmıştır. İşlem sonunda özütler filtre kâğıdından (Whatman) süzülüş ve elde edilen ekstraktaki çözücüler rotary evaporatör (Heidolph laborota 4000 efficient) ile uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ham ekstraktlardan (6400 µg mL<sup>-1</sup>) 6 mm çapındaki boş steril diskler 10 µL emdirilerek 24 saat karanlık steril ortamda

bekletilmiştir.

### **Bakteri Suşlarının Temini**

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı suş koleksiyonundan temin edilmiştir. Çalışmada *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 bakterileri kullanılmıştır.

### **Disk difüzyon yöntemi**

Ekstraktların antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir [11]. Aktifleştirilen taze kültürlerin konsantrasyonu ortalama 0,5 McFarland ( $1 \times 10^8$  CFU mL<sup>-1</sup>) olacak şekilde ayarlanmış ve steril eküvyon çubuk ile Müeller Hinton Agara (MERCK) ekimi yapılmıştır. Bakteri ekimi gerçekleştirilen Müeller Hinton Agara aseptik koşullarda pens yardımıyla eşit mesafede ekstrakt emdirilmiş diskler yerleştirilmiştir. 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda disk etrafında o patojene karşı bir inhibisyon zonu oluşmuşsa petrinin arka

kısımından dijital kumpas yardımıyla zon çapları (mm) ölçülmüştür. Tüm çalışmalar üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak Gentamicin, negatif kontrol olarak ekstraktın hazırlandığı çözücü kullanılmıştır.

### **Bulgular**

*Paeonia* türlerinin kök ve yapraklarından hazırlanan ekstraktların test mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapı ölçümleri Tablo 1'de verilmiştir. *P. peregrina* yaprağı ile hazırlanan aseton ekstraktın *S. aureus* üzerinde 17,3 mm, *P. mascula* subsp. *mascula* köküyle hazırlanan etanol ekstraktın *E. coli* üzerinde 12,2 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu belirlenmiştir. *P. tenuifolia* metanol ekstraktının *E. coli* ve *E. faecalis* bakterileri üzerinde 15,1 mm inhibisyon zon oluşturduğu tespit edilmiştir. Deney sonuçlarına göre ekstraktların gösterdiği en yüksek inhibitör etkinin *S. aureus* ve *E. coli* suşları üzerinde olduğu gözlenmiştir. Kullanılan bitkilerin antibakteriyel etkileri kıyaslandığında sıralamanın *P. peregrina* > *P. tenuifolia* > *P. mascula* subsp. *mascula* şeklinde olduğu görülmektedir. Hekzan çözücüsüyle hazırlanan ekstraktlarda sonuç alınamamıştır.

Tablo 1. Paeonia ekstraktlarının test bakterileri üzerinde oluşturdukları inhibisyon zon çapları

Ekstrakt		TEST MİKROORGANİZMLARI					
		<i>E. coli</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>
		İnhibisyon Zon Çapı(mm)					
Aseton	PP1	14,0 ± 0,2	11,0 ± 1,6	10,0 ± 0,2	9,0 ± 0,7	12,0 ± 1,3	17,3 ± 1,2
	PP2	10,0 ± 0,4	10,0 ± 0,6	9,0 ± 0,4	14,0 ± 0,2	9,5 ± 0,1	<b>9,0 ± 0,2</b>
	PM1	10,8 ± 0,5	7,0 ± 0,7	7,0 ± 0	11,0 ± 0,1	7,0 ± 0,9	11,0 ± 1,1
	PM2	9,0 ± 0,3	8,5 ± 0,9	9,5 ± 0,4	11,0 ± 0,5	9,0 ± 0,2	9,5 ± 0,5
	PT1	10,0 ± 0,2	8,0 ± 0,6	8,5 ± 0,8	10,5 ± 0,6	8,0 ± 0,3	14,0 ± 1,2
Metanol	PP1	10,0 ± 0,4	8,2 ± 0,4	8,1 ± 1,2	8,7 ± 0,3	10,8 ± 1,6	12,8 ± 0,2
	PP2	8,0 ± 1,2	10,2 ± 1,6	7,3 ± 0,3	7,6 ± 0,6	8,7 ± 0,6	<b>7,3 ± 0,2</b>
	PM1	8,3 ± 0,5	8,6 ± 1,2	7,6 ± 0,7	11,4 ± 0,9	9,0 ± 0,5	11,4 ± 1,3
	PM2	9,9 ± 0,3	6,6 ± 0,1	8,1 ± 1,3	7,6 ± 0,2	7,9 ± 0,7	7,2 ± 0,9
	PT1	15,1 ± 0,9	7,0 ± 0,8	7,0 ± 1,2	15,1 ± 0,6	12,8 ± 1,3	14,0 ± 0,2
Etanol	PP1	12,0 ± 0,4	8,5 ± 0,7	8,7 ± 0,1	12,3 ± 0,6	10,5 ± 0,8	13,0 ± 0,7
	PP2	9,3 ± 1,6	12,1 ± 1,6	9,3 ± 0,6	8,5 ± 0,6	9,5 ± 0,5	<b>9,7 ± 0,9</b>
	PM1	9,4 ± 0,4	9,4 ± 0,8	8,9 ± 0,4	10,9 ± 0,5	10,2 ± 0,5	13,4 ± 0,8
	PM2	12,2 ± 0,8	10,6 ± 0,5	9,4 ± 0,7	7,9 ± 0,9	9,8 ± 0,4	10,1 ± 0,9
	PT1	12,4 ± 0,9	7,0 ± 1,2	7,0 ± 0,5	9,7 ± 1,2	12,4 ± 1,1	11,5 ± 1,5
N.K	0	0	0	0	0	0	
GC	28	27	26	23	25	28	

Hekzan çözücülerinden sonuç alınamamıştır.

PP1: Paeonia peregrina yaprak, PP2: Paeonia peregrina kök, PM1: Paeonia mascula subsp mascula yaprak, PM2: Paeonia mascula subsp mascula kök, PT1: Paeonia tenuifoli yaprak, N.K.: Negatif Kontrol, GC: Gentamicin, ±: standart sapma değeri

### Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda insan, hayvan sağlığının patojen mikroorganizmalara karşı korunmasına yönelik ve gıdalarda bozulmaya neden olan

mikroorganizmaların varlığına karşı geleneksel yaklaşımlardaki gelişmelere paralel olarak antimikrobiyal aktivite ile ilgili araştırmalar ve bitki uçucu yağlarının potansiyel kullanımı ön plana çıkmıştır. Bu

nedence, farklı patojenlere karşı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan araştırmalar dünya çapında yaygınlık kazanmıştır [12].

*Paeonia* cinsi üzerinde Wu ve ark. [13] tarafından kimyasal içerik ve biyoaktivite çalışmaları yapılmış ve 13 monoterpen, 45 monoterpen glikozit, 22 triterpenoid, 8 flavonoid, 26 fenol ve fenolik glikozit, 31 tanen elde edildiği bildirilmiştir. *Paeonia* cinslerinin antioksidatif, antikoagulan ve antiagregan, antienflamatuvar, sedatif ve analjezik gibi birçok etkisi olduğu belirtilmiştir. Bařka bir çalışmada *Paeonia* turlerinin esansiyel yağları analiz edilmiştir. Salisilaldehit, cis-mirtanal ve metil salisilyatın ana bileşenler olarak yer aldığı ve bileşimde birçok yađ asidini içerdiği belirlenmiştir [14]. *Paeonia* turlerinin içerdiği yađ asitleri, terpenler ve fenolik maddeler gibi sekonder metabolitlerden dolayı antibakteriyal aktivite gosterdiği dűřünülmektedir.

Bu alışmada *P. peregrina* ve *P. tenuifolia* ham ekstraktlarının *S. epidermidis* ve *S. aureus*'un uremesini yuksık oranda inhibe ettiği gorumuştur. Ivanova ve ark. [15] çalışmamızdakine benzer şekilde *P. peregrina* ve *P. tenuifolia*'nın kocklerinden elde edilen asidik fraksiyonları *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı

antimikrobiyal etkilerini incelemiş ve tum fraksiyonların *S. aureus* üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir.

Kunduhoğlu ve ark. [16] yaptıkları çalışmada Eskişehir bolgesinden topladıkları *P. peregrina* yapraklarından sokslet yontemini kullanarak ekstraktlar hazırlamışlardır. Hazırlanan ekstraktın *B. subtilis*'te 11 mm, *S. aureus*'ta 9 mm, *S. epidermidis*'te 11 mm, *E. coli*'de 8 mm inhibisyon zonu oluşturduğu gorumuştur. Çalışmamızda *P. peregrina* yaprağının aseton ile hazırlanan ekstraktının *B. subtilis*'te 10 mm, *S. epidermidis*'te 11 mm, *E. coli*'de 14 mm ve *S. aureus*'ta 17,3 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu belirlenmiştir. İki alışma arasındaki farklılık ekstrakt hazırlama yontemlerinden olabileceği gibi bitkilerin toplandııkları bolgenin toprak içeriği, iklim şartları gibi etmenlerden de kaynaklanabilir.

Soare ve ark. [17] çalışmamızdakine benzer şekilde *P. officinalis*'den etanol ve metanol ozuculeriyle yaptıkları ekstraktların antibakteriyal etkisini araştırmışlardır. Etanol ile hazırlanan ekstraktın *E. faecalis* üzerinde 14,5 mm *E. coli* bakterisi üzerinde ise 16,5 mm inhibisyon zon oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi pozitif kontrol olan Gentamicinle kıyaslandığında

kullanılan ekstraktların test bakterileri üzerinde orta derecede antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca *P. mascula* subsp *mascula*'nın kullanılan test mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel etkisinin olduğu ilk kez bu çalışmada belirlenmiştir. Kullanılan çözücülerin bitki içeriğinin açığa çıkarılmasında önemli olduğu gözlenmiştir. *Paeonia* türleri içerisinde *P. peregrina*'dan aseton ile hazırlanan ekstraktının önemli düzeyde antibakteriyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. *P. peregrina*'dan elde edilen ekstraktın birçok antibiyotiğe karşı direnç geliştiren *S. aureus* bakterisi üzerinde yüksek oranda inhibisyon etkisinin olması dikkat çekicidir. *Paeonia* türleri patojenlerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde bazı sentetik antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabilceğini göstermiştir.

Yapılan bu tip çalışmaların yaygınlaştırılarak bitkilerin etken maddelerinin izole edilip tanımlanmasının tıpta, gıda sektöründe ve endüstride kullanım olanakları açısından önemli bir olgu olabileceğini düşünmekteyiz.

### **Kaynaklar**

[1] Bayaz, M. 2014. Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri. Akademik Gıda, 12(3) 45-53.

[2] Dağcı, K. E. İzmirli, M., Dığrak, M. 2002. Kahramanmaraş İlinde Yetişen Bazı Ağaç Türlerinin Antimikrobiyel Aktivitelerinin Araştırılması, KSÜ Fen ve Mühendislik dergisi, 5(1).

[3] Aydın, B. 2008. Bazı Tıbbi Bitki ve Baharatların Gıda Patojenleri Üzerine Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması, Kafkas Üniv Vet Fak Derg. 14 (1): 83– 87.

[4] Gök, T.A. 2006. Kırdı Bayırda Gezginin Cep Kitabı. Kaknüs Yayınları, İstanbul.

[5] Çiçek, A. Koyuncu, O. Yaylacı, K. 2014. Seyitgazi Ovasının Çiçekleri. Anadolu Üniversitesi Yayınları; NO 3056. Çevre sorunları Uygulama ve Araştırma Merkezi Yayınları ; NO. 4, 60- 66.

[6] Melikoğlu, G. Kurtoğlu, S., Kültür, Ş. 2015. Türkiye'de Astım Tedavisinde Geleneksel Olarak Kullanılan Bitkiler. Marmara Pharmaceutical Journal. 19: 1-11.

[7] Zhang, X., Shi, Q., Ji, D., Niu, X.L., Zhang, Y.L., 2017. Determination of the phenolic content, profile, and antioxidant activity of, seeds from nine tree peony (*Paeonia* section *Moutan* DC.) species native to China, Food Research International 97 s.141–148.

[8] He, C., Peng, Y., Xiao, W., Liu, H., Xiao, P., 2012. Determination of chemical variability of phenolic and monoterpeneglycosides in the seeds of *paeonia* species using HPLC and profiling analysis, Food Chemistry. 138: 2108-2114.

[9] Leporattia, M., Ivancheva, S., 2003. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy, Journal of Ethnopharmacology 87: 123–142.

[10] Dindaroğlu, T., 2014. Şakayık Bitkisinin (*Paeonia mascula*) Bazı Ekstrem Yetiştirme Ortamı III. Uluslararası Odun Dışı Orman Ürünleri Sempozyumu 8-10 Mayıs 2014, Kahramanmaraş.

[11] National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1997)

[12] Teles-Andrade, B.M.F., Lidiane, N.B. Silva Probst, I., Fernandes Júnior, A., 2014. Antimicrobial activity of essential oils, Journal of Essential Oil Research, 26:1, 34-40.

[13] Wu, S.H., Wu D, Chen Y.W, 2010. Chemical Constituents and Bioactivities of Plants from the Genus *Paeonia* Chemistry & Biodiversity – Vol. 7.

[14] Orhan, İ., Demirci, B., Omar, I., Siddiqui, H., Kaya, E., Choudhary, M., Ecevit-Genç, G., Özden, 2004. Farmasötik Kimya Pratikleri, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara.

[15] Ivanova, A., Delcheva, I., Tsvetkovab, I., Kujumgievb, A., and Kostova, I., 2002. GC-MS Analysis and Anti-Microbial Activity of Acidic Fractions Obtained from *Paeonia peregrina* and *Paeonia tenuifolia* Roots. Naturforsch, 57s. 624-628.

[16] Kunduhoğlu, B., Platin, S., Çalışkan, F., 2011. Antimicrobial Screening Of Some Medicinal Plants Collected From Eskisehir, Turkey. Fresenius Environmental Bulletin (20):4 945-952.

[17] Soare, L.C., Ferde, M., Stefanov, S., Denkova, Z., Nicolova, R., Denev, P., Ungureanu, C., 2012. Antioxidant and Antimicrobial Properties of some Plant Extracts. REV. CHIM. (Bucharest) 63 No.4.