



# Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

## *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* Bitkisinin *in vitro* Antimikrobiyal Aktivitesi ve Etanol Ekstrakt Kompozisyonunun Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi ile Belirlenmesi

 Kaan ÇETİN<sup>a,\*</sup>,  Başaran DÜLGER<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Biyoloji Anabilim Dalı, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

<sup>b</sup> Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

\* Sorumlu yazarın e-posta adresi: cet.kaan@gmail.com

DOI: 10.29130/dubited.1002626

### Öz

Bu çalışmada, Düzce ilinden toplanan Lamiaceae familyasına ait *Teucrium chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* L. bitkisinden elde edilen etanol, etil asetat ve kloroform ekstraktları *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* gibi bakteri kültürlerine ve *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Cryptococcus neoformans* ve *Debaryomyces hansenii* gibi maya kültürleri kullanılarak antimikrobiyal aktivitelerini incelemek amacıyla disk difüzyon metoduyla araştırılmıştır. *Teucrium chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin en yüksek antibakteriyal aktivitesi etanol ekstraktında *S.aureus* (14mm) bakterisine karşı belirlenmiştir. En etkili antifungal etki ise yine etanol ekstraktında *K. marxianus* (17mm) maya türüne karşı gözlemlenmiştir. Etanolün, bitki bileşiklerinin ekstraksiyon işlemlerinde diğer çözücülere göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Buna ilaveten bitkinin kimyasal karakterizasyonu Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi (GC/MS) tekniği ile araştırılmıştır. Elde ettiğimiz bulgular bitkinin mikrobiyal enfeksiyonlara karşı halk arasında ilaç olarak kullanımının uygunluğunu destekler niteliktedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kimyasal bileşim, Antimikrobiyal aktivite, Disk difüzyon yöntemi, GC-MS, *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys*

## *in vitro* Antimicrobial Activity of *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* and Determination of The Ethanol Extract Composition By Gas Chromatography/Mass Spectrometry

### ABSTRACT

In this study, ethyl acetate, ethanol and chloroform extracts obtained from *Teucrium chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* L. (Lamiaceae) collected from Duzce province were investigated by disc diffusion method in order to examine their antimicrobial activities against *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* as bacterial cultures and *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Cryptococcus neoformans* and *Debaryomyces hansenii* as the yeast cultures. While, the highest antibacterial activity was measured against *S. aureus* (14 mm) bacteria in the ethanol extract, the highest antifungal activity was measured against the yeast culture of *K. marxianus* (17 mm) in ethanol extract. Besides,

chemical characterization of the plant was investigated by Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GC/MS) technique. Our findings support the suitability of the plant as a medicine against microbial infections among the public.

**Keywords:** Chemical composition, Antimicrobial activity, Disk diffusion method, GC-MS, *Teucrium chamaedrys* subsp. *Chamaedrys*

---

Geliş: 30/09/2021, Düzeltme: 20/10/2021, Kabul: 25/10/2021

## **I. GİRİŞ**

İnsanoğlu bitkilerin tedavi edici özelliklerden çok eski tarihlerden beri yararlanmaktadır. 1926 yılından bu yana, bitkilerin insan sağlığı için önemleri ve mikroorganizmalar üzerine öldürücü özellikleri laboratuvarlarda araştırılmaktadır. Dünya sağlık örgütüne (WHO) göre, Dünya üzerinde 20.000 civarında tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitki bulunmaktadır [1].

Lamiaceae familyasına giren bitkilerin pek çoğu çok eski zamanlardan beri halk ilacı olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmakla beraber; bu bitkilerin tıpta, gıda endüstrisinde, parfümeri ve kozmetikte çeşitli kullanımlar sahaları bulunmaktadır. Buna ilaveten, bugün itibarı ile bu familya bitkilerinin rasyonel fitoterapiye ait pek çok preparatta da yer aldıkları aşikardır [2]. *Teucrium* L. cinsi üyeleri 2000 yıldan fazla bir süredir tıbbi bitkiler olarak kullanılmaktadırlar ve *Teucrium* L. cinsinin Türkiye’de 32 türü bulunmaktadır [3,4]. Bu cinse ait türler, içerdikleri çeşitli etken maddeler nedeni ile gerek Asya gerekse Avrupa ve Afrika kıtalarında ilkçağdan günümüze değin çeşitli hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılan bitkilerdir [5].

*T. chamaedryssubsp. chamaedrys* bitkisi ülkemizde “kısamahmut otu” ve “dalak otu” olarak bilinmekte olup, başlıca Kuzey, Güney ve Orta Anadolu’da yayılım göstermekte olup, bu bitki yaraları iyi edici, uyarıcı, iştah açıcı ve ateş düşürücü gibi özellikleri ile kullanım görmektedir. Bu bitkinin Bulgaristan’ın yöresel halkı tarafından, yapraklarından yapılan bir çay ile gastrite karşı kullanımı bulunmaktadır [6,7]. Rutin arazi çalışmaları sırasında, ilgili bitkinin bölge civarı hakkında yaraları iyi edici olarak kullanımı belirlenmiştir. Buradan yola çıkarak, bu çalışmada *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal etkilerinin ölçülmesi ve halk tıbbındaki yaygın kullanımının uygunluğunun bilimsel yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca bitkinin kimyasal içerik yapısı analiz edilerek sahip olduğu kimyasal bileşiklerin belirlenmesi hedeflenmiştir.

## **II. YÖNTEM**

### **A. BİTKİ MATERYALİ**

Rutin arazi çalışmaları sırasında, *Teucrium chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımları, Düzce Üniversitesi, Konuralp Yerleşkesi’nden [280 m 40°54’24.19”K, 31°11’12.18”D (27/05/2020)] toplanmış ve Prof.Dr. Ersin Karabacak (Çanakkale 18 Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) tarafından teşhis edilmiştir.

### **B. TEST MİKROORGANİZMALARI**

Çalışmada test mikroorganizmaları olarak; *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* bakteri kültürleri ve *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Cryptococcus neoformans* ve *Debaryomyces hansenii* maya kültürleri kullanılmıştır. Test mikroorganizmaları, Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Araştırma laboratuvarı’ndan sağlanmıştır.

### C. EKSTRAKTLARIN HAZIRLANMASI

Araziden toplanan *Teucrium chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys* L. bitkisine ait çiçekli toprak üstü kısımları uygun herbaryum teknikleri kullanılarak araştırma laboratuvarında kurutulmuştur. Kuruyan bitki kısımları aseptik şartlarda mekanik parçalayıcı kullanılarak toz haline getirilmiştir. Toz halindeki bitkiden 15 g tartılarak %96'lık 180 mL etanol (Merck, Darmstadt) ile soxhlet cihazına yerleştirilerek, 12 saat süren ekstraksiyon işlemi sonrasında aynı metot diğer çözücüler olan kloroform ve etil asetat ekstraktları için de uygulanmıştır. Elde edilen etanol, etil asetat ve kloroform ekstraktları korunaklı olarak +4 °C'de soğutucuda muhafaza edilmiştir [8].

### D. DİSK DİFÜZYON YÖNTEMİ

Stok halde muhafaza edilen test mikroorganizmalarını aktifleştirmek için Mueller Hinton Broth (MHB) (Oxoid) besiyerleri kullanılmıştır. İnkübasyon işlemi bakteriler için 35-37 °C'de 24-48 saat, mayalar için ise 25-27 °C'de 48-72 saat olarak gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, steril petrilere 20 mL Mueller Hinton Agar (MHA) (Oxoid) dökülmüştür. İnkübasyon sonrası, test mikroorganizmalarından mikropipet ile steril şartlarda 100 µL alınarak, besi ortamı petrilere ekimler yapılmıştır. 6 mm çapındaki boş steril diskler (Bioanalyse) aseptik şartlarda 75µL olacak şekilde bitkiden elde edilen ekstraktlar emdirilmiştir. Bu diskler mikroorganizma ekimi yapılan MHA'lı petrilere uygun mesafelerde ve kullanılan üç ekstrakt sayısına uygun bir şekilde üç bölgeye steril bir pens yardımıyla yerleştirilmiştir. Her diskin tüm yüzeyinin besi ortamına teması sağlanmıştır. 35-37 °C'de 24-48 saat bakterileri için, 25-27 °C'de 48-72 saat ise mayalar için inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sürelerinin sonlarında disk çevresindeki inhibisyon zonlarının çapları milimetrik olarak ölçülmüştür [9,10]. Ayrıca, negatif kontrol için yalnız çözücüler emdirilmiş steril diskler, pozitif kontrol için ise ticari olarak kullanımda olan standart antibakteriyel ve antifungal antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Tüm deneyler, üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

### E. GAZ KROMOTOGRAFİSİ KÜTLE SPEKTROSKOPİSİ (GC/MS) YÖNTEMİ

Bu çalışmada, *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisinden elde edilen etanol ekstraktının kompozisyonu Agilent marka 8890 model GC/MS cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Buna göre, enjektör sıcaklığı 350 °C ve taşıyıcı olarak He gazı kullanılmıştır (1mL/dk). Enjektör modu 10:1 split, enjektör hacmi 1 mikrolitredir. Fırın 40°C' den 150 °C'ye kadar dakikada 4 derece, 150 °C'den 180 °C'ye kadar dakikada 3 derece, 180 °C'den 230 °C'ye dakikada 2 derece ve 230 °C'den 280 °C' ye kadar dakikada 1 °C derece artışla gerçekleşmiştir. GC/MS tekniği ile elektron iyonlaştırması sonucu oluşan iyonlar, kütle/yük oranlarına göre ayrılarak dedektörde kaydedilmiş ve veriler bilgisayardan alınmıştır. En güncel Nist ve Wiley veri kütüphanelerindeki bileşiklerin verileri çapraz karşılaştırma sonucu bileşikler tayin edilmiştir [11,12].

## III. BULGULAR ve TARTIŞMA

Düzce Yöresinde yayılış gösteren *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan çalışmanın bulguları Tablo-1 ve Tablo-2'de verilmiştir. Çalışma sonucunda el ettiğimiz verilere göre; *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisine ait etanol ekstraktının *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. pyogenes*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *C. albicans*, *C. neoformans* ve *D. hansenii* türlerine etki etmediği, diğer mikroorganizmalara ise 9-17 mm arasında değişen inhibisyon zonları ile etkili olduğu gözlenmiştir. Bitkiye ait kloroform ekstraktının *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. neoformans* ve *D. hansenii* türleri üzerinde etkili olmadığı, diğer mikroorganizmalarda ise 7-13 mm arasında inhibisyon zonları oluşturduğu saptanmıştır. Bitkiden elde edilen etil asetat ekstraktının *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. vulgaris*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *C. albicans*, *C. neoformans* ve *D. hansenii* mikroorganizmalarına kaşı etkisiz, diğer

türlere kaşı ise 7-9 mm arasında inhibisyon zonları ile değişik seviyelerde aktivite oluşturduğu belirlenmiştir. Bitkinin etanol ekstratının *C. tropicalis* türü üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (13mm), FLU<sub>25</sub>, MCZ<sub>10</sub> ve KTC<sub>10</sub> antibiyotiklerinden, *K. marxianus* türü üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (17mm), FLU<sub>25</sub>, MCZ<sub>10</sub>, CLT<sub>10</sub>, NY<sub>100</sub> antibiyotiklerinden daha yüksektir. Bitkinin kloroform ekstratının *K. marxianus* türü üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (13mm), FLU<sub>25</sub>, CLT<sub>10</sub> ve MLT<sub>10</sub> antibiyotiklerinden yüksektir. Bitkiye ait etil asetat ekstratının *K. marxianus* türü üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu ise (9 mm) FLU<sub>25</sub> mukayese antibiyotiğinden daha yüksektir.

**Tablo 1.** *Teucrium chamaedrys subsp. chamaedrys* bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi.

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon Zonları (mm)*		
	Ekstraktlar		
	Etanol (75 µL)	Kloroform (75 µL)	Etil Asetat (75 µL)
<b>Bakteriler</b>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	9	9
<i>Escherichia coli</i>	6	6	6
<i>Salmonella typhimurium</i>	6	6	6
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6	6	6
<i>Proteus vulgaris</i>	6	6	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	6	6
<i>Bacillus cereus</i>	6	6	6
<i>Bacillus subtilis</i>	6	6	6
<b>Maya Kültürleri</b>			
<i>Candida albicans</i>	6	6	6
<i>Candida tropicalis</i>	13	6	6
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	17	13	9
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6	6	6
<i>Debaryomyces hansenii</i>	6	6	6

\* Değerlere disk çapları (6 mm) dahil olup, üç bağımsız deneyin ortalamasıdır.

**Tablo 2.** Çalışmada kullanılan bazı standart antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesi.

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon Zonları (mm)*													
	Antibakteriyel Mukayese Antibiyotikleri										Antifungal Mukayese Antibiyotikleri			
	CN <sub>10</sub>	E <sub>15</sub>	TOB <sub>10</sub>	AZM <sub>15</sub>	S <sub>10</sub>	CIP <sub>5</sub>	TE <sub>30</sub>	NET <sub>30</sub>	IPM <sub>10</sub>	FLU <sub>25</sub>	KTC <sub>10</sub>	MCZ <sub>10</sub>	CLT <sub>10</sub>	NY <sub>100</sub>
<b>Bakteriler</b>														
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	34	21	30	26	41	27	27	45	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Escherichia coli</i>	14	40	18	33	18	44	13	10	52	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Salmonella typhimurium</i>	28	32	24	28	23	29	28	31	48	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19	27	17	25	19	30	26	22	38	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Proteus vulgaris</i>	16	20	18	12	20	22	13	12	32	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11	19	8	8	27	20	10	13	33	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	30	19	23	23	33	29	22	42	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Enterococcus faecalis</i>	18	30	22	21	21	28	24	21	33	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt

**Tablo 2 (Devam).** Çalışmada kullanılan bazı standart antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesi.

<i>Bacillus cereus</i>	19	30	20	21	17	28	28	22	35	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Bacillus subtilis</i>	27	39	22	27	24	40	36	30	45	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<b>Maya Kültürleri</b>														
<i>Candida albicans</i>	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	6	18	11	10	14
<i>Candida tropicalis</i>	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	7	12	9	14	20
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	6	18	12	10	16
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	9	18	12	9	6
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	6	17	8	10	16

Nt: Test edilmedi, CN<sub>10</sub> (Gentamicin, 10 µg/disc), E<sub>15</sub> (Eritromisin, 15 µg/disc), TOB<sub>10</sub> (Tobramisin, 10 µg/disc), AZM<sub>15</sub> (Azitromicin, 15 µg/disc), S<sub>10</sub> (Streptomisin, 10 µg/disc), CIP<sub>5</sub> (Ciprofloksasin, 5 µg/disc), TE<sub>30</sub> (Tetrasiklin, 30 µg/disc), NET<sub>30</sub> (Netilmicin, 30 µg/disc), IPM<sub>10</sub> (Imipenem, 10 µg/disc), FLU<sub>25</sub> (Flukonazol, 25 µg/disc), KTC<sub>10</sub> (Ketokonazol, 10 µg/disc), MCZ<sub>10</sub> (Mikonazol, 10 µg/disc), CLT<sub>10</sub> (Klotrimazol, 10 µg/disc), NY<sub>100</sub> (Nistatin, 100 µg/disc).

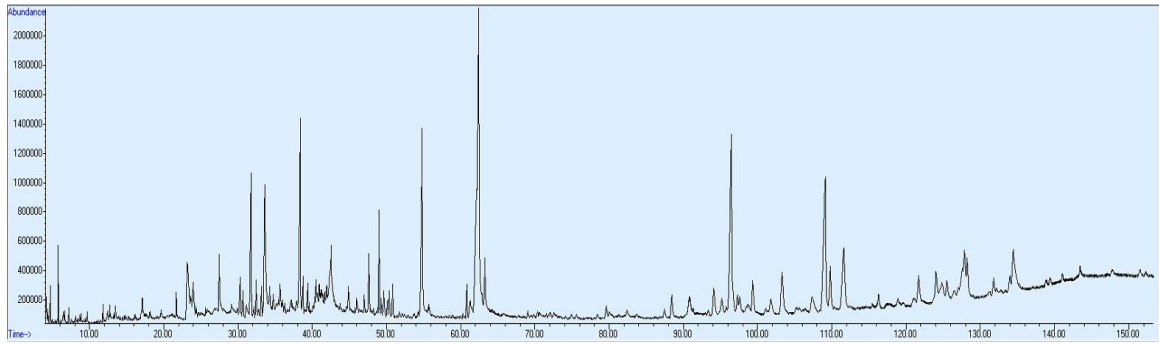
\* Disklerin çapı (6 mm) olup değerler üç bağımsız deneyin ortalamasıdır.

Yaylı (2007), *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisine ait uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlar ve test mikroorganizmaları olarak; *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Serratia marcescens* ATCC 13880, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida tropicalis* ATCC 13803 ve *Candida albicans* ATCC 60193 kullanmışlardır. Çalışmada çözücü olarak asetonun kullanıldığı bitkiye ait uçucu yağın, *E. coli*, *Y. pseudotuberculosis*, *S. marcescens*, *S. aureus* ve *E. faecalis*, mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, diğer 4 mikroorganizmaya karşı aktivite göstermediğini tespit etmişlerdir. Yapmış oldukları çalışma sonucunda en yüksek antimikrobiyal etkiyi *Y. pseudotuberculosis* türü göstermiştir. Bulgulara göre *E. coli*, *S. marcescens*, *E. faecalis* ve *S. aureus* türleri orta derece etki gösterirken, *B. subtilis*, *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *K. pneumoniae* türlerinin ise etkisiz olduklarını belirlemişlerdir [13]. Çalışma verilerine göre bitkinin *S. aureus*, *B. subtilis*, *K. pneumoniae* ve *C. albicans* türleri üzerinde oluşturduğu değerler ile bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar benzerlik gösterse de *E. coli*, *E. faecalis* ve *C. albicans* türlerinin oluşturduğu değerler ile bu çalışmada elde ettiğimiz veriler arasında farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılığın nedeni olabilecek başlıca etkenler, iki çalışmada kullanılan çözücülerin farklı olması, çalışmada kullanılan mikroorganizma kemotiplerinin ve ikincil metabolitlerin bileşimindeki farklılıklar olabilir. Literatürde *T. chamaedrys* bitkisinin antimikrobiyal etkisini gösteren fazla çalışma olmaması, elde ettiğimiz sonuçların daha net bir şekilde karşılaştırılabilmesine engel teşkil etse de çalışmalar arasındaki benzerlikler bitkinin antimikrobiyal etkisinin ortaya koyulması adına önem arz etmektedir.

*K. marxianus*, bağışıklığı baskılanmış bireylerde ortaya çıkabilmesine rağmen, genellikle insan hastalığının bir nedeni değildir. Fakat kalp pilleri ve protez kalp kapakları gibi insan vücudundaki pek çok kalıcı cihazın biyofilmlerinde rastlanmaktadır. Tedavisinde kapsamlı yan etkileri nedeniyle, genellikle kritik hastalarda ya da bağışıklığı baskılanmış hastalarda ciddi mantar enfeksiyonları için kullanılan amfoterisin B antibiyotigi kullanılmaktadır [14]. Bitkinin etanol ekstraktı emdirilmiş disklerinin özellikle *K. marxianus* türü üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonlarının deneyde kullandığımız 5 farklı mukayese antibiyotiginin 4 tanesinden daha etkili olması, *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisinin *K. marxianus* mayasına karşı alternatif bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılmasının uygun olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada etil asetat, etanol ve kloroform ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı oluşturduğu inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek, bu değerler tüm ekstraktlarla karşılaştırıldığında, etanol ekstraktında meydana gelen zon çaplarının toplamının diğer çözücülerle elde edilen ekstraktlardan daha fazla olduğu saptanmıştır. Ayrıca etanol ekstraktı ile saptanan bazı aktivite bulgularının, test mikroorganizmaları olarak kullanılan türler üzerinde bazı mukayese antibiyotik bulgularından daha yüksek çıktığı da belirlenmiştir. Bu durum çalışmamızda kullanılan etanolün diğer çözücülere göre, antimikrobiyal maddelerin ekstrakte edilmesi

bakımından en etkili çözücü olduğunu vermektedir. Buna ilaveten, disk difüzyon yöntemi araştırmalarında, elde edilen etanol ekstraktlarının çok daha iyi sonuçlar verdiği literatür bilgisinde de ortaya konmuştur [13].

*Teucrium chamaedrys* bitkisinin kimyasal içerik yapısı Tablo-3'de ve bitkiden elde edilen etanol ekstraktının GC/MS spektrumu da Şekil-1'de verilmiştir. Bitkinin kimyasal yapısı Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi (GC/MS) tekniği ile analiz edildiğinde; 2-Furanmethanol (Furfuril Alkol), catechol (Katekol), beta-Bourbonene (B-Burbonen), 2-furancarboxaldehyde (Furfural), cyclododecane (Siklododekan), alpha-Humulene (A-Humulen), 1-heptadecene (1-Heptadeken), caryophyllene (Kariofilen), 5-hydroxymethylfurfural (Hidroksimetilfurfural), 2-methoxy-4-vinylphenol (2-Metoksi-4-vinilfenol), trans-alpha-Bergamotene (Trans alfabergamoten) caryophylleneepoxide (Karyofillenoksit), 1-methyl-5-methylene-8-isopropyl-1,6-cyclodecadiene, (1,6-Siklodekadien, 1-metil-5-metilen-8-(1-metiletil)1, 5,5,8-Tetramethyl-12-thiabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene (1,2-Epithiohumilen), 5-.alpha.-Hydroxycaryophylla-4(12),8(13)-diene (5-a-Hidroksikaryofil-4(12),8(13)-dien), 4-((1E)-Hydroxy-1-propenyl]-2-methoxyphenol(4-((1E)-Hidroksi-1-propenil]-2-metoksifenol), 1-Octadecene (Oktadesen), Neophytadiene (Neofitadien), 1,1,7-Trimethyldecahydro-3a,7-methanocyclopenta[8] (annulene-3,6-diol), Neophytadiene (Neofitadien), Palmitic acid (Palmitik asit), 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-OL (3,7,11,15-Tetrametil-2-heksadesen-1-OL), 9,12,15-Octadecatrienoic acid (Alfa linolenik asit), Stearic acid (Stearik asit), 12-Epi-Teucvin ile 4 adet evrensel kütüphanede bulunmayan kimyasal içerik belirlenmiştir.



Şekil 1. *Teucrium chamaedrys subsp. chamaedrys* bitkisinin etanol ekstraktının genişletilmiş GC-MS spektrumu.

Tablo 3. *T. chamaedrys subsp. chamaedrys* bitkisinin etanol ekstraktının GC-MS analiz sonuçları.

Sıra	Molekül İsmi	Alan %	Yakalama Zamanı
1	2-Furanmethanol	0,15	7.222
2	Catechol	2,93	23.173
3	5-Hydroxymethylfurfural	1,13	23.942
4	2-Methoxy-4-vinylphenol	1,72	27.457
5	.BETA. BOURBONENE	0,69	30.273
6	Cyclododecane	0,38	30.684
7	Caryophyllene	2,41	31.727
8	trans-.alpha.-Bergamotene	0,56	32.465
9	.alpha.-Humulene	0,47	33.156
10	Unknown	4,24	33.607
11	8-ISOPROPYL-1-METHYL-5-METHYLENE-1,6-CYCLODECADIENE	0,95	34.298
12	Unknown	0,54	34.767
13	Unknown	2,08	35.707

**Tablo 3.** (devam) *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisinin etanol ekstratının GC-MS analiz sonuçları.

14	(-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane,,12-trimethyl-9-methylene-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]-	3,47	38.373
15	1-Heptadecene (1-Heptadeken)	0,61	38.758
16	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene	0,70	39.403
17	5-.alpha.-Hydroxycaryophylla-4(12),8(13)-diene	3,15	40.527
18	Unknown	5,23	42.514
19	4-((1E)-3-Hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenol	0,66	44.861
20	1-Octadecene	0,24	46.998
21	Unknown	1,17	47.604
22	Neophytadiene	1,56	48.985
23	(3S,3aS,6R,7R,9aS)-1,1,7-Trimethyldecahydro-3a,7-methanocyclopenta[8]annulene-3,6-diol	0,66	50.339
24	Neophytadiene	0,48	50.823
25	n-Hexadecanoic acid	4,76	54.793
26	2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-ethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-	0,44	60.834
27	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	14,39	62.428
28	Octadecanoic acid	1,67	63.287
29	12-epi-Teucvin	1,50	109.803
30	Unknown	3,24	111.619

Yaylı (2007) tarafından yapılan çalışmada, *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys*, *T. orientale* var. *puberulens* ve *T. chamaedrys* subsp. *lydium* bitkilerinin uçucu yağ bileşenlerinin tayini için GC/MS tekniği kullanılmış ve 65 adet doğal bileşiğin yapısı aydınlatılmıştır. *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisinden elde edilen 36 adet bileşiğin ham karışımın %79.2'sini oluşturduğu belirlenmiştir. 65 adet doğal bileşiğin 48tanesine terpen türü bileşikler olup bunlardan seskiterpenler bitkilerde sırasıyla %41.8, %53.5 ve %42.3 oranlarıyla miktarı en fazla olan gruptur. 11 adet bileşen bu üç tür içinde ortak olup bunların *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys*, *T. orientale* var. *puberulens* ve *T. chamaedrys* subsp. *lydium* bitkilerindeki oranları sırasıyla %42.0, %54.2 ve %46.9 şeklindedir [13]. İki çalışmada da *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* türü için tespit edilen ana kimyasal bileşikler terpenler sınıfında yer alan ve genellikle C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> moleküler formüle sahip seskiterpenlerdir. Terpenler, gıda, kozmetik, farmasötik ve biyoteknoloji endüstrilerinde kullanım için arzu edilen özelliklere sahiptir ve bu nedenle önemli kabul edilirler [14,15]. *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisinin antimikrobiyal etki ve kimyasal yapıları ile ilgili yapmış olduğumuz çalışma bulguları ile yapılan benzer çalışmalarda elde edilen sonuçların arasındaki farklılıklar, bitki metabolitlerini açığa çıkarmak için uygulanan yöntemlerdeki farklılıklardan yada antimikrobiyal etkinliği ölçmek için kullanılan deney yöntemindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülebilir [16,17]. Farklılıkların nedeni ikincil metabolitlerin tür içi değişkenliği [16] olabilir. Bitkideki esansiyel yağ oranları ve kompozisyonlardaki varyasyonlar; ekolojik veya bireysel değişikliklere [18], lokasyona [19], çevre ve topografik koşullara [20], coğrafik koşullara [21], iklime [20,21], gün içindeki sıcaklık farklılıkları ve değişkenliklerine[22], bitkinin gelişim aşamasına [21,22], bitkinin genetik yapısına [18,20], bitkinin organlarına, bitkinin yaşına [20], bitkinin toplanma zamanına, damıtma şekline, kurutma koşullarına, kemotiplerine ya da büyük olasılıkla genetik farklılaşmaların sebebi durumundaki tozlaşmaya [21] bağlı olarak değiştiği varsayımına gidilebilir.

#### **IV. SONUC**

Çalışmada bitki materyali olarak kullanılan *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* türünün etanol, kloroform ve etil asetat ekstratlarının antimikrobiyal aktivitelerinin bilimsel metotlar dahilinde belirlenmesi hedeflenmiş ve elde edilen bulguların değerlendirilmesi sağlanmıştır. Daha önceleri bu

bitki türü ile yapılmış benzer çalışmalar yapılmış olsa da bu çalışma Gram-pozitif ve Gram-negatif olarak toplam 10 bakteri ve 5 maya kültürünün test mikroorganizması olarak kullanıldığı, 9 farklı antibakteriyal antibiyotik ile 5 farklı antifungal antibiyotiğin pozitif kontrol olarak ekstraktların etkinliği ile karşılaştırıldığı ve potansiyel bir antimikrobiyal aktivitenin ortaya çıkarıldığı ilk çalışma niteliğindedir. *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* türünün hem antimikrobiyal aktivite hem de kimyasal karakterizasyonunun belirlenmesi amacıyla yapılmış literatürde yeterli çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız neticesinde elde ettiğimiz bulguların daha ileri düzeyde araştırmalar için de temel veri niteliği taşıması hedeflenmiştir.

Son yıllarda mikroorganizmaların eski tip antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirmeye başlaması, bilim insanlarını yeni nesil antimikrobiyal madde arayışına itmiştir. Bu duruma bağlı olarak uzun zamandır halk tıbbında birçok hastalığın tedavisinde kullanılan çeşitli bitkiler ile bu bitkilere ait yağların ve ekstraktların yeni antibiyotikler üretiminde etkili çözüm yollarından biri olabileceği sonucu ortaya çıkmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar bize, çeşitli bitki ekstraktlarının enfeksiyon etkenlerine karşı etkili olabileceğini ve son yıllarda artan antibiyotiklere karşı gelişen direnç söz konusu olduğunda bunlara alternatif olabileceğini göstermiştir.

## **V. KAYNAKLAR**

- [1] M. Saleem, “Chemical and biological screening of some relatives of Lamiaceae (Labiatae) family and marine algae *Conidium iyengarii*,” Doktora tezi, University of Karachi, Karachi, 2000.
- [2] A. Kalaycıoğlu ve C. Öner, “Bazı bitki ekstrelerinin antimutajenik etkilerinin Ames-Salmonella test sistemi ile araştırılması,” *Turkish Journal of Botany*, c. 18, ss. 117-122, 1994.
- [3] P. H. Davis, *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Edinburgh University Press, Edinburgh, 1988.
- [4] M. Grieve, *A Modern Herbal*, Barnes and Noble Books, New York. pp. 564-566, 1996.
- [5] E. Şarer ve B. Konukligil, “*Teucrium polium* L. uçucu yağı üzerinde araştırmalar,” *Doğa Türk Tıp ve Eczacılık Dergisi*, c. 11, ss. 317-325, 1987.
- [6] Anonim, (2021, 27 Ağustos). [Online]. Available: <http://tr.wikipedia.org/wiki/dalakotu>.
- [7] Anonim, (2021, 27 Ağustos). [Online]. Available: <http://ibufloora.ibu.edu.tr/tur/teucrium-chamaedrys>.
- [8] N. H. Khan, M. S. A. nur-E Kamal and M. Rahman, “Antibacterial activity of *Euphorbia thymifolia* Linn,” *Indian Journal of Medical Research*, vol. 87, pp. 395-397, 1988.
- [9] N. Maleki, A. Garjani, H. Nazemiyeh, N. Nilfouroushan, A.T. Eftekhari Sadat, Z. Allameh and N. Hasannia, “Potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* on rats,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 75, no. 3, pp. 213-218, 2001.
- [10] M. Rabbani, S. E. Sajjadi and H. R. Zarei, “Anxiolytic effects of *Stachys lavandulifolia* Vahl on the elevated plus-maze model of anxiety in mice,” *Ethnopharmacology*, vol. 89, no. 3, pp. 271-276, 2003.
- [11] Anonim, (2021, 16 Ağustos). [Online]. Available: [http://en.wikipedia.org/wiki/Gas\\_chromatography-mass\\_spectrometryGasChromatography](http://en.wikipedia.org/wiki/Gas_chromatography-mass_spectrometryGasChromatography), Wikipedia, The Free Encyclopedia .



- [12] Douglas,F, (2021, 17 Ağustos). [Online]. Available: GC/MSAnalysis, <http://www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html>.
- [13] N. Yaylı, “Bazı *Teucrium* L. taksonlarında uçucu yağların kimyasal bileşimleri ve Antimikrobiyal etkileri,” Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, Türkiye, 2007.
- [14] R. Thimmappa, K. Geisler, T. Louveau, P. O’Maille and A. Osbourn, “Triterpene biosynthesis in plants,” *Annual Review of Plant Biology*, no. 65, pp. 225-257, 2014.
- [15] J. M. Augustin, V. Kuzina, S. B. Andersen and S. Bak, “Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins,” *Phytochemistry*, vol. 72, no. 6, pp. 435-457, 2011.
- [16] G. İřcan, B. Demirci, F. Demirci, Y. B. Köse and K. H. C. Bařer, “Chemical characterization and antimicrobial evaluation of *Stachys citrina* subsp. *citrina* essential oil,” *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 9, no. 2, pp. 219-224, 2012.
- [17] G. Dölger, T. Tütenocaklı and B. Dölger, “Antimicrobial potential of the leaves of common mullein (*Verbascum thapsus* L., *Scrophulariaceae*) on microorganisms isolated from urinary tract infections,” *Journal of Medicinal Plants Studies*, vol. 3, no. 2, pp. 86-89, 2015.
- [18] A. Yavari and S. M. Shahagolzari, “Essential oil variation in the populations of *Stachys inflata* Benth from Iran”, *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, vol. 3, no. 5, pp. 735-739, 2013.
- [19] S. Cavar, M. Maksimovic and M. E. Solic, “Comparison of essential oil composition of *Stachys menthifolia* Vis. from two natural habitats in Croatia,” *Biologica Nyssana*, vol. 1, no. 1-2, pp. 99-103, 2010.
- [20] H. Fakir, S. Erbař, M. Özen and İ. E. Dönmez, “Hayıt (*Vitex agnus-castus* L.)’da farklı toplama zamanlarının uçucu yağ oranı ve bileşenleri üzerine etkisi,” *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, c. 1, s. 2, ss. 25-28, 2014.
- [21] F. Conforti, F. Menichini, C. Formisano, D. Rigano, F. Senatore, N. A. Arnold and F. Piozzi, “Comparative chemical composition, free radical-scavenging and cytotoxic properties of essential oils of six *Stachys* species from different regions of the Mediterranean area,” *Food Chemistry*, vol. 116, pp. 898-905, 2009.
- [22] A. Mukherjee, S. Pramanik, D. Das, R. Roy and K. L. Therese, “Polymicrobial chronic endophthalmitis diagnosed by culture and molecular technique,” *Indian Journal of Medical Microbiology*, vol. 32, no. 3, pp. 331-332, 2014.