



ARAŞTIRMA / RESEARCH

Klorzoksazon'un antibakteriyel etkisinin belirlenmesi

Investigation of antibacterial effects of chlorzoxazone

Mostafa Norizadeh Tazehkand¹, Mehmet Bertan Yılmaz²

¹Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Turkey
²Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, Turkey

Cukurova Medical Journal 2019;44(2):653-658

Abstract

Purpose: Some of non-antibiotic drugs may provide inhibition against bacterial growth in their routine use. Chlorzoxazone is a muscle relaxant used to treat muscle spasm and the resulting pain or discomfort. This study was aimed to the investigation of antibacterial effects of Chlorzoxazone using MIC (Minimum inhibitory concentration), MBC (minimum bactericidal concentration) and disk diffusion method.

Materials and Methods: The MIC and MBC was determined by dilution assay using different concentrations of Chlorzoxazone against 2 bacterial strain (*Pseudomonas aeruginosa* as a gram negative bacterial strain and *Bacillus subtilis* as a gram positive bacterial strain). Disk diffusion assay were prepared at different doses (25, 50 and 100 µg).

Results: MIC values of Chlorzoxazone against *Pseudomonas aeruginosa* was 0.800 mg ml⁻¹, and MBC values was 2.56 mg ml⁻¹ and MIC values of Chlorzoxazone against *Bacillus subtilis* was 0.400 mg ml⁻¹, and MBC values was 1.92 mg ml⁻¹. The results obtained from disk diffusion assay supported that the Chlorzoxazone has not antibacterial effect on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*.

Conclusion: Although antibacterial activity of Chlorzoxazone was not found but another studies are needed to determine the probable risk of Chlorzoxazone.

Keywords: Antibacterial effect, *Bacillus subtilis*, chlorzoxazone, *Pseudomonas aeruginosa*

Öz

Amaç: Antibiyotik olmayan ilaçların bazıları, rutin kullanımlarında bakteri gelişimine karşı inhibisyon etki sağlayabilirler. Klorzoksazon, kas spazmı ve bununla birlikte ortaya çıkan ağrıyı tedavi etmek için kullanılan kas gevşetici ilaçtır. Bu çalışmanın amacı Klorzoksazon'un antibakteriyel etkilerinin MİK (minimum inhibitör konsantrasyon), MBK (minimum bakterisid konsantrasyon) ve disk difüzyon metodu ile incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Klorzoksazon'a karşı MİK ve MBK değerlerin belirlenmesi 2 farklı bakteri suşunda (gram negatif bakteri suşu olarak *Pseudomonas aeruginosa* ve gram pozitif bakteri olarak *Bacillus subtilis*) seyreltmesi yöntemine göre belirlenmiştir. Disk difüzyon testi ise üç farklı konsantrasyon (25, 50 ve 100 µg)'da yapılmıştır.

Bulgular: Klorzoksazon'un *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı MİK değeri 800 mg mL⁻¹, MBK değerleri ise 2.56 mg mL⁻¹ ve Klorzoksazon'un *Bacillus subtilis*'e karşı MİK değerleri 0.400 mg mL⁻¹, MBK değeri ise 1.92 mg mL⁻¹ olarak belirlenmiştir. Disk difüzyon deneyinden elde edilen sonuçlar Klorzoksazon'un *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* üzerinde antibakteriyel etkisinin olmadığını göstermiştir.

Sonuç: Klorzoksazon'un antibakteriyel aktivitesinin olmamasına rağmen Klorzoksazon'un muhtemel riskini belirlemek için başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Antibakteriyel etki, *Bacillus subtilis*, klorzoksazon, *Pseudomonas aeruginosa*

GİRİŞ

İnsanlar hayatlarında en az bir kez kas spazmlarına maruz kalabilirler. Kaslar yağ dokularıyla iç içe çalışmaktadır ve vücuttaki yağ dokularının ısındığında

kas lifleri laktik asit, protein ve enerji veren vitaminleri kas dokularından toplar, bu şekilde güç üretilir. Beyinden gelen ani bir mesaj harekete hazır olmayan kasların kâfi miktarda laktik asit, protein ve diğer vitaminleri toplamaya fırsat bulamamasına ve

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Mostafa Norizadeh Tazehkand, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Turkey
E-mail: Mostafa.norizadeh@beun.edu.tr

Geliş tarihi/Received: 11.09.2018 Kabul tarihi/Accepted: 22.01.2019 Çevrimiçi yayın / Published online: 23.06.2019

böylece sinirler, kaslara striknin gibi uyarıcıların salgılanmasına neden olur. Striknin vücudun dış ortama karşı verdiği tepkinin ürünüdür. Gereken miktardan fazla salgılandığında kaslarda spazm oluşur ve bu spazm vücutta şiddetli ağrılara neden olur¹. Bu tür spazmlar bazı insanlarda sık sık tekrarlanabilir, bu durumda doktorlar tarafından kas gevşetici ilaçların kullanılması önerilir². Klorzoksazon kas spazmı tedavisi ve ağrı kesici olarak 1950'li yıllarından beri insanlar tarafından kullanılmaktadır. Klorzoksazon ticari olarak Lorzone, Paraflex ve Muscol isimleri ile piyasadadır³⁻⁵. Klorzoksazon'un kullanımı baş dönme, mide bulantısı, kusma ve karaciğer fonksiyonel bozuklukları gibi yan etkiler gösterebilir. Klorzoksazon, asetaminofen ile birlikte kullanılması doktorlar tarafından yasaklanmıştır zira Hepatotoksisite'ye neden olur. Bugüne kadar klorzoksazon'un santral sinir sistemi üzerindeki etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir ancak merkezi sinir sistemi çökmesine karşı etkili olduğu kabul edilmektedir⁶.

Türkiye'de klorzoksazon içeren ilaçlar Mepadol, Klorzoksazon, Muskazon, Paraflex ve Parafon şeklinde insanlar tarafından tüketilmektedir. Dünyada ise Klorzoksazon içeren ticari ilaçlar tek başına veya kombine edilmiş şekilde farklı ilaç firmaları tarafından üretilmektedir. Bu ilaçlardan bazılarının ticari isimleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir⁷.

Tablo 1. Klorzoksazon içeren ticari ilaçların bazılarının listesi.

Preparatın Adı	Ülkesi	İçindeki etken maddeler
Chlorzox	Tayland	Klorzoksazon
Biomioran	İtalya	Klorzoksazon
Chlorzox	Tayland	Klorzoksazon
Myoflexin	Macaristan	Klorzoksazon
Biomioran	İtalya	Klorzoksazon

Yapılmış olan bir araştırmada Klorzoksazon'un karaciğer hücrelerinde sitotoksik etki gösterdiği ortaya çıkmıştır. Klorzoksazon ile ilgili araştırmaları incelediğimizde bu ilacın yan etkileri ile ilgili yeterli bilgiler bulunmamaktadır ve yapılan çalışmalar ilacın kas gevşetici ve ağrı kesici etkisi ile ilgilidir^{8,9}.

Ağrı kesici ve kas gevşetici olarak kullanılan bazı ilaçlar antibakteriyel özelliğe sahip olduklarından dolayı insan vücudundaki mikrobiyal flora dengesini bozabilir. Örneğin Orphenadrine bu ilaçlardan biridir. Orphenadrine, insan deri florasından olan *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı antibakteriyel etki gösterdiği araştırmacılar tarafından saptanmıştır¹⁰. Gocmen ve ark. tarafından yapılmış olan bir

çalışmada Ketamin'in *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir¹¹. Görüldüğü gibi ağrı kesici olarak kullanılan bazı ilaçlar istenilen etki dışında bakteriyel flora dengesini bozabilirler.

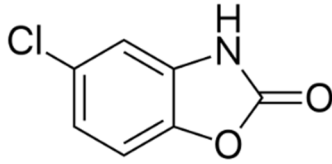
Klorzoksazon Türkiye'de ve tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır ama klorzoksazon'un antibakteriyel etkiye sahip olup olmadığıyla ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. *Pseudomonas aeruginosa*, deri, solunum sistemi ve kolondaki flora bakterilerinden biridir. Deri, boğaz, yumurtalık ve kolondaki flora bakterilerinden bazıları *bacillus sp.* türü bakterilerdir. Vücuttaki bakteriyel flora'nın dengesinin bozulması hayatı negatif yönde etkiler. Hastalıkların giderilmesi için kullanılan ilaçlar bu dengeyi bozabilir. Bu sebepten dolayı bu çalışmada Klorzoksazon'un antibakteriyel etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada test maddesi olarak kullanılan klorzoksazon'un antibakteriyel etkisi gram pozitif bakteri olarak *Bacillus subtilis* ve gram negatif bakteri olarak *Pseudomonas aeruginosa*'da araştırılmıştır. Yapılmış olan bu çalışmada Gurel firması tarafından üretilen paraflex (klorzoksazon) test maddesi olarak kullanılmıştır.

Klorzoksazon'un açık formülü (Şekil 1a) ve kimyasal özellikleri (Şekil 1b) aşağıda gösterilmiştir^{12,13}.

İlacın ticari adı	: Paraflex
Kullanım yolu	: Ağızdan
DSÖ (WHO) kodu	: M03BB03
Erime noktası	: 190-194°C
Yarılanma ömrü	: 1.1 saat
Metabolize edilme yeri	: karaciğer
Sistematik adı	: 5-chloro-3H-benzooxazol-2-one
Katalog Numarası	: 95-25-0
Kapalı Formülü	: C ₇ H ₄ ClNO ₂
Molekül ağırlığı	: 169.565 g/mol
Şekil 1a. Açık formülü	



Şekil 1b. Klorzoksazon'un kimyasal yapısı.

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için uygulanan disk difüzyon yönteminde Mueller Hinton Agar (Merck), Minimum inhibisyon konsantrasyonun (MİK), Minimum bakterisid konsantrasyon (MBK) testlerinde ise sıvı Mueller Hinton (Merck) besiyerleri kullanılmıştır.

Kullanılan suşların genel özellikleri

Bacillus subtilis'in genel özellikleri

Bacillus subtilis, gram (+) bakterisi olarak 1872'de Ferdinand Cohn ve Robert Koch tarafından bulunmuştur. *Bacillus subtilis* mezofilik bakteridir ve optimum sıcaklığı 25-37°C'dir. Proteolitik enzimi olan "subtilisin" *Bacillus subtilis* tarafından üretilmektedir. Subtilisin, düşük toksijenik özelliğe sahip olamamakla birlikte insanlarda alerji'ye de sebep olabilir¹⁴.

Pseudomonas aeruginosa'nın genel özellikleri

Hareketli ve gram negatif (-) bakteri olup ve birçok besiyeride üreme yeteneğine sahiptir. İnsanlarda ve en çok immün sistemi zayıf olan kişilerde farklı hastalıklara sebep olmaktadır. İdrar yolu enfeksiyonu, menenjit, panoftalmi, bronşit, bronkopnömoni, septisemi ve orta kulak enfeksiyonu hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olur¹⁵.

klorzoksazon'un antibakteriyel etkisini araştırmak için Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Bakterioloji Laboratuvarı'na ait mikroorganizma koleksiyonunda bulunan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* suşları kullanılmıştır.

0.5 McFarland bulanıklık standardının hazırlanması

Antibakteriyel etki çalışmalarında ilaç veya bir maddenin etkisini araştırdığımızda kültür edilen bakteri yoğunluğu (sayısı) çok önemlidir ve bakteri sayısı 0.5 McFarland kadar ayarlanmalıdır. 0.5 McFarland bulanıklık standardı Sülfürik Asit, (0,18 M), Baryum Klorür (0,048 M) ve saf su kullanarak

hazırlanmıştır. Süspansiyonun yoğunluğu spektrofotometre cihazında kontrolü sağlanmıştır (625 nm'de 0.08 - 0.13)¹⁶.

Minimum inhibisyon konsantrasyonun (MİK) saptanması

Bir mikroorganizmanın gelişmesini engelleyen en az konsantrasyon Minimum inhibisyon konsantrasyonun şeklinde gösterilir. MİK belirlenmesi 12.5–25600 µg/mL (0.0125–25.6 mg/mL) aralığındaki konsantrasyonlarda seyretme yöntemiyle denenmiştir. Yapılan bu çalışmada klorzoksazon farklı konsantrasyonlarda sıvı mueller hinton besiyerine (toplam hacim 4 mL) ilave edilmiştir. İki bakteri 0.5 McFarland yoğunluğunda hazırlanmıştır ve bakteri kültüründen 200 µL (farklı konsantrasyonda hazırlanmış klorzoksazon içeren besiyerlerine) şeklinde ekilmiştir. Daha sonra örnekler 37°C'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır ve inkübasyon süresi bittikten sonra üremenin olmadığı en az konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilmiştir¹⁷.

Minimum bakterisid konsantrasyon (MBK) Saptanması

MBK değeri bakteriyosidal etki gösteren en düşük konsantrasyonudur. Daha önceki çalışmada MİK değerini bulmak için yapılmış olan bakteri kültürlerinden (ürememiş bakteri kültüründen) süre bitiminden sonra 200 µL yayma tekniği ile Mueller Hinton Agar besiyerine ekilmiştir ve bir gece 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre bittikten sonra bakteri ürememiş (agar besiyerinde koloni oluşmamış olanlar) en az yoğunluk MBK olarak kaydedilmiştir¹⁷.

Disk difüzyon yöntemi

Disk difüzyon yöntemin esası, test edilen maddenin katı besiyerinde bakteri kültüründe olduğunda bakteri etrafında ortaya çıkan zon çapını (Disk etrafında zon oluşumu test maddesinin bakteri üremesini engellediğini gösterir ve zon her ne kadar büyük olursa test maddesinin o kadar etkili olduğunu ortaya koyar) ölçülmesi ile belirlenmektedir¹⁷. Yapılan bu araştırmada her bir bakteri için 3 farklı konsantrasyon (disk) kullanılmıştır ve 25, 50 ve 100 µg konsantrasyonları denenmiştir. Çalışmada yapılan ekim olarak yayma ekim yöntemi ve besiyeri olarak Muller Hinton Agar besiyerisi kullanılmıştır. İlk önce mikroorganizmalar 0.5 McFarland yoğunluğunda hazırlanmışlardır. Hazırlanan mikroorganizma süspansiyonundan 0.2 mL'si plastik petrilere

hazırlanmış agar besiyerine yayma metoduyla ekim yapılmıştır. Daha sonra diskler farklı konsantrasyonda (25, 50 ve 100 µg mL⁻¹) klorzoksazon emdirilmiştir ve katı besiyerisine konulmuştur. Yapılan bu çalışmada her petri'de bir adet muamele edilmemiş disk (negatif kontrol) ve her bir konsantrasyon için üç paralelli tekrar kullanılmıştır. Daha sonra petriler 24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır ve inkübasyon sonrasında disklerin etrafında oluşan zonlar değerlendirilmiştir ve milimetre cinsinden ölçümleri yapılmıştır¹⁸⁻²⁰.

BULGULAR

Minimum inhibe edici konsantrasyonun belirlenmesi çalışmadan elde edilen sonuçları incelediğimizde *Bacillus subtilis* bakterisine ait MİK değeri 0.400 mg mL⁻¹, ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine ait MİK değeri 0.800 mg mL⁻¹ olarak belirlenmiştir.

MİK testinde ürememiş bakteri kültürlerinden 200 µL alıp yayma metodu ile Muller hinton agar besiyerine ekilmiştir. Daha sonra bir gece 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre bitiminde ürememiş en az konsantrasyon MBK değeri olarak saptanmıştır. *Bacillus subtilis* bakterisine ait MBK değeri 1.920 mg mL⁻¹ ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine ait MBK değeri 2.560 mg mL⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada 25, 50 ve 100 µg konsantrasyonları 3 tekrar şeklinde denenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar klorzoksazon'un tüm konsantrasyonlarda antibakteriyel etki göstermediğini ve zon çapları tüm konsantrasyonlarda sıfır cm olduğunu ortaya koymuştur. Klorzoksazon'un etkisine ait sonuçlar Şekil 2 ve Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 2. *Bacillus subtilis* bakterisine ait disk difüzyon sonucu.



Şekil 3. *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine ait disk difüzyon sonucu.

TARTIŞMA

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar klorzoksazon'un tüm konsantrasyonlarda antibakteriyel etkisinin olmadığını ortaya koymuştur. Farklı kas gevşeticiler ile yapılan çalışmaları incelediğimizde bu ilaçların bazılarının bakteri üremesini inhibe ettiği ve bazılarının ise antibakteriyel özelliğe sahip olmadığını görmekteyiz.

Berghot ve Moawad'ın yaptıkları bir çalışmada Diazepam'ın antimikrobiyal etkiye sahip olup olmadığını *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'da çalışmışlardır. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar Diazepam'ın her iki bakteri suşunda da antibakteriyel etki gösterdiği ortaya çıkmıştır²¹. Abdul Hussein ve Janabi Ibuprofen ve Acetaminophen'in antibakteriyel etkisini *Staphylococcus aureus*, *Paracoccus yeei*, *Enterobacter aerogenes* ve *Enterobacter cloacae* bakterilerinde çalışmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda ibuprofen ve Acetaminophen'in *Staphylococcus aureus* ve *Paracoccus yeei*'ye karşı antibakteriyel etki gösterdikleri ama bu iki ilacın *Enterobacter aerogenes* ve *Enterobacter cloacae*'ye karşı etkisiz olduklarını açıklamışlardır²². Yapılan başka bir çalışmada Orphenadrine'nin antimikrobiyal etkisi 3 farklı bakteri suşunda araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar Orphenadrine'in *Staphylococcus aureus* 'da antibakteriyel etki gösterdiği ama *Pseudomonas aeruginosa* ve *E coli*'de etkisiz olduğunu saptamıştır¹⁰. Parr ve ark. Lidokain'nin antibakteriyel etkisini *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, ve *Staphylococcus aureus* suşlarında çalışmışlardır. Yapılan çalışmanın sonucunda araştırmacılar Lidokain'in antibakteriyel etki gösterdiğini ve bu etki konsantrasyona bağlı yükseldiğini göstermişlerdir²³. Gocmen ve ark.

Ketamin'in antibakteriyel etkisini *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* bakterilerde araştırmışlardır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar Ketamin'in *E.coli* haric tüm bakterilerde antibakteriyel etki gösterdiği ortaya çıkarmıştır¹¹. Wollner ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada kas gevşetici olarak kullanılan Botax'ın antibakterial etkisi *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ve *Bacillus subtilis* bakterilerinde araştırılmıştır. Yapılan bu araştırmanın sonucunda Botax'ın antibakterial etkiye sahip olmadığı açıklanmıştır²⁴. Başka bir çalışmada ise Suksametonyum Klorür ve Rokuronyum Bromür'ün antibakteriyel aktiviteye sahip olup olmadığı *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* ve *E. Coli*'de denenmiştir. Büyükköçak ve arkadaşlarının elde ettikleri sonuçlar Suksametonyum Klorür ve Rokuronyum Bromür'ün antimikrobiyel özelliğe sahip olmadığını ortaya koymuşlardır²⁵.

Yapılmış olan bu çalışmadaki Klorzoksazon ile ilgili fazla çalışma bulunmamaktadır. Görüldüğü gibi ağrı kesici ve kas gevşetici ilaçlardan bazıları insan floradaki yararlı bakterilerin azaltılmasına sebep olabilir. Bazı kas gevşetici ilaçların antibakteriyel özelliklerinin olduğundan dolayı bu ilaçları kullanırken vücuttaki ağrının azalmasıyla birlikte yararlı mikroorganizmaların da azalması gerçekleşir. Klorzoksazon ile ilgili böyle bir risk yoktur. Kas gevşetici ve ağrı kesici olarak kullanılan ilaçların etkileri bakımından aynı özellikleri taşıdığına vücudumuzdaki bakteriyel floranın dengesini bozmamak için doktorlar tarafından risk oluşturabilen ilaçlar yerine Klorzoksazon gibi antibakteriyel etkiye sahip olmayan ilaçların hastalara verilmesi önerilmektedir. Zira bu çalışmadan elde edilen sonuçlar Klorzoksazon'un antibakteriyel özelliğe sahip olmadığını saptamıştır.

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar Klorzoksazon'un antibakteriyel etki göstermediğinden dolayı bu ilacın insan vücudundaki bakteriyel flora'da değişikliğe yol açmadığını ve bu bakımdan güvenilir bir kas gevşetici olabildiğini ortaya koymuştur.

Yazar Katkıları: Çalışma konsepti/Tasarımı: MNT, MBY Veri toplama: MNT; Veri analizi ve yorumlama: MNT; Yazı taslağı: MNT, MBY; İçeriğin eleştirel incelenmesi: MBY; Son onay ve sorumluluk: MNT, MBY; Teknik ve malzeme desteği: MNT; Süpervizyon: MNT, MBY; Fon sağlama (mevcut ise): yok.

Bilgilendirilmiş Onam: -

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Author Contributions: Concept/Design: MNT, MBY; Data acquisition: MNT; Data analysis and interpretation: MNT; Drafting manuscript: MNT, MBY; Critical revision of manuscript: MBY; Final approval and accountability: MNT, MBY; Technical or material support: MNT; Supervision: MNT, MBY; Securing funding (if available): n/a.

Informed Consent: Non-applicable.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support

KAYNAKLAR

1. Sirt kas spazmı. <http://www.spazm.gen.tr/sirt-kas-spazmi.html>. (Erişim tarihi: 15 Aralık, 2009).
2. Bel spazmı. <http://www.spazm.gen.tr/bel-tutulmasi-kas-spazmi.html>. (Erişim tarihi: 15 Aralık, 2009).
3. Hamilton R. Tarascon Pocket Pharmacopoeia. 16th Edition. Frankfurt, Germany, 2015.
4. Marsh DF. Patent U. 1959;2:895-877.
5. Park J, Kim K, Park P, Ha J. Effect of high-dose aspirin on CYP2E1 activity in healthy subjects measured using chlorzoxazone as a probe. *J Clin Pharmacol.* 2006;46:109-14.
6. Wan J, Ernstgard L, Song B, Shoaf S. Chlorzoxazone metabolism is increased in fasted Sprague-Dawley rats. *J Pharm Pharmacol.* 2006;58:51-61.
7. Aybaba, C. Asemetasin ve klorzoksazon' un farmasötik preparatlarda aynı anda miktar tayinleri. (Yüksek lisans tezi). Ankara, Ankara Üniversitesi, 2010.
8. Roberge RJ, Atchley B, Ryan K, Krenzelok EP. Two chlorzoxazone (Parafon forte) overdoses and coma in one patient: reversal with flumazenil. *Am J Emerg Med.* 1998;16:393-5.
9. Feil K, Claaben J, Bardins S, Teufel J, Krafczyk S, et al. Effect of chlorzoxazone in patients with downbeat nystagmus: a pilot trial. *Neurology.* 2013;24;81:1152-8.
10. Delitheos A, Kefalas S, Kokkinou T, Varonos D. Antibacterial properties of several drug categories. *Experientia.* 1982;38:1346-48.
11. Gocmen S, Buyukkocak U, Caglayan O. In vitro investigation of the antibacterial effect of ketamine. *Ups J Med Sci.* 2008;113:9-21.
12. Clarke EGC, Moffat AC. *Clarks Isolation and Identification of Drugs.* London, Pharmaceutical Press, 1986.
13. Sweetman SC. *Martindale: The Complete Drug Reference, 34th Edition.* London, Pharmaceutical Press, 2005.
14. Fritze D, Pukall R. Reclassification of bioindicator strains *Bacillus subtilis* DSM 675 and *Bacillus subtilis* DSM 2277 as *Bacillus atrophaeus*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001;51:35-37.
15. Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı.* İstanbul, Barış Yayınları, 1992.
16. Chapin KC, Lauderdale TL. *Reagents, stains, and media: bacteriology. Manual of Clinical Microbiology.* Washington, ASM Press, 2007.

17. Janssen AM, Scheffer, JJC, Baerheim Svendsen A. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976– 1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta Medica*. 1987;53:396–8.
18. Dorantes L, Colmenero R, Hernandez H, Mota L, Jaramillo ME, Fernandez E et al. Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extracts. *Int J Food Microbiol*. 2000;57:125-8.
19. Novak J, Zitterl-Eglseer K, Dean, SG, Franz CM. Essential oils of different cultivars of *Cannabissativa* L. and their antimicrobial activity. *Flavour Fragr J*. 2001;16:259-62.
20. Yıldırım A, Mavi A, Karat AA. Antioxidant and antimicrobial activities of *Polygonum cognatum* Meissn extracts. *J Sci Food Agric*. 2003;83:64-9.
21. Berghot MA, Moawad EB. Convergent synthesis and antibacterial activity of pyrazole and pyrazoline derivatives of diazepam. *Eur J Pharm Sci*. 2003;20:173-9.
22. Al-Janabi AA. In vitro antibacterial activity of Ibuprofen and acetaminophen. *J Glob Infect Dis*. 2010;2:105-8.
23. Parr AM, Zoutman DE, Davidson JS. Antimicrobial activity of lidocaine against bacteria associated with nosocomial wound infection. *Ann Plast Surg*. 1999;43:239-45.
24. Wollner J, Schmidig K, Gregorini F, Kessler TM, Zbinden R, Mehnert U. Is there a direct antimicrobial effect of botulinum neurotoxin type A. *BJU Int*. 2012;110:90.
25. Büyükköçak Ü, Koç F, Göçmen Js, Çağlayan O, Aykaç E. Investigation of in vitro antibacterial activity of suxamethonium chloride and rocuronium bromide. *KÜ Tıp Fak Derg*. 2010;13(1).