

Volume 1 Issue 1 | May 2025



IYYU JOURNAL OF PHYTOPHARMACY

e-ISSN 3108-3587

jpp.yeniyuzyil.edu.tr



Istanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Adına Sahibi
Prof. Dr. İ. Yaşar HACISALİHOĞLU

Yönetim Yeri / Place of Management

Maltepe Mahallesi, Yılanlı Ayazma Caddesi,
No: 26 P.K. 34010
Cevizlibağ / Zeytinburnu / İstanbul

Editör / Editor

Doç. Dr. Hüseyin SERVİ

İYYÜ Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Ana Bilim Dalı
/ Istanbul Yeni Yüzyıl University Faculty Of Pharmacy
Department of Pharmacognosy

Sorumlu Yazı İşleri Müdürü / Responsible Editor

Prof. Dr. Engin ÖZHATAY

İYYÜ Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Ana Bilim Dalı
Öğretim Üyesi / Istanbul Yeni Yüzyıl University Faculty
of Pharmacy

Editör Yardımcıları / Co-Editor

Dr. Öğr. Üyesi Elif ŞAHİN

İYYÜ Eczacılık Fakültesi / Istanbul Yeni Yüzyıl University
Faculty of Pharmacy

Dr. Öğr. Üyesi Simge KARAERTEKİN

İYYÜ Eczacılık Fakültesi / Istanbul Yeni Yüzyıl University
Faculty of Pharmacy

Yayın Koordinatörleri / Editorial Coordinators

Dr. Öğr. Üyesi Bekir Ufuk HALLI

İYYÜ Eczacılık Fakültesi / Istanbul Yeni Yüzyıl Univer-
sity Faculty of Pharmacy

Dr. Öğr. Üyesi Fatma GENÇ

İYYÜ Eczacılık Fakültesi / Istanbul Yeni Yüzyıl University
Faculty of Pharmacy

Dil Editörleri / Language Editors

Dr. Öğr. Üyesi Yaman GÖKÇEK

İYYÜ Eczacılık Fakültesi / Istanbul Yeni Yüzyıl University
Faculty of Pharmacy

Dr. Öğr. Üyesi Hande ERENŞOY

İYYÜ Eczacılık Fakültesi / Istanbul Yeni Yüzyıl University
Faculty of Pharmacy

**YAYIN KURULU /
EDITORIAL BOARD**

Prof. Dr. Gül BAKTİR

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Eczacılık
Fakültesi, Farmakoloji ABD

Prof. Dr. Emir TAN

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Eczacılık
Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD

Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU

Bezmialem Üniversitesi, Eczacılık
Fakültesi, Farmakognozi ABD

Prof. Dr. Nur TAN

İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmakognozi ABD

Prof. Dr. Leyla BİTİŞ

Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmakognozi ABD

Prof. Dr. Cemil İŞLEK

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen
Fakültesi, Biyoteknoloji ABD

Prof. Dr. Elif Sinem BİRELLER

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar
Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Biyokimya ABD

Doç. Dr. Timur Hakan BARAK

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar
Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmakognozi ABD

Doç. Dr. Ali ŞEN

Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmakognozi ABD

Doç. Dr. Selma YAZAR ÜREK

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Eczacılık
Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji ABD

Dr. Öğr. Üyesi Hilal KUDAY

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Eczacılık
Fakültesi, Farmasötik Kimya ABD

Dr. Öğr. Üyesi Sinem KOÇER

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Eczacılık
Fakültesi, Farmasötik Teknoloji ABD

e-ISSN 3108-3587

YAYIN TÜRÜ

3 Aylık Ulusal Süreli Yayın

GRAFİK TASARIM

Tuna Yıldırım
Clinart Stratejik Araştırmalar Sağlık
Danışmanlık, Organizasyon Yayınçılık
Ltd. Şti., İstanbul TÜRKİYE
+90 212 291 54 83

İletişim / Contact Us

<http://jpp.yeniuyuzvil.edu.tr> jpp@yeniuyuzvil.edu.tr

EDİTÖRDEN / EDITORIAL

V

Editörden / Editorial
Hüseyin Servi

DERLEME / REVIEW

1

Sihirden Tedaviye Mantarlar
Mushrooms from magic to cure
Gül Baktır

ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

9

Antarktik Mikroalg Ekstrelerinin Antioksidan Potansiyeli, Fenolik İçeriği ve Antimikrobiyal Etkileri
Antioxidant Potential, Phenolic Content, and Antimicrobial Effects of Antarctic Microalgal Extracts
Anıl Tevfik Koçer, Benan İnan, Meyrem Ertürk, Gülcan Ayşın Karaca, Beyza Karacaoğlu, Didem Balkanlı

21

The Determination of Antibacterial Activities of Herbal-Infused Syrups Recommended for Use as Food Supplements
Gıda Takviyesi Olarak Kullanımı Tavsiye Edilen Bitkisel İçerikli Şurupların Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi
Cansu Vatansever, İpek Ada Alver

28

Antibacterial activity of *Phlomis fruticosa* L. plant extracts
Phlomis fruticosa L. bitki ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesi
Betül Budak, Esra Yıldırım Servi

33

In vitro inhibitory effects of methanol extracts of four *Centaurea* species on α -amylase and α -glucosidase
Dört *Centaurea* türünün metanol ekstrelerinin α -amilaz ve α -glukozidaz üzerindeki *in vitro* inhibitör etkileri
Ali Şen



Prof. Dr. Nezhun GÖREN
(1945 - 20.05.2024)

Prof. Dr. Nezhun GÖREN'in ebediyete irtihalinin 1. yılı anısına...

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi bünyesinde yayın hayatını sürdürecektir olan "IYYU Journal of PhytoPharmacy" isimli dergimizin ilk sayısı, 20 Nisan 2024 tarihinde aniden aramızdan ayrılan değerli hocamız Prof. Dr. Nezhun GÖREN anısına ithafen hazırlanmıştır. Evrensel bilime katkıları ve bizlere öğrettiği değerlerle daima kalplerimizde yaşayacaktır.

The first issue of our journal named "IYYU Journal of PhytoPharmacy", which will continue its publication life within the body of Istanbul Yeni Yüzyıl University Faculty of Pharmacy, has been prepared in memory of our valuable teacher, Prof. Nezhun GÖREN, who passed away suddenly on April 20, 2024. She will always live in our hearts with her contributions to universal science and the values she taught us.

IYYU Journal of PhytoPharmacy



Doç. Dr. Hüseyin Servi

IYYU Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Ana Bilim Dalı

Istanbul Yeni Yüzyıl University Faculty of Pharmacy
Department of Pharmacognosy

Değerli Okurlarımız,

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi bünyesinde yayın hayatını sürdürecektir olan "IYYU Journal of PhytoPharmacy" isimli dergimizin ilk sayısını siz değerli okuyuculara paylaşmaktan kıvanç duyuyoruz.

IYYU Journal of PhytoPharmacy dergisi multidisipliner bir dergi olup araştırma alanını eczacılık bilimleri ve ağırlıklı olarak Etnobotanik, Fitokimya, Etnofarmakoloji, Biyoteknoloji, Toksikoloji, Aromaterapi, Fitoterapi, Biyokimya, Bitki Doku Kültürü, Analitik çalışmalar, Biyolojik ve Farmakolojik aktiviteler oluşturmaktadır. Dergi ilgili alanlarda özgün araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme ve editöre mektup türünde yayınların kabul edileceği makalelere yer verecektir.

Dergimizin ilk sayısında farklı disiplinlerde hazırlanmış 1 derleme ve 4 araştırma makalesi yer almaktadır. Yayınlarını paylaşan yazarlarımıza dergimize katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Ulusal ve uluslararası indekslerde yer almayı hedefleyen dergimize yayınlarınızı bekler, desteğiniz için şimdiden teşekkür ederiz.

Dear Readers,

We are proud to share with you, our valued readers, the first issue of our journal named "IYYU Journal of PhytoPharmacy", which will continue its publication life within the Istanbul Yeni Yüzyıl University Faculty of Pharmacy.

IYYU Journal of PhytoPharmacy is a multidisciplinary journal, and its research area is pharmaceutical sciences and mainly Ethnobotany, Phytochemistry, Ethnopharmacology, Biotechnology, Toxicology, Aromatherapy, Phytotherapy, Biochemistry, Plant Tissue Culture, Analytical studies, Biological and Pharmacological activities. The journal will include original research articles, case reports, reviews and letters to the editor in related fields.

The first issue of our journal includes 1 review and 4 research articles prepared in different disciplines. We would like to thank our authors who shared their publications for their contributions to our journal.

We look forward to your publications in our journal, which aims to be included in national and international indexes, and thank you in advance for your support.

"Sihir" den "Tedavi" ye Mantarlar

Mushrooms from "Magic" to "Cure"

Özet

Psikedelikler algı, biliş ve ruh halinde değişikliklere yol açabilen, halüsinojenik etki-leri bulunan serotonin 5-HT_{2A} reseptör agonistleridir. Bu derleme makalede, LSD, dimetiltriptamin, meskalin gibi "klasik psikedelikler" sınıfına dahil olan psilosibin ve psilosin' in kimyasal ve farmakolojik özellikleri ile tedavide kullanım potansiyelleri incelenmektedir. Psikedeliklerin tedavide kullanımlarına ilişkin çalışmalar ilaç endüstrisi tarafından uzun bir süre ihmal edilmişse de, yakın tarihli klinik araştırmalar özellikle psilosibin destekli psikoterapinin depresyon, kansere bağlı anksiyete, tedaviye dirençli depresyon gibi endikasyonlarda etkili olabileceğini göstermiştir. Psilosibin destekli tedavilerin umut vaat etmesi üzerine, FDA psilosibin'e tedaviye dirençli depresyon için "Çığır Açan Tedavi" statüsü onayı vererek, mevcut tedavi seçeneklerine göre avantaj gösterebileceğini kabul etmiştir. Yeni ilaç keşfine ilişkin araştırma-geliştirme programlarının temel koşulları olan fon sağlama ve sağlık otoritelerince belirlenen yasal düzenlemelere uyma zorunluluğu nedeniyle bu araştırmalardan sağlanabilecek terapötik faydanın hastalara ulaşabilmesi, hükümetlerin, ilaç şirketlerinin ve kâr amacı gütmeyen kuruluşların birlikte çalışmalarını gerekli kılmaktadır. Psilosibin ile çok çeşitli psikiyatrik endikasyonlarda çok sayıda klinik araştırma halen devam etmekte olup FDA nezdinde "yeni ilaç ruhsat başvurusu" yapılması durumunda mevcut yasal sınıflandırmasında da değişikliğe gidilmesi söz konusu olacaktır.

Anahtar kelimeler: Psikedelikler, sihirli mantarlar, *Psilocybe*, psilosibin, psilosin, terapötik potansiyel

Abstract

Psychedelics are serotonin 5-HT_{2A} receptor agonists with hallucinogenic effects that can cause changes in perception, cognition and mood. In this review article, the chemical and pharmacological properties of psilocybin and psilocin, which are classical psychedelics such as LSD, dimethyltryptamine and mescaline, and their potential for use in therapy are examined. Although studies on the therapeutic use of psychedelics have long been neglected by the pharmaceutical industry, recent clinical studies have shown that psilocybin-assisted psychotherapy, in particular, may be effective in indications such as depression, cancer-related anxiety, and treatment-resistant depression. Given the promise of psilocybin-assisted treatments, the FDA has granted psilocybin "Breakthrough Treatment" status for treatment-resistant depression, recognizing that it may have advantages over current treatment options. Due to the necessity of obtaining funding and complying with legal regulations determined by health authorities, which are basic conditions for research and development programs related to new drug discovery, it is necessary for governments, pharmaceutical companies and non-profit organizations to work together to ensure that the therapeutic benefits that can be obtained from these studies reach patients. Numerous clinical trials are ongoing with psilocybin in a wide variety of psychiatric indications, and in case of a "new drug application" to the FDA, changes to its current legal classification will be necessary.

Keywords: Psychedelics, magic mushrooms, *Psilocybe*, psilocybin, psilocin, therapeutic potential

2025, 1(1) 1-8

Gül BAKTİR*

GB: 0000-0002-8471-4777

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Received/Geliş Tarihi:

02.05.2025

Accepted/Kabul Tarihi:

23.05.2025

Çıkar Çatışması

Çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author:

Gül BAKTİR

E-posta: gul.baktir@yeniuyuzil.edu.tr

This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License

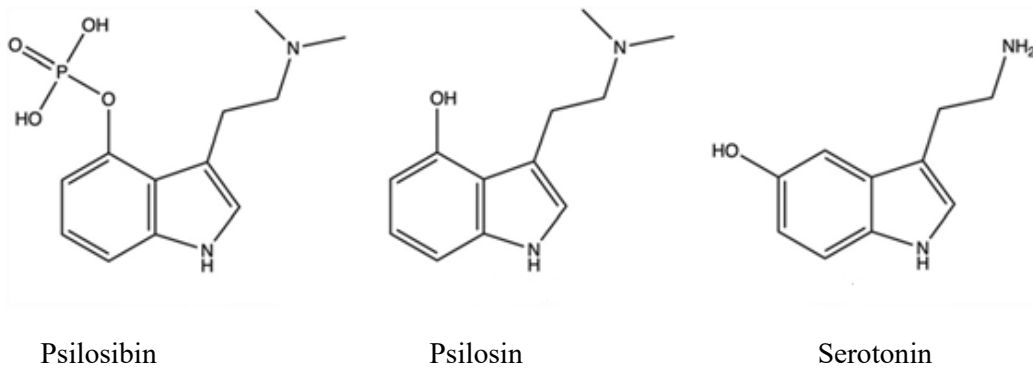


1. Giriş

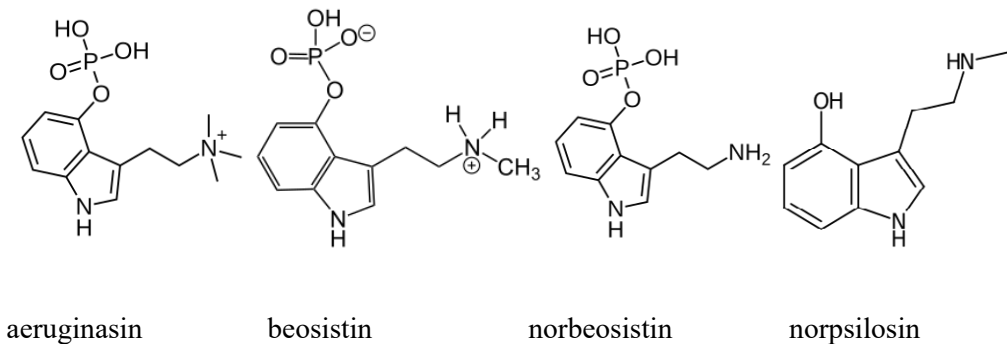
Mantarların da dahil olduğu bazı bitkilerin psikodelik etkileri binlerce yıldan beri bilinmekte ve pek çok tür, bu etkileri deneyimlemek isteyenler tarafından kullanılmaktadır. "Psikodelik" tanımı, liserjik asit dietilamid (LSD) üzerinde araştırmalar yapan psikiyatrist Humphry Osmond tarafından ilk olarak 1956'da ortaya atılmıştır. Kelime Yunan'ca "psyche" (ruh, zihin) ve "delos" (belirtmek, açığa çıkartmak)' dan kaynaklanmakta, anlam olarak "zihin tezahürü" kastedilmektedir. Halüsinojenik madde sınıfına giren psikodeliklerin başlıca etkisi, olağandışı/gerçek dışı bilinç durumlarını tetiklemektir. "Sihirli mantar"ların içerdiği psilosibin' in yanı sıra liserjik asit dietilamid (LSD), N,N-dimetiltriptamin (DMT), 5-metoksi-N,N-dimetiltriptamin (5-MeO-DMT) ve meskalin gibi doğal veya sentetik maddeler, doza bağlı olarak bilinç durumunun ve gerçeklik duygusunun değişmesine sebep olan klasik psikodelikler arasında sayılır [1,2].

Doğada bulunan bitkisel psikodeliklerin başlıca kaynağı olan mantarların, halüsinasyon oluşturmaları (gerçekte var olmayan görüntü, ses, koku, tat veya dokunmaya ilişkin duyularının gerçekmiş gibi algılanması), hayal ile gerçeği ayırt edememe şeklinde kendini gösteren "sihirli" etkileri nedeniyle binlerce yıldan beri özellikle Orta ve Güney Amerika' da yerliler tarafından şamanik/dini tören ve ritüeller sırasında veya şifa törenlerinde kullanılageldikleri bilinmektedir. Bilinen en eski kayıtlar, Meksika ve Aztekler'e ilişkin etnografik araştırmaları içeren ve Floransa' da Biblioteca Medicea Laurenziana'da korunan 16. yy'a ait el yazması Floransa Kodeksi' nde bulunmaktadır [3].

Sihirli mantarlar (İng., *magic mushrooms* veya *shrooms*), psilosibin içeren ve halüsinasyon oluşturan bütün psikoaktif mantarlara verilen ortak addır. Psilosibin içeren mantarlara ek olarak, ibotenik asit ve müsimol içeren *Amanita* cinsinden bazı mantar



Şekil 1 Psilosibin, psilosin ve serotonin'in kimyasal yapıları



Şekil 2 Aeruginasin, beosistin, norbeosistin ve norpsilosin'in kimyasal yapıları

türleri (*Amanita muscaria* ve *Amanita pantherina*) ile çavdar mahmuzu olarak da bilinen ve ergotamin içeren *Claviceps purpurea* da halüsinasyon yapıcı etkilere sahiptir [4,5].

ABD, Güneydoğu Asya, Avrupa, Meksika ve Orta Amerika' da yetişen birçok mantar türü psilosibin içermekte olup, *Psilocybe* cinsinin en yaygın türü *Psilocybe cubensis*'dir. *P. azurescens*, *P. semilanceata* ve *P. cyanescens* en etkili *Psilocybe* türleridir, ancak *Gymnopilus* (14 tür), *Panaeolus* (13 tür), *Copelandia* (12 tür), *Inocybe* (6 tür), *Pluteus* (6 tür), *Pholiotina* (4 tür) ve *Galerina* (1 tür) dahil olmak üzere başka mantar cinsleri de psilosibin içerir [6].

Sihirli mantarda bulunan indol alkaloidi psilosibin, serotonin gibi triptamin türevidir (kimyasal adı 4-fosforiloksi-N,N-dimetiltriptamin), vücutta psilosin'e (4-hidroksi-N,N-dimetiltriptamin) dönüştükten sonra etki gösterir (Şekil 1). Halüsinojen etkiyi ortaya çıkartan ana farmakolojik aktif madde psilosibin değil psilosindir [4]; diğer bir deyişle psilosibin bir "ön ilaç" (prodrug) veya "prekürsör" dür. Sihirli mantar kullananlarda psilosibin, başlıca karaciğerde ve gastrointestinal sistemde hızla defosforillenerek psilosine (4-hidroksi-N,N-dimetiltriptamin) dönüştürülür [3-5].

Sihirli mantarlardaki psilosibin oranı %0,1 ila %2 arasında değişir [4]. Halüsinasyon meydana getiren doz 10 mg psilosibin olup bu miktar 1 g taze *Psilocybe cubensis* mantarında bulunur. Psilosin' in yarı ömrü 1,8-4,5 saat, dağılım hacmi 2,5-5,0 L/kg ve oral biyoyararlanımı ~%53'tür [4].

Sihirli mantarlarda psilosibin ve psilosin'in yanı sıra, diğer triptamin türevleri norpsilosin (4-hidroksi-N-metiltriptamin; 4-HO-NMT), 4-hidroksitriptamin (N,N-didesmetilpsilosin), beosistin (norpsilosibin veya 4-fosforiloksi-N-metiltriptamin; 4-PO-NMT), norbeosistin (4-fosforiloksi-triptamin; 4-PO-T) ve aeruginasin (4-fosforiloksi-N,N,N-trimetiltriptamin; 4-PO-TMT) de bulunabilir (Şekil 2).

2. Sihirli Mantarların Etkileri

İsviçre' deki Sandoz Laboratuvarları'nda çalışan Albert Hofmann, 1957 yılında kurutulmuş *Psilocybe mexicana*'nın biyolojik aktivitesini belirlemek amacıyla mantar ekstresinin çeşitli bileşenlerini kâğıt kromatografisi ile ayırarak her bir fraksiyonu kendi üzerinde denemiş, aktif olduğu belirlenen fraksiyonun kimyasal karakterizasyonu yapılmış ve madde psilosibin olarak adlandırılmıştır. Hofmann ve arkadaşları 1958'de psilosibin ile mantarda çok az miktarda bulunan ve psilosibin'in de-

fosforile formu psilosin'in yapısını ve sentez yöntemini açıklamışlardır [7]. 1960'larda Sandoz Pharmaceuticals (Basel, İsviçre) 2 mg psilosin içeren Indocybin™'i psikoterapötik ilaç olarak pazarlamış, ilaç bir süre psikoterapiye destek olarak güvenli bir şekilde kullanılmış, ancak ABD ve diğer ülkelerdeki toplumsal tepkiler sonucunda "halüsinojenik" ilaçların pazarlanması ve bulundurulması 1965 yılında ABD'de yasaklandığından Sandoz 1966 yılında da ilacın üretimini ve pazarlamasını durdurmak zorunda kalmıştır. Bu yıllarda psilosibin ile deneysel bazı tedaviler yürütülmüş, bilim insanları psilosibin ve LSD gibi bazı klasik psikedeliklerin mental hastalıkları tedavi etme/psikoterapi desteği sağlama potansiyellerini ortaya koymak için depresyon, anksiyete, obsesif kompulsif bozukluk, posttravmatik stres bozukluğu, ağrı, nörodejeneratif bozukluk ve madde kullanım bozukluğu olan hastalarda klinik çalışmalar yapmışlardır. Ciddi hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkabilen anksiyete ile terminal kanser hastalarının deneyimledikleri "yaşamın son bulması"na dair korku, kaygı ve depresyonu psikedelik maddelerin azaltabileceği, yaşam kalitesini artırabileceği ve hastalığa bağlı ciddi sorunları kabullenmelerini destekleyebileceği çeşitli araştırmalarda öne sürülmüştür.

Psilosibin'in çok çeşitli etkileri olmakla birlikte kullanıcının "kişilik özellikleri" ve deneyim beklentileri ile mantarı aldığı sırada birlikte olduğu kişiler ve ortam, mantara nasıl tepki verdiğini etkilemektedir. Kuşkusuz kullanılan mantar miktarı (alınan doz), etki gücü, kişinin yaşı, cinsiyeti, psişik ve fizyolojik özellikleri ile madde kullanım geçmişi de çok önemlidir. Mantarı kullanan bazı kişiler, halüsinojenik etkinin ortaya çıkışı sırasında aşırı korku, kaygı, panik veya paranoya yaşayabilirler. Bu durum "bad trip" olarak bilinir.

Sihirli mantarlara bağlı başlıca etkiler arasında gerçeklik algısında değişme (gerçekte olmayan renklerin, şekillerin veya sahnelerin görülmesi, seslerin duyulması, zaman ve mekân algılarının kaybı), öforik ruh hali, farklı bir benlik duygusu ile evrenle bütünleşme algısı bulunmaktadır.

Diğer taraftan, birden fazla bileşik içeren sihirli mantarların kullanılmasının, saf psilosibin gibi tek bir izole bileşiğin uygulanmasından muhtemelen farklı bir etki üreteceği belirtilmektedir [8]. Bu durum ayrıca mantarın bileşiminde bulunan bileşiklerin sinerjistik etki gösterebileceğini de düşündürmektedir.

3. Sihirli Mantarların Etki Mekanizmaları:

Kimyasal yapı olarak serotonin' e (5-hidroksitriptamin) çok benzeyen psilosin (4-hidroksi-N,N-dimetiltriptamin), başlıca serotonin 5-HT_{2A}, ayrıca 5-HT_{1A} ve



5-HT_{2C} reseptörlerinin agonistidir. Halüsinasyon yapıcı etki özellikle 5-HT_{2A} reseptörlerini uyarmasıyla ortaya çıkar. Serotonin 5-HT_{2A} reseptörleri, psikoz ve psikotik semptomların ortaya çıkmasında rol oynayan serebral korteks (prefrontal korteks), striatum, ventral tegmental alan ve talamus gibi beyin bölgelerinde dağılım göstermektedir. LSD, dimetiltriptamin (DMT) ve meskalin gibi psikedelikler de serotonin 5-HT_{2A} reseptörlerinin agonistidir [1,3-5].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, psilosin'in hücresel etki mekanizmasında nöronal olmayan beyin hücrelerinin, özellikle mikrogliaların önemi de vurgulanmıştır [9,10].

Psilosibin'in nöropsikofarmakolojik etki mekanizması henüz kesin olarak kanıtlanmamış olsa da, serotoninergic sinir sistemiyle girdiği etkileşime ek olarak, beynin ödül sisteminde önemli bir rol oynayan mezo- limbik dopaminerjik sinir yollarıyla da indirekt olarak etkileştiği, dopamin serbestlenmesinde artışa yol açtığı vurgulanmaktadır [10,11]. Öne sürülen bu dolaylı etki mekanizması nedeniyle, psilosibin'e nisbeten düşük bağımlılık/suistimal potansiyeli atfedilmektedir. Aynı bağlamda, depresyon ve mezo- limbik dopamin eksikliği arasında pozitif bir korelasyon olduğu da öne sürülmüştür. Psilosibin'in antidepresan etkisinin, muhtemelen mediyal prefrontal kortekste (mPFC) hiperaktivitenin azaltılması veya normalizasyonu yoluyla gerçekleştiğine dair kanıtlar da bulunmaktadır. [12-15].

Bugüne dek, psilosibin'in tedavide kullanımını araştıran hiçbir çalışmada, başarılı ve başarısız tedavileri birbirinden ayırabilen herhangi bir biyolojik etki mekanizması tanımlanamamıştır. Bu konuda en umut verici araştırmalar, psilosibin uygulamasının beyin temel bağlantı merkezlerindeki aktivite ve bağlantıyı azaltarak, "kısıtlanmamış bir biliş durumu" oluşturduğunu öngören dinlenme durumu fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme analizleridir [15].

Sihirli mantarlarda psilosibin ve psilosin'in yanı sıra bulunabilen norpsilosin, 4- hidroksitriptamin, beosistin, norbeosistin ve aeruginasin' in de etki mekanizmaları araştırılmaktadır. Sırasıyla beosistin ve norbeosistin' in aktif formları olan norpsilosin ve 4- hidroksitriptamin' in 5-HT_{2A} reseptörlerini psilosin ve norpsilosin'e benzer bir etkinlikle aktive ettikleri saptanmıştır. Hayvan modellerinde aeruginasin ve beosistin'in halüsinojenik aktivitesi bulunamamıştır. Aeruginasin' in deforsforile aktif metaboliti 4-HO-TMT ise psilosin'e benzer şekilde serotonin 5-HT_{2A} reseptörlerine güçlü bir şekilde bağlanır.

Norbeosistin' in antidepresan olarak psilosibin kadar etkili olabileceği, hayvan deneylerinde halüsinojenik etkisi saptanmadığından, "non-halüsinojen antidepresan" olarak psilosibin'in terapötik alternatifi olabileceği ileri sürülmektedir [16].

4. Klinik Araştırmalar

Psikedelikler 1950 ve 1960'lı yıllarda kapsamlı bir şekilde incelenmiş, binlerce hasta psikedelikleri reçeteli olarak veya klinik araştırmalar kapsamında kullanmıştır. 1970'te ABD'de Kontrollü Madde Yasası'nın (1970 US Controlled Substances Act) kabul edilmesiyle serotoninergic psikedeliklerin tamamı ABD Uyuşturucuyla Mücadele Dairesi'nce "Sınıf I Psikotik Madde" grubuna dahil edildiğinden, insanlar üzerinde yürütülen psilosibin araştırmaları azalmış, ancak N,N-dimetiltriptamin (DMT) ile çalışan Strassman' ın bulgu ve önerileriyle 1990'ların başında "Psikedelik Rönesans" tanımlanmasıyla yeniden başlamış, araştırmalar New Mexico, Johns Hopkins, Arizona, California, Los Angeles ve New York Üniversite'lerinde yoğunlaşmıştır [16-18].

"Psikedelik Rönesans"ı takip eden yıllar içerisinde psikedelik maddelere ilişkin klinik çalışmalar giderek artmış, psilosibin destekli psikoterapinin umut vadedtiğine dair ilk kanıtlar ortaya çıkmış, örn. kansere bağlı olarak gelişen kaygı ve depresyonu azalttığı, alkol ve nikotin bağımlılığı tedavisinde yararlı olduğu gösterilmiştir [1-3,11-14,19]. Grup psikoterapisinin psikedelik maddelerle kombine edilmesiyle uyumsuz davranışların düzeltilebileceği, toplumla barışık davranışların geliştirilebileceği de bildirilmiştir.

Alkol kullanım bozukluğu [19], obsesif-kompulsif bozukluk [20], nikotin bağımlılığı [21], kanser gibi yaşamı tehdit eden hastalıklarda anksiyete ve depresyon' un yanı sıra majör depresyon bozukluğunda [22-26] psikedelik maddelerle yürütülen klinik çalışmaların çoğunda, ayrıca çeşitli sistematik inceleme ve meta-analizlerde etkileyici sonuçlar bildirilmiş olsa da [27-29], bu maddelerin "sübjektif" etkileri nedeniyle randomize klinik çalışmaların değerlendirilmesinde önyargıların (*bias*) bulunabileceğine ilişkin endişeler vardır. Hastanın maddeden/tedaviden beklentisi, araştırmacı ile kurduğu bağ gibi faktörler de buna katkıda bulunmaktadır. Çalışmalarda "körleme", "randomizasyon", "paralel-grup tasarımı" ve "aktif plasebo" gibi yöntemlerin uygulanmasıyla bu önyargıların asgari düzeye indirilebileceği öne sürülmektedir.

FDA 2018'de tedaviye dirençli depresyon için psilosibin'e, travma sonrası stres bozukluğu (PTSD) için

3,4-metilendioksimetamfetamin'e (MDMA; Ecstasy), 2019 yılında majör depresif bozukluk için psilosibin'e "çığır açan tedavi (breakthrough treatment)" statüsü onayını vermiştir. Çığır açan tedavi statüsü, ciddi bir hastalığı veya durumu tedavi etmeyi amaçlayan ilaçların geliştirilmesini ve incelenmesini hızlandırmak için tasarlanmış bir süreç olup, klinik olarak mevcut tedaviye kıyasla önemli bir gelişme sağlayabileceği FDA tarafından onaylanan ilaçlar için söz konusudur. Diğer bir deyişle, mevcut tedavi seçenekleriyle karşılaştırılan ilacın ön klinik çalışmalarda tedavi açısından önemli avantajlar sunabileceğini ortaya koyduğu anlamına gelir. Compass Pathways Ltd. ve Usona Enstitüsü tarafından geliştirilmekte olan psilosibin tedavileri, faz 3 klinik araştırma safhasındadır. Ayrıca anoreksiya nervoza, bipolar depresyon, majör depresif bozukluk, travma sonrası stres bozuklukları ile somatoform bozukluklar için psilosibin'e ilişkin faz 2 klinik araştırmaları Compass Pathways Ltd. tarafından yürütülmektedir [30-32].

2025 yılı itibarıyla ABD' de psilosibin ile ilgili kayıtlı klinik çalışma sayısı 249'dur [33]. Bu çalışmaların büyük bir kısmı depresyon, anksiyete, alkol ve madde kullanım bozukluğu ile ilgili olup, otizm, migren, ALS (Amiyotrofik Lateral Skleroz) kendine zarar verme, psikojenik non-epileptik nöbetler, Parkinson hastalığı, tükenmişlik sendromu, travma sonrası stres bozukluğu, obsesif-kompulsif bozukluk, ağrı, fibromiyalji, borderline kişilik bozukluğu, bipolar II depresyon, dikkat eksikliği sendromu, anoreksiya nervoza, iritabl barsak sendromu da araştırılan endikasyonlar arasındadır.

Halüsinojenik etkileri bulunan esketamin' in (ketaminin S(+)) enantiyomeri; Spravato® burun spreyi, *Johnson&Johnson*) tedaviye dirençli depresyon için FDA tarafından 2019 yılında pazarlama ruhsat onayı almış olması da psikedelik ajanlara/psilosibin destekli tedavilere ilişkin yeni yaklaşımların sürdürülmesini desteklemektedir [34].

Psilosibin'in yukarıda bahsedilen endikasyonlardaki etkinliğini ve güvenliğini belirlemek için daha fazla sayıda hasta üzerinde mevcut standart tedavilerle karşılaştırmalı ve daha uzun süreli klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. Güvenlilik Profili

Psilosibin'in toksisitesi düşük olmakla birlikte tıbbi gözetim bulunmayan bir ortamda kullanımının çeşitli sağlık riskleri ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Diğer bir deyişle solunum veya kardiyovasküler sistem problemleri, kalp krizi gibi ölümlle sonuçlanabilen ciddi durumlara yol açma potansiyeli bulunmasa da, bazı davranışsal ve fiziksel yan etkiler gözlenebilmektedir.

Başlıca toksisite belirtileri arasında görsel ve işitsel halüsinasyonlar, fiziki çevrenin tam olarak farkında olamama, net düşünememe, ajitasyon, konfüzyon, paranoid sanrılar, anksiyete, oryantasyon bozukluğu, ataksi, kan basıncı ve kalp atış hızında artış, mide bulantısı/kusma bulunur. Bu etkilerin çoğu akut ve 2 ila 12 saat sürebilir. "Sihirli mantar" kullanımı sonucu psilosibin zehirlenmesine bağlı olarak bildirilen ölüm vakaları nadir olup genellikle birlikte başka maddelerin de kullanılmasıyla ilgilidir [35-38].

Psilosibin'in güvenliliği klinik ve klinik dışı kullanımda araştırılmış, raporların çoğunda olumsuz etkiler bildirilmemiştir. Bildirilen olumsuz etkilerin çoğu ciddi olmayan yan etkiler (örn. baş ağrısı, mide bulantısı, anksiyete ve kan basıncında yükselme) olarak sınıflanmıştır.

6. Tolerans ve Bağımlılık Gelişmesi

Psilosibin'e karşı tolerans hızla oluşur ve birkaç gün içerisinde kaybolur; haftada bir defadan fazla kullanılması, etkilerinin azalmasına yol açabilir. Tolerans gelişmesini önlemek için dozlar birkaç gün arayla verilebilir. Psilosibin ile LSD ve meskalin arasında kısmi çapraz tolerans vardır [32, 35-38].

Psilosibin' in tekrarlanan kullanımı fiziksel bağımlılığa yol açmaz [37] 2000-2002 yılları arasındaki ABD verilerine dayanarak, ergenlik döneminde halüsinojen (psilosibin dahil) kullanımının yetişkinlikte uyuşturucu bağımlılığı riskini artırmadığı sonucuna varılmıştır; buna karşın ergenlik döneminde esrar, kokain, inhalanlar, anksiyolitikler ve uyarıcıları kullananların erişkinlikte bağımlılığa ilişkin klinik özellikler geliştirme riski çok yüksektir [37, 38].

7. Sihirli Mantarlara İlişkin Yasal Durum

Birçok ülkede psilosibin içeren mantarlar için belirli düzeyde yasal kontrol veya yasaklama bulunmaktadır (örneğin, ABD' de Psikotrop Maddeler Sözleşmesi, İngiltere'de Uyuşturucu Maddelerin Kötüye Kullanımı Yasası ve Kanada' da Kontrollü Uyuşturucu ve Maddeler Yasası gibi).

Psilosibin ve psilosin, Birleşmiş Milletler 1971 Psikotrop Maddeler Sözleşmesi kapsamında "Uluslararası Kontrol Altındaki Psikotropik Maddeler Listesi'nde Çizelge I (en kısıtlayıcı liste) altında sınıflanmıştır. 1971 Psikotrop Maddeler Sözleşmesi [39], amfetamin tipi uyarıcılar, barbitüratlar, benzodiazepinler ve psikedelikler gibi psikoaktif ilaçların yasal kontrolünü sağlamak amacıyla tasarlanmış bir Birleşmiş Milletler antlaşmasıdır. Ancak bu sözleşmedeki Çizelge I' de Psilosibe mantarlarının kendileri değil, sadece içerdikleri maddeler olan psilosibin ve psilosin yer almaktadır. Johns Hopkins araştır-



macıları, psilosibin'in mevcut faz III klinik deneylerini geçmesi durumunda, reçeteli uyku ilaçları gibi çizelge IV (en az kısıtlayıcı liste) altında yeniden sınıflanması gerektiğini öne sürmüşlerdir [40]. Bu durum ancak psilosibine dair "yeni ilaç başvurusu (NDA)" FDA tarafından onaylanırsa söz konusu olabilecektir.

Ülkemizde 1933 yılında yürürlüğe giren 2313 sayılı Uyuşturucu Maddelerin Murakabesi Kanunu ile [41], uyuşturucu veya uyarıcı maddelerin denetimi sağlanmış, uyuşturucu veya uyarıcı maddelerin imali, ithali, ihracı ve ülke içinde ticareti ile ilgili yaptırımlar önce 1926 yılına ait 765 sayılı Türk Ceza Kanunu (TCK)'nın 403.maddesi (mülga), daha sonra ise 2004 yılında kabul edilen 5237 sayılı Türk Ceza Kanunu'nun 188. maddesiyle düzenlenmiştir [42].

Buna göre, 5237 sayılı TCK madde 188/1' de uyuşturucu veya uyarıcı maddeleri ruhsatsız veya ruhsata aykırı olarak imal, ithal ve ihrac etmek, TCK madde 188/3' de ise satmak, satışa arz etmek, başkalarına vermek, sevk etmek, nakletmek, depolamak, satın almak, kabul etmek ve bulundurmamak suç olarak tanımlanmıştır.

Türk Ceza Kanunu' nun uyuşturucu veya uyarıcı madde imal ve ticaretine ilişkin 188. maddesinin 4. fıkrasında belirtilen "bu fıkra da yer alan "sentetik kannabinoid ve türevleri veya bazmorfin olması," ibaresi 28/3/2023 tarihli ve 7445 sayılı Kanunu'nun 17.maddesiyle [43] "bazmorfin, sentetik kannabinoid ve türevleri, sentetik katinon ve türevleri, sentetik opioid ve türevleri veya amfetamin ve türevleri olması," şeklinde değiştirilmiştir. Uyuşturucu veya uyarıcı maddelere ilgili olarak TCK'nda ve Uyuşturucu Maddelerin Murakabesi Kanunu'nda "psikedelik madde", "halüsinojenik madde", "sihirli mantarlar", "psilosibin" veya "psilosin" ibareleri yer almamaktadır.

Kaynaklar

- [1] Vollenweider, F. X., & Komter, M. (2010). The neurobiology of psychedelic drugs: implications for the treatment of mood disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(9), 642-651.
- [2] Bonniex, J. N., VanderZwaag, B., Premji, Z., Garcia-Romeu, A., & Garcia-Barrera, M. A. (2023). Psilocybin's effects on cognition and creativity: A scoping review. *Journal of Psychopharmacology*, 37(7), 635-648.
- [3] Nichols, D. E. (2020). Psilocybin: from ancient magic to modern medicine. *The Journal of antibiotics*, 73(10), 679-686.
- [4] Matsushima, Y., Eguchi, F., Kikukawa, T., & Matsuda, T. (2009). *Historical overview of psychoactive mushrooms. Inflammation and Regeneration*, 29 (1), 47-58.
- [5] Nichols, D. E. (2016). Psychedelics. *Pharmacological reviews*, 68(2), 264-355.
- [6] Guzmán, G., Allen, J. W., & Gartz, J. (1998). A worldwide geographical distribution of the neurotropic fungi, an analysis and discussion. *Ann Mus Civ Rovereto*, 14, 189-280.
- [7] Hofmann, A., Heim, R., Brack, A., & Kobel, H. A. N. S. (1958). Psilocybin, ein psychotroper Wirkstoff aus dem mexikanischen Rauschpflanz Psilocybe mexicana Heim. *Experientia*, 14, 107-109.
- [8] Blei, F., Dörner, S., Fricke, J., Baldeweg, F., Trottmann, F., Komor, A., & Hoffmeister, D. (2020). Simultaneous production of psilocybin and a cocktail of β -carboline monoamine oxidase inhibitors in "magic" mushrooms. *Chemistry-A European Journal*, 26(3), 729-734.
- [9] Tay, T. L., Savage, J. C., Hui, C. W., Bisht, K., & Tremblay, M. È. (2017). Microglia across the lifespan: from origin to function in brain development, plasticity and cognition. *The Journal of physiology*, 595(6), 1929-1945.
- [10] VanderZwaag, J., Halvorson, T., Dolhan, K., Šimončičová, E., Ben-Azu, B., & Tremblay, M. È. (2023). The missing piece? A case for microglia's prominent role in the therapeutic action of anesthetics, ketamine, and psychedelics. *Neurochemical research*, 48(4), 1129-1166.
- [11] De Veen, B. T., Schellekens, A. F., Verheij, M. M., & Homberg, J. R. (2017). Psilocybin for treating substance use disorders?. *Expert review of neurotherapeutics*, 17(2), 203-212.
- [12] Hassan, Z., Bosch, O. G., Singh, D., Narayanan, S., Kasinather, B. V., Seifritz, E., & Müller, C. P. (2017). Novel psychoactive substances—recent progress on neuropharmacological mechanisms of action for selected drugs. *Frontiers in psychiatry*, 8, 152.
- [13] Chávez-Castillo, M., Núñez, V., Nava, M., Ortega, Á., Rojas, M., Bermúdez, V., & Rojas-Quintero, J. (2019). Depression as a neuroendocrine disorder: emerging neuropsychopharmacological approaches beyond monoamines. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2019(1), 7943481.
- [14] Mahapatra, A., & Gupta, R. (2017). Role of psilocybin in the treatment of depression. *Therapeutic advances in psychopharmacology*, 7(1), 54-56.
- [15] Carhart-Harris, R. L., Erritzoe, D., Williams, T., Stone, J. M., Reed, L. J., Colasanti, A., & Nutt, D. J. (2012). Neural correlates of the psychedelic state as determined by fMRI studies with psilocybin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(6), 2138-2143.

- [16] Rakoczy, R. J., Runge, G. N., Sen, A. K., Sandoval, O., Wells, H. G., Nguyen, Q., & McMurray, M. S. (2024). Pharmacological and behavioural effects of tryptamines present in psilocybin-containing mushrooms. *British Journal of Pharmacology*, 181(19), 3627-3641.
- [17] Johnson, M. W., & Griffiths, R. R. (2017). Potential therapeutic effects of psilocybin. *Neurotherapeutics*, 14, 734-740.
- [18] Johnson, M. W., Griffiths, R. R., Hendricks, P. S., & Hennigfield, J. E. (2018). The abuse potential of medical psilocybin according to the 8 factors of the Controlled Substances Act. *Neuropharmacology*, 142, 143-166.
- [19] Bogenschutz, M. P., Forcehimes, A. A., Pommy, J. A., Wilcox, C. E., Barbosa, P. C., & Strassman, R. J. (2015). Psilocybin-assisted treatment for alcohol dependence: a proof-of-concept study. *Journal of psychopharmacology*, 29(3), 289-299.
- [20] Moreno, F. A., Wiegand, C. B., Taitano, E. K., & Delgado, P. L. (2006). Safety, tolerability, and efficacy of psilocybin in 9 patients with obsessive-compulsive disorder. *Journal of clinical Psychiatry*, 67(11), 1735-1740.
- [21] Johnson, M. W., Garcia-Romeu, A., Cosimano, M. P., & Griffiths, R. R. (2014). Pilot study of the 5-HT_{2A}R agonist psilocybin in the treatment of tobacco addiction. *Journal of psychopharmacology*, 28(11), 983-992.
- [22] Carhart-Harris, R. L., Bolstridge, M., Rucker, J., Day, C. M., Erritzoe, D., Kaelen, M., & Nutt, D. J. (2016). Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: an open-label feasibility study. *The Lancet Psychiatry*, 3(7), 619-627.
- [23] Davis, A. K., Barrett, F. S., May, D. G., Cosimano, M. P., Sepeda, N. D., Johnson, M. W., & Griffiths, R. R. (2021). Effects of psilocybin-assisted therapy on major depressive disorder: a randomized clinical trial. *JAMA psychiatry*, 78(5), 481-489.
- [24] Griffiths, R. R., Johnson, M. W., Carducci, M. A., Umbricht, A., Richards, W. A., Richards, B. D., & Klinedinst, M. A. (2016). Psilocybin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial. *Journal of psychopharmacology*, 30(12), 1181-1197.
- [25] Ross, S., Bossis, A., Guss, J., Agin-Liebes, G., Malone, T., Cohen, B., & Schmidt, B. L. (2016). Rapid and sustained symptom reduction following psilocybin treatment for anxiety and depression in patients with life-threatening cancer: a randomized controlled trial. *Journal of psychopharmacology*, 30(12), 1165-1180.
- [26] Goodwin, G. M., Croal, M., Feifel, D., Kelly, J. R., Marwood, L., Mistry, S., & Malievskaia, E. (2023). Psilocybin for treatment resistant depression in patients taking a concomitant SSRI medication. *Neuropsychopharmacology*, 48(10), 1492-1499.
- [27] Goldberg, S. B., Pace, B. T., Nicholas, C. R., Raison, C. L., & Hutson, P. R. (2020). The experimental effects of psilocybin on symptoms of anxiety and depression: A meta-analysis. *Psychiatry research*, 284, 112749.
- [28] Vargas, A. S., Luís, Â., Barroso, M., Gallardo, E., & Pereira, L. (2020). Psilocybin as a new approach to treat depression and anxiety in the context of life-threatening diseases-a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Bio-medicines*, 8(9), 331.
- [29] Yu, C. L., Yang, F. C., Yang, S. N., Tseng, P. T., Stubbs, B., Yeh, T. C., & Liang, C. S. (2021). Psilocybin for end-of-life anxiety symptoms: a systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Investigation*, 18(10), 958.
- [30] Jann, M. W. (2021). Psilocybin Revisited: The Science Behind the Drug and Its Surprising Therapeutic Potential. *Psychiatric Times*, 38(3).
- [31] Psilocybin-COMPASS Pathways website. <https://adisinsight.springer.com/drugs/800050861>. Accessed May 21, 2025.
- [32] Watson, J. R., Halpin, L., Barroso, V., Dahdouh, G., Bursalyan, J., Mohta, S., & Serrano, J. L. (2025). A Review of the Food and Drug Administration Pipeline and Proposed California Legislation on Medicinal Psychedelics. *The Permanente Journal*, 29(1), 89.
- [33] ClinicalTrials.gov website. <https://clinicaltrials.gov/search?term=psilocybin&viewType=Table>. Accessed May 21, 2025.
- [34] FDA News Release. FDA approves new nasal spray medication for treatment-resistant depression; available only at a certified doctor's office or clinic. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-nasal-spray-medication-treatment-resistant-depression-available-only-certified>. Accessed May 21, 2025.
- [35] Passie, T., Halpern, J. H., Stichtenoth, D. O., Emrich, H. M., & Hintzen, A. (2008). The pharmacology of lysergic acid diethylamide: a review. *CNS neuroscience & therapeutics*, 14(4), 295-314.
- [36] Halberstadt, A. L., & Geyer, M. A. (2011). Multiple receptors contribute to the behavioral effects of indoleamine hallucinogens. *Neuropharmacology*, 61(3), 364-381.
- [37] Chen, C. Y., Storr, C. L., & Anthony, J. C. (2009). Early-onset drug use and risk for drug dependence problems. *Addictive behaviors*, 34(3), 319-322.
- [38] Kaminski, D., & Reinert, J. P. (2024). The tolerability and safety of psilocybin in psychiatric and substance-dependence



conditions: a systematic review. *Annals of Pharmacotherapy*, 58(8), 811-826.

- [39] 1971 Convention on Psychotropic Substances

https://web.archive.org/web/20180209061927/https://www.unodc.org/pdf/convention_1971_en.pdf. Accessed May 21, 2025.

- [40] Johns Hopkins Medicine; News & Publications - Newsroom; Reclassification Recommendations for Drug in 'Magic Mushrooms'; <https://www.hopkinsmedicine.org/news/newsroom/news-releases/2018/09/reclassification-recommendations-for-drug-in-magic-mushrooms>. Accessed May 21, 2025.

- [41] 2313 Sayılı Uyuşturucu Maddelerin Murakabesi Hakkında

Kanun (R. Gazete: Tarih: 24/6/1933, Sayı: 2435)

- [42] 5237 Sayılı Türk Ceza Kanunu (R. Gazete: Tarih: 12/10/2004, Sayı: 25611).

- [43] 7445 Sayılı İcra ve İflas Kanunu ile Bazı Kanunlarda Değişiklik Yapılmasına Dair Kanun (R. Gazete: Tarih: 05/04/2023, Sayı: 32154).

Antarktik Mikroalg Ekstrelerinin Antioksidan Potansiyeli, Fenolik İçeriği ve Antimikrobiyal Etkileri

Antioxidant Potential, Phenolic Content, and Antimicrobial Effects of Antarctic Microalgal Extracts

Özet

Amaç: Son yıllarda, kontrolsüz ilaç tüketimi nedeniyle artan patojen mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı direnç göstermesi önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda, mikroalglerin bu sorunun çözümü için büyük bir potansiyele sahip bir seçenek olduğu görülmüştür. Özellikle ekstrem koşullarda büyüeyebilen mikroalglerin, içerdiği farklı biyoaktif bileşenler sayesinde antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra antikanser, antioksidan ve anti-inflamatuar özellikler gösterebildiği belirlenmiştir. Bu çalışmada, Antarktika'nın Horseshoe Adası, Skua Gölü'nden izole edilen *Chlorella variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 türü üzerine odaklanılmış ve bu türün antimikrobiyal potansiyeli ilk kez kapsamlı olarak değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, farklı çözücüler (etanol, metanol, DMSO ve su) kullanılarak hazırlanan ekstrelerin hem antibakteriyel hem de antifungal etkileri sistematik olarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Bu çalışmanın sonuçları, Antarktik mikroalg ekstrelerinin *Bacillus cereus* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı en yüksek antibakteriyel ve antifungal aktiviteyi gösterdiğini ortaya koymuştur.

Sonuç: Çalışmanın sonucunda, elde edilen ekstrelerin kozmetik ve farmasötik gibi endüstrilerde antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Antarktika, mikroalgler, *Chlorella variabilis*, antibakteriyel aktivite, antifungal aktivite.

Abstract

Aim: In recent years, due to uncontrolled drug consumption, increasing pathogenic microorganisms' resistance to antimicrobial agents has become an important problem. In this context, studies have shown that microalgae have great potential as an option for solving this problem. It has been determined that microalgae, which can grow especially under extreme conditions, can exhibit antimicrobial properties as well as anticancer, antioxidant and anti-inflammatory properties thanks to the different bioactive components they contain. Therefore, this study focused on the *Chlorella variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 strain isolated from Skua Lake on Horseshoe Island, Antarctica, and comprehensively evaluated its antimicrobial potential for the first time.

Materials and methods: Extracts prepared using different solvents (ethanol, methanol, DMSO, and water) were systematically analyzed for both antibacterial and antifungal effects.

Results: The results revealed that Antarctic microalgal extracts exhibited the highest antibacterial and antifungal activity against *Bacillus cereus* and *Botrytis cinerea*, respectively.

Conclusion: The findings suggest that these extracts could be utilized as antimicrobial agents in industries such as cosmetics and pharmaceuticals

Keywords: Antarctica, microalgae, *Chlorella variabilis*, antibacterial activity, antifungal activity.

2025, 1(1) 9-20

Anıl Tefvik KOÇER^{1,2,*}

ATK: 0000-0003-1519-1711

Benan İNAN²

Bi: 0000-0002-2315-3099

Meyrem ERTÜRK²

ME: 0000-0001-8235-3552

Gülcan Aysin KARACA²

GAK: 0000-0003-3905-851X

Beyza KARACAOĞLU²

BK: 0000-0001-7666-1911

Didem BALKANLI²

DB: 0000-0003-2483-7617

¹ Sağlık Biyoteknolojisi Mükemmeliyet Ortak Uygulama ve Araştırma Merkezi, Esenler-İstanbul, Türkiye

² Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Esenler-İstanbul, Türkiye

Received/Geliş Tarihi:

05.03.2025

Accepted/Kabul Tarihi:

16.04.2025

Çıkar Çatışması

Çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma, T.C. Cumhurbaşkanlığı himayelerinde, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenmiş ve TÜBİTAK MAM Kutup Araştırmaları Enstitüsü tarafından koordine edilmiştir. Örneklerin toplanması ve değerli destekleri için TAE III (3. Türk Antarktik Seferi) kapsamında yer alan tüm araştırmacılara teşekkür ederiz.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author:

Anıl Tefvik KOÇER

E-posta: tevfik.kocer@yildiz.edu.tr

This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License





1. Giriş

Son yıllarda, patojenik bakteri ve mantarların antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirmelerinde önemli bir artış gözlemlenmiştir [1]. Bu nedenle, bilim insanları patojen mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için yeni yaklaşımlar önermektedir. Bu yaklaşımlardan en önemlilerinden biri mikroalg ekstrelerinin kullanımıdır. Mikroalgler, üstün adaptasyon yetenekleri sayesinde ekstrem koşullara uyum sağlayabilen üçüncü nesil biyokütle kaynağıdır ve birçok farklı alanda kullanılabilmektedir [2]. Mikroalgler, çevresel stres koşullarına karşı hücre yapılarını koruyabilmek için çok çeşitli değerli biyoaktif sekonder metabolitler sentezler [3, 4]. Özellikle kutup bölgelerinde hayatta kalabilen mikroalgler, biyoaktif bileşenler açısından oldukça zengin hale gelmektedir [5, 6]. Bu biyoaktif bileşikler, antibiyotik, antiviral, antikanser, antifungal, antibakteriyel, anti-inflamatuar ve enzim inhibisyonu (örneğin, asetilkolinesteraz, tirozinaz, alfa-amilaz, lipaz ve HMG-CoA redüktaz) gibi özellikleri sayesinde kozmetik ve farmasötik endüstrisinde değerlendirilmektedir [7].

Mikroalglerin antimikrobiyal etkilerinin araştırılması ilgi çekici bir konudur. Bu bağlamda, mikroalglere ait ilk antibakteriyel bileşen olan chlorellin, Pratt ve ark. [8] tarafından *Chlorella* türü mikroalglardan izole edilmiş ve bu bileşenin Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Navarro ve ark. [9] asidofilik mikroalglerin hekzan, dietil eter, klorofom ve diklorometan gibi solventlerle ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstrelerin insan patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Vehapi ve ark. [10] farklı besin takviyelerinde yetiştirilen mikroalglerin antifungal aktivitelerini incelerken, Fabregas ve ark. [11] deniz mikroalg ekstrelerinin viral hemorajik septisemi virüsü ve Afrika domuz ateşi virüsüne karşı antiviral etkilerini araştırmıştır. Bu çalışmalara ek olarak, Ghasemi ve ark. [12], Saantoyo ve ark. [13], Schuelter ve ark. [14], ve Bhagavathy ve ark. [15] mikroalg ekstrelerinin çeşitli mikrobiyal patojenlere karşı antimikrobiyal etkilerini incelemiştir.

Bu çalışmanın amacı, Antarktika bölgesinden izole edilen mikroalglerin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmasıdır. Antarktika, dünyanın en zorlu ortamlarından biri olmasına karşın, zengin bir mikroalg florasına sahiptir [16]. Literatürde kutup bölgelerinden izole edilen mikroalgler üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, bu çalışmaların genellikle tür izolasyonu ile sınırlı olduğu ve mikroalgler üzerindeki sınırlı sayıda parametrenin etkisini incelediği görülmektedir. Bu çalışmada, Türkiye Ulusal Antarktik Bilim Seferi kapsamında Antarktika'dan elde edilen örneklerden izole edilen *Chlorella variabilis* mikroalg türü farklı

çözücülerle ekstre edilmiş ve ardından bu ekstrelerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri araştırılmıştır.

2. Gereç ve Yöntemler

2.1 Mikroalglerin Yetiştirilmesi ve Ekstraksiyonu

Ekibimiz tarafından izole edilip adlandırılan *C. variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 mikroalg, BG-11 besiyeri kullanılarak Erlenmeyer flasklarında kültüre edilmiştir. Mikroalgler, 25°C ± 1°C sıcaklıkta, sürekli karıştırma ile 24 saat ışık maruziyeti altında iki hafta boyunca çalkalamalı inkübatörde yetiştirilmiştir. Daha sonra mikroalgler, 5000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edilerek hasat edilmiş ve 60°C'de, gece boyunca etüvde kurutulmuştur. 1 gram kuru mikroalg ve 10 ml çözücü (etanol, metanol, DMSO ve su) kullanılarak 80°C'de su banyosunda ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstreler, antimikrobiyal analizler için hava geçirmeyen kehribar renkli şişelerde saklanmıştır.

2.2 Mikroalgal Ekstrelerin Karakterizasyonu

2.2.1 Yağ Asidi Profilinin Belirlenmesi

Chlorella variabilis YTU.ANTARCTIC.001 mikroalg türünün yağ asidi profili, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) analizi ile belirlenmiştir. Analizler, Restek (Bellefonte, ABD) Rtx-5MS erimiş silika kapiler kolon (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fırın sıcaklığı başlangıçta 40°C'de 3 dakika tutulmuş, ardından sıcaklık 8°C/dak hızında kademeli olarak 100°C'ye, 5°C/dak hızla 200°C'ye ve son olarak 10°C/dak hızla 250°C'ye yükseltilerek bu sıcaklıkta 10 dakika bekletilmiştir. Enjeksiyon bloğu ve dedektör sıcaklığı 250°C olarak ayarlanmış, taşıyıcı gaz olarak helyum (1 mL/dak akış hızıyla) kullanılmıştır. Tüm numuneler dietil eter içinde 1:100 oranında seyreltilmiş olup, her birinden 3 µL hacminde numune 1/50 bölünme oranıyla GC-MS sistemine enjekte edilmiştir. Kütle taraması, 35-650 m/z aralığında gerçekleştirilmiştir. Uçucu bileşiklerin tanımlanması, toplam iyon kromatogramları (TIC) üzerinden ticari kütle spektrum kütüphaneleri (NIST27 ve WILEY7) ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Bileşiklerin kantitatif analizi, TIC piklerinin bağlı alan yüzdesi temel alınarak gerçekleştirilmiştir [17].

2.2.2 Antioksidan Aktivite Analizi

Mikroalg ekstrelerinin toplam antioksidan aktivitesi, 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikal süpürücü yöntemi kullanılarak belirlenmiştir [18]. Deneyde, 1'er mL mikroalg ekstreleri ile 3 mL 0,1 mM DPPH çö-

zeltisi (metanol içinde hazırlanmış) karıştırılmıştır. Karışım, karanlık ortamda oda sıcaklığında 30 dakika ve 60 dakika bekletildikten sonra 517 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. Reaksiyon karışımındaki absorban azalması, yüksek serbest radikal giderme aktivitesini göstermektedir. DPPH radikal süpürücü aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır: (1)

$$DPPH \text{ radikal giderme aktivitesi (\%)} = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100$$

Burada, A_0 kontrol örneğinin (sadece DPPH çözeltisi içeren) absorban değeri, A_1 ise belirli bir konsantrasyonda mikroalg ekstresi veya standart antioksidan (BHT-1000) içeren numunenin absorban değeridir.

2.2.3 Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi

Ekstrelerin toplam fenolik içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemi [19] kullanılarak analiz edilmiştir. Bunun için her ekstreten (etanolik, metanolik, DMSO'lu ve sulu) 200 µL test tüplerine alınmıştır. Ardından, tüplere 1 mL 1:10 oranında seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir ve 4 dk inkübe edilmiştir. Ardından karışıma 800 µL doygun sodyum karbonat çözeltisi (75 g/L) ilave edilmiştir. 2 saat oda sıcaklığında inkübasyonun ardından, numunelerin absorban değerleri 765 nm'de ölçülmüştür. Standart kalibrasyon eğrisi elde etmek için farklı gallik asit konsantrasyonları (0 - 500 mg/L) hazırlanmış olup, sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g ekstre olarak ifade edilmiştir [20].

2.3 Antibakteriyel Aktivite Analizi

Antarktik mikroalg ekstresinin agar disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitesini belirlemek amacıyla, patojen bakteri olarak *Escherichia coli* ATCC 35150, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşları kullanılmıştır. Agar disk difüzyon yöntemi, patojen mikroorganizmaların *in vitro* duyarlılık testlerinde kullanılan bir yöntemdir. Bu analiz için 6 mm çapındaki antimikrobiyal diskler, farklı konsantrasyonlardaki 40 µL hacmindeki mikroalg ekstresiyle emdirilerek agar plaklarının üzerine yerleştirilmiştir. Ekstre, diskin içinden agar ortamına difüze olmuştur. Plaklar, standart bir bakteri süspansiyonu ile ekilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda, mikroalg ekstreleriyle muamele edilmiş antimikrobiyal disklerin etrafında oluşan büyüme inhibisyon zonları ölçülmüştür [10].

2.4 Antifungal Aktivite Analizi

Antarktika mikroalglerinin *Colletotrichum gloeosporioides*,

Botrytis cinerea, *Aspergillus niger* ve *Fusarium oxysporum* türlerine karşı antifungal aktivitesi, disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Fungal mikroorganizmalar için steril PDA besiyeri içeren (20 mL/plak) petri kapları hazırlanmış ve önceki kültürlerden (7 günlük) alınan 6 mm çapındaki agar diskleri ile ekim yapılmıştır. Mikroalg ekstreleri, test disklerine 40 µL emdirilerek agar plaklarının üzerine yerleştirilmiştir. Plaklar, 25 ± 2°C'de 72 saat boyunca inkübe edilmiştir. Negatif kontroller, ekstraksiyon için kullanılan çözücüye uygun şekilde hazırlanmıştır. Fungal büyüme sırasıyla 3., 4., 5. ve 6. günlerde kaydedilmiştir [21].

2.5 İstatistiksel Analiz

Veriler, ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. *In vitro* testler, her bir bakteri ve mantar türü için ayrı ayrı değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler, JMP 6.0.0 (SAS Institute, Cary, NC, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Varyans analizi (ANOVA) uygulanmış olup, gruplar arasındaki farkların anlamlılığı Student's t-testi ile belirlenmiştir (p < 0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir).

3. Bulgular ve Tartışma

3.1 Mikroalgin Yağ Asidi Profili

Mikroalgin GC-MS analizi sonuçları Tablo 1'de özetlenmiştir. Bu tabloya göre mikroalg ekstresinde birçok yağ asidi metil esterleri tespit edilmiştir. Bunlar arasında, metil heptadekanoat (%11,33) ve metil oleat (%4,34) en yüksek yüzdelere sahip bileşiklerdir. Metil oleat (oleik asit metil ester), biyodizel üretiminde yaygın olarak kullanılan ve biyolojik aktivitesiyle bilinen bir bileşiktir. Linoleik asit metil ester (9,12-Oktadekadienoik asit, metil ester) gibi doymamış yağ asitleri, antioksidan özellikleri nedeniyle farmasötik ve kozmetik sektörlerinde ilgi çekmektedir. Bunun yanı sıra, analizde tespit edilen metil palmitat (heksadekanoik asit, metil ester) ve metil stearat (oktadekanoik asit, metil ester) gibi doymuş yağ asidi esterleri, biyoyakıt ve biyoaktif madde üretimi açısından önem taşımaktadır. Bu bileşikler, yağ bazlı biyomalzemeler ve yüzey aktif maddeler gibi endüstriyel uygulamalarda da kullanılabilir. Bu sonuçlar, *Chlorella variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 türünün içerdiği biyoaktif yağ asitlerinin farmasötik ve kozmetik endüstrilerinde biyoteknolojik uygulamalar açısından değerlendirilebileceğini göstermektedir.

3.2. Antioksidan Aktivite Analizi Sonuçları

Chlorella variabilis YTU.ANTARCTIC.001 mikroalginin farklı çözücülerle ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstrelerin antioksidan aktivite analizi sonuçları Şekil 1'de gösterilmiştir.



Tablo 1 9:1 metanol/yağ molar oranı ve ağırlıkça %1,5 KOH koşulları altında üretilen *C. variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 yağ asidi metil esteri örneğinin GC-MS sonuçları

Zaman (dak)	Bileşik Adı	Alan %	Yükseklik %	CAS Adı
3,9	Metilsikloheksan	1,9	5,1	Sikloheksan, metil-
33,3	Metil palmitat	0,4	0,8	Hekzadekanoik asit, metil ester
35,8	Metil heptadekanoat	11,3	15,7	Heptadekanoik asit, metil ester
37,9	Linoleik asit metil ester	0,5	0,8	9,12-Oktadekanoik asit (Z,Z)-, metil ester
38,1	Metil oleat	4,3	7,3	9,12-Oktadekanoik asit (Z,Z)-, metil ester
38,8	Metil stearat	0,2	0,3	Oktadekanoik asit, metil ester

rılmıştır. Elde edilen verilere göre, BHT-1000 standardı her iki zaman noktasında da en yüksek radikal süpürme aktivitesini göstermiştir (%60-80). Mikroalg ekstreleri arasında ise en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan ekstrenin etanol ekstresi (EE - %37) olduğu belirlenmiştir. Bunu sırasıyla etanol (ME - %35) ve DMSO (DE - %30) ekstreleri takip etmiştir. Su ekstresi (WE - %21), test edilen diğer çözücülere kıyasla en düşük antioksidan aktiviteyi sergilemiştir. Doğal kaynaklar arasında, ekstrem habitatlardan izole edilen mikroalgler, çevresel strese karşı hayatta kalma mekanizması olarak sekonder metabolitler üretmektedir. Çeşitli çalışmalar, bu biyoaktif bileşiklerin aynı zamanda antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir [16, 22]. Özellikle *Chlorella* türlerinin antioksidan özellikleri üzerine yapılan önceki araştırmalar, bu mikroalglerin yüksek oranda fenolik ve flavonoid bileşikler içerdiğini ve bu bileşiklerin serbest radikalleri etkili bir şekilde süpürebildiğini göstermektedir. Örneğin, Goiris ve ark. [23] tarafından yapılan bir çalışmada, farklı mikroalg türlerinin antioksidan kapasiteleri karşılaştırılmış ve özellikle *Chlorella vulgaris* türünün yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışma, polifenoller ve karotenoidlerin mikroalg ekstrelerinin antioksidan aktivitesinde önemli rol oynadığını vurgulamaktadır. Benzer şekilde, Vijayavel ve ark. [24] tarafından yapılan bir çalışmada, *Chlorella vulgaris*'in alkolik ekstreleri strese bırakılmış sıçanlara oral yolla verilmiş ve antioksidan etkileri incelenmiştir. Yapılan deneyler sonu-

cunda *Chlorella vulgaris* ekstresi verilen sıçanların lipid peroksidasyon aktivitesinde belirgin bir azalma ($p < 0,001$) ve hem enzimatik hem de non-enzimatik antioksidan aktivitelerinde, kontrol değerlerine yakın bir artış görülmüştür. Anı Azaman ve ark., *C. zofingien-sis* and *C. sorokiniana* mikroalg türlerinin etanolik ekstrelerinin DPPH serbest radikal süpürme yüzdelere %11,5 - 14 arasında hesaplamışlarken; Gürlek ve ark. [25] *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima* alglerinin metanolik ekstraktları için bu değeri yaklaşık %90 olarak raporlamışlardır.

Antioksidan aktivitenin zamanla artış göstermesi, mikroalg ekstrelerindeki aktif bileşenlerin serbest radikalleri gidermek için zamana bağlı bir kinetik süreç izleyebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, çözücü polaritesinin ekstrelerindeki biyoaktif bileşiklerin çözünürlüğü üzerinde önemli bir etkisi olduğu görülmektedir. Fenolik ve flavonoid bileşiklerin genellikle polarlıktan etkilendiği göz önüne alındığında, metanol ve etanol gibi çözücülerin daha yüksek antioksidan aktivite göstermesi, bu çözücülerde daha fazla biyoaktif bileşiğin ekstre edilebildiğini göstermektedir. Bu bulgular, mikroalglerden elde edilen ekstrelerin antioksidan potansiyelinin farmasötik ve kozmetik endüstrilerinde değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır. Özellikle metanol ve etanol bazlı ekstrelerin, serbest radikallere karşı yüksek etkinlik göstermesi, bu ekstrelerin doğal antioksidan kaynakları olarak kullanılabilirliğini düşündürmektedir.

3.3. Toplam Fenolik İçerik Analizi Sonuçları

Toplam fenolik içerik analizi sonucunda etanol, metanol, DMSO ve su ekstraktları için sırasıyla 107, 102, 90 ve 82 mg GAE/g ekstre olarak bulunmuştur. Elde edilen bu değerler, literatürde bildirilen *Chlorella* türleri ile kıyaslandığında rekabetçi seviyede olup, özellikle polar çözücülerle ekstraksiyonun fenolik bileşik verimini artırdığı gözlemlenmiştir. Yüksek fenolik içeriğin, mikroalgin ekstrem çevresel koşullara uyum sağlama yeteneğiyle de ilişkili olabileceği ve bu türlerin biyoaktif bileşik üretimi açısından zengin bir kaynak sunduğu düşünülmektedir.

Literatürde bildirilen farklı *Chlorella* türleri ile kıyaslandığında, elde edilen değerlerin yüksek olduğu ve özellikle etanol ve metanol bazlı ekstraktların daha zengin fenolik bileşik içeriğine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ani Azaman ve ark. [26], farklı *Chlorella* türlerinin toplam fenolik içeriği değerlerinin yetiştirme koşullarına göre 10 - 80 mg GAE/g arasında değiştiğini bildirmiştir. Goiris ve ark. [23] farklı *Chlorella vulgaris* suşlarının toplam fenolik içeriklerini 0,75 - 2,21 mg GAE/g kuru mikroalg arasında değiştiğini raporlamışlardır. Ali ve ark. [27] etanolik *Chlorella* spp. ekstraktlarının toplam fenol içeriğini 39,1 mg GAE/g kuru mikroalg olarak bildirmişken; Gürlek ve ark. [25] *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella minutissima*'nın metanolik ekstraktları için bu değerleri sırasıyla yaklaşık 75 ve 175 GAE/g kuru mikroalg olarak bildirmişlerdir. Literatürdeki çalışmalar göz önüne alındığında, *C. variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 Antarktik mikroalg türünün gıda ve farmasötik alanlarında değerlendirilme potansiyeline sahip olduğu öne sürülebilir.

3.4. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Farklı *C. variabilis* YTU.ANTARCTIC.001 mikroalg ekstrelerinin çeşitli gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı oluşturduğu inhibisyon bölgelerinin çapları Tablo 2'de verilmiştir. Genel olarak, etanol ve metanol ekstraktları, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler üzerinde en yüksek inhibisyon etkisini gösterirken; su ekstraktlarının bakteriler üzerinde etkisinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada en düşük inhibisyon zonu, 8,2 mm ile su ekstraktının *S. typhimurium* üzerindeki etkisinde ölçülürken; en yüksek inhibisyon zonu ise, 12,7 mm ile *B. cereus* üzerinde DMSO ekstraktlarıyla elde edilmiştir. En hassas bakterinin *B. cereus* olduğu görülürken, *S. aureus* ve *E. coli* suşlarının daha dirençli olduğu gözlemlenmiştir. Literatürde bildirilen bazı çalışmalara göre, *Bacillus cereus*'un optimal büyüme sıcaklığı 30-37°C arasında değişmektedir [28]. Bu nedenle, *Bacillus cereus*'un bu çalışmada kullanılan en hassas bakteri türü olması muhtemeldir. *B. cereus* ve *P. aeruginosa*, 12,0 mm'den büyük inhibisyon zonları ile en duyarlı patojenlerken; *E. coli*, *S. typhimurium* ve *S. aureus* türleri, 11 mm'den küçük inhibisyon zonları ile en az duyarlı patojenler olarak belirlenmiştir.

Algler; poliskaritler, tanenler, flavonoidler, fenolik asitler ve karotenoidler gibi antimikrobiyal aktivite gösteren biyoaktif bileşiklerin önemli kaynaklarıdır. Ancak, bu bileşiklerin farklı çözücülerle çözünürlüklerine bağlı olarak farklı antimikrobiyal aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir [29]. Tüney ve ark. [30] *P. pavonica* türüne ait etanol ekstraktlarının *Candida* sp., *E. faecalis*, *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı zayıf aktivite gösterdiğini, buna karşılık metanol ekstraktlarının antibakteriyel

Tablo 2 Antarktik mikroalgin farklı ekstraktlarının oluşturduğu inhibisyon zonları (mm)

Türler	Etanol	Metanol	DMSO	Su
<i>E. coli</i>	11,0±0,0 ^{a,A}	10,8±0,8 ^{a,A}	10,5±0,0 ^{a,A}	9,0±0,0 ^{a,B}
<i>B. cereus</i>	11,8±0,8 ^{a,A}	10,7±1,2 ^{a,A}	12,7±1,2 ^{a,A}	9,7±0,8 ^{a,B}
<i>S. aureus</i>	11,7±1,0 ^{a,A}	11,0±1,2 ^{a,A}	11,2±0,8 ^{a,A}	9,7±1,5 ^{a,B}
<i>S. typhimurium</i>	09,2±1,3 ^{b,A}	11,0±0,0 ^{b,A}	09,3±1,5 ^{b,A}	8,2±0,9 ^{b,B}
<i>P. aeruginosa</i>	10,5±0,0 ^{a,A}	12,3±1,5 ^{a,A}	10,7±0,6 ^{a,A}	9,5±0,0 ^{a,B}

Veriler ortalamalar ± standart sapmalar (n=3) olarak sunulmuştur

A-B: Aynı bakteri türü için farklı çözücü ekstraktları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklar büyük harflerle belirtilmiştir (p<0,05).

a-d: Aynı ekstrakt tipi için farklı bakteri türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar küçük harflerle belirtilmiştir (p<0,05).



veya antifungal aktivite göstermediğini rapor etmiştir. Santoyo ve ark. [13] ise, *Haematococcus pluvialis*'in etanol ekstraktlarının *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmiş ve bunu, bütanoik ve metil laktik asit gibi kısa zincirli yağ asitlerinin varlığına bağlamıştır. Mevcut çalışmada ise DMSO ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliği daha güçlü bir şekilde görülmüş, özellikle *S. aureus* ve *B. cereus* üzerinde yüksek inhibisyon zonları oluşturmuştur. Ancak, bu bulgular literatürdeki diğer çalışmalara kıyasla, özellikle *E. coli* gibi diğer bakteri türleri üzerindeki etkinlik açısından daha dikkat çekicidir.

Biyoaktif bileşikler arasında, mikroalg yağ asitleri, farmasötik ve kozmetik uygulamalar için en önemli bileşiklerdir. Yağ asitleri, hücre zarına etki ederek zarın yapısını bozar, hücre sızıntısına yol açar, besin alımını azaltır ve hücre solunumu inhibe eder [1]. Mikroalg ekstraktlarının aktivitesi genellikle yağ asidi içeriği ile ilişkilidir [31, 32]. Bu nedenle, polar organik çözücüler (örneğin metanol), yağ asitlerinin ekstraksiyonu için etkilidir [33, 34].

Literatürdeki diğer çalışmalar incelendiğinde, Antarktik mikroalglerin diğer mikroalg türlerine kıyasla daha fazla antibakteriyel özellik gösterdiği görülmüştür [38-40] [35-37]. Uma ve ark. [38] tarafından yürütülen bir çalışmada, *Chlorococcum humicola*'nın DMSO ekstresinin (%1) *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkisi incelenmiş ve 9 mm inhibisyon zonu bildirilmiştir. Bai ve ark. [38] ise, *Tetraselmis suecica* ekstraktlarının aseton çözeltisi ile hazırlanarak *E. coli*, *B. megaterium*, *B. subtilis* ve *Salmonella* sp. bakterilerine karşı sırasıyla 9,0, 10,6, 8,2 ve 8,6 mm'lik inhibisyon zonları oluşturduğunu tespit etmiştir. Ancak, mevcut çalışmada elde edilen inhibisyon zonları, bu çalışmalarda bildirilenlerden genellikle daha yüksek seviyelerdedir. Örneğin, *P. aeruginosa* üzerinde 12,3 mm'lik inhibisyon zonu, diğer çalışmalarda bildirilenden daha geniştir. Bu, Antarktik mikroalglerin antibakteriyel aktivitelerinin çözücü türüne bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ve bu çalışmada kullanılan çözücünün etkili bir ekstraksiyon ortamı sunduğunu göstermektedir.

Antarktik türler ile yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, Asthana ve ark. [39] Antarktika siyanobakterisi *Nostoc CCC537*'nin metanolik ekstraktlarının *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhi*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'un büyümesini inhibe ettiğini bildirmiştir. Farklı *E. coli* türleri için inhibisyon zonlarının 10-18 mm arasında değiştiği, ayrıca *Staphylococcus aureus* ATCC 25923'e karşı 40 mm'lik bir inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, bu aktivitenin, bir diterpenoidin antraknon (indane) türevine benzer hücre içi bir biyomolekolden kaynaklanabileceğini belirtmiştir. Bu çalışma, mev-

cut çalışmamızdaki inhibisyon zonlarından çok daha yüksek değerlere ulaşmıştır. Bu fark, kullanılan mikroalg türünün özelliklerinden ve ekstraksiyon koşullarından kaynaklanabilir.

Biondi ve ark. [40] Antarktika'daki bentik matlardan izole edilen siyanobakteri ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Aspergillus fumigatus* ATCC 90112, *E. coli* L 47 ve *Candida albicans* L. 145 gibi çeşitli bakteri türleri üzerindeki etkisini incelemiştir. Araştırma sonucunda çalışmada kullanılan 17 siyanobakteri türünün *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus fumigatus* veya *Cryptococcus neoformans*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca, 25 türün sitotoksik olduğu tespit edilmiştir. Bu biyoaktivitelerin suya özgü olduğu ve filogenetik gruplama ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir. Elvedal [41] ise yüksek lisans tezinde farklı koşullar altında kültüre edilen Arktik deniz diatom türlerinin biyoaktivite potansiyelini incelemiştir. Arktik sularından toplanan tüm örneklerin, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Streptococcus agalactiae*'ye karşı biyoaktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, kültürleme koşullarının türlerin biyoaktivitesini etkilediği ve antibakteriyel etkilerinde farklılıklar gözlemlendiği belirtilmiştir. Araştırmacı, diatom türünün metabolit biyoaktivite profilinin kültürleme koşullarına bağlı olarak değişebileceğini ifade etmiştir.

3.5. Antifungal Aktivite Sonuçları

C. variabilis YTU.ANTARCTIC.001 türüne ait farklı ekstraktların antifungal aktivitesi, *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *B. cinerea* ve *A. niger* türlerine karşı değerlendirilmiştir ve bu fungal türlerin misel büyümesine karşı inhibisyon oranları farklı günlerde ölçülmüştür (Tablo 3).

Farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan Antarktik mikroalg ekstraktlarının, *C. gloeosporioides*'un 6. inkübasyon günündeki fungal koloni çapı üzerindeki etkisi incelendiğinde, en düşük miselyal büyümenin 64 mm ile etanol ekstresinde olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşılık, en yüksek miselyal büyüme 68 mm ile DMSO ve su ekstraktlarında elde edilmiştir. Kontrol ekstraktlarının miselyal büyümesi ise 66 ile 72 mm arasında gözlemlenmiştir (Şekil 2). *F. oxysporum* için ise, farklı ekstraktların etkilerinin birbirine yakın olduğu söylenebilmektedir. Etanol, su ve metanol ekstraktlarının miselyal büyüme değerleri 50-51 mm arasında değişirken, DMSO ekstresi 49 mm olarak ölçülmüştür (Şekil 3). Benzer şekilde, *B. cinerea*'ya karşı 5. ve 6. inkübasyon günlerinde hiçbir ekstrenin inhibisyon göstermediği tespit edilmiştir (Şekil 4). *A. niger* için, en yüksek miselyal büyüme 73,33 mm ile DMSO ekstresinde-

Tablo 3 Antarktik mikroalgi ekstraları uygulanmış fungusların 6 gün sonundaki miselyal büyüme zonları (mm)

Örnek	Çözücü	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>A. niger</i>
Ekstre	DMSO	68,00±0,50 ^{a,C}	49,50±0,00 ^{a,D}	90,00±0,00 ^{a,A}	73,33±0,57 ^{a,B}
	Etanol	64,00±0,50 ^{a,C}	51,00±0,00 ^{a,D}	90,00±0,00 ^{a,A}	71,00±1,00 ^{a,B}
	Metanol	65,00±0,00 ^{a,C}	50,00±1,00 ^{a,D}	90,00±0,00 ^{a,A}	69,00±0,00 ^{a,B}
	Su	68,00±0,50 ^{a,C}	51,00±0,50 ^{a,D}	90,00±0,00 ^{a,A}	72,00±1,00 ^{a,B}
(-) Kontrol	DMSO	69,50±0,50 ^{b,C}	54,00±0,00 ^{b,D}	90,00±0,00 ^{b,A}	78,00±0,50 ^{b,B}
	Etanol	66,00±0,50 ^{b,C}	55,00±1,00 ^{b,D}	90,00±0,00 ^{b,A}	75,00±1,00 ^{b,B}
	Metanol	67,00±0,00 ^{b,C}	54,00±1,00 ^{b,D}	90,00±0,00 ^{b,A}	76,00±0,00 ^{b,B}
	Su	72,00±0,00 ^{a,C}	55,33±1,52 ^{a,D}	90,00±0,00 ^{a,A}	80,00±0,00 ^{a,B}

Veriler ortalamalar ± standart sapmalar (n=3) olarak sunulmuştur

A–D: Aynı mikroalg ekstre tipi için farklı mantar türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmaktadır (p<0,05). Farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak anlamlıdır.

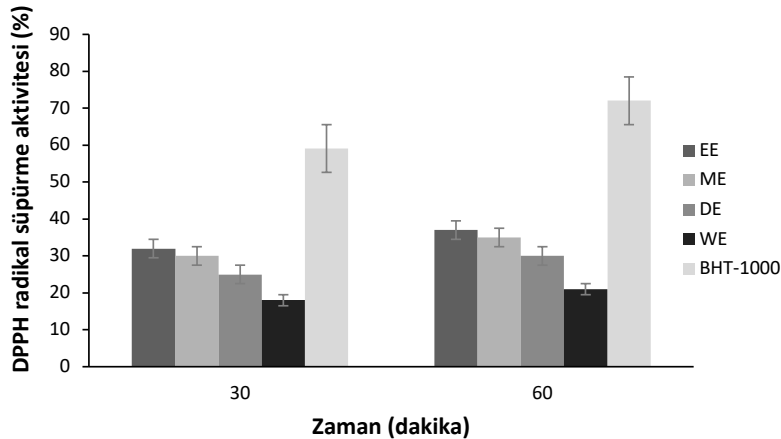
a–d: Aynı mantar türü için farklı uygulamalar (ekstre vs. kontrol grubu) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmaktadır (p<0,05). Farklı küçük harflerle gösterilen değerler arasında anlamlılık vardır.

sinde görülürken, en düşük miselyal büyüme 69,6 mm ile metanol ekstresinde gözlemlenmiştir (Şekil 5).

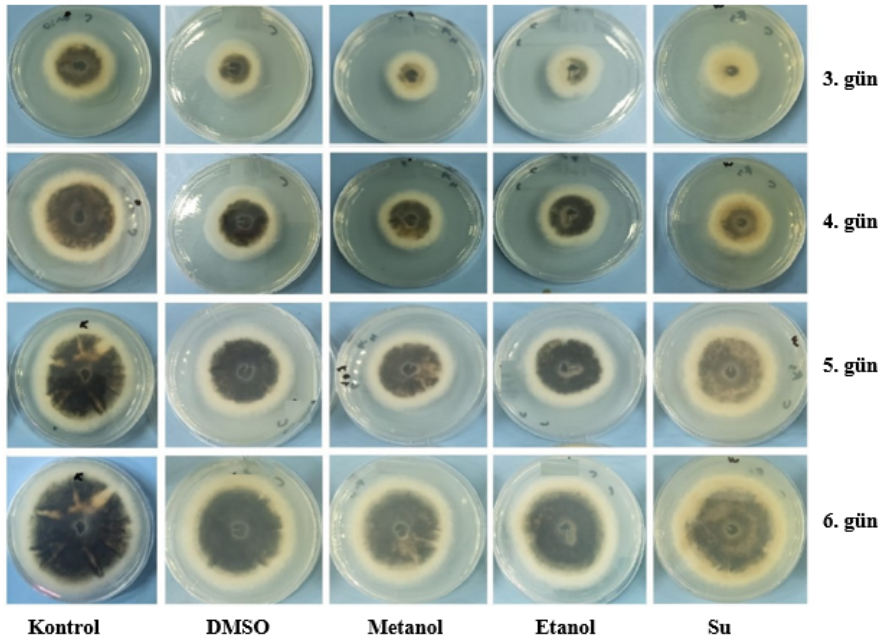
Polifenolik bileşikler, yüksek hidrofilik karakterleri nedeniyle birden fazla -OH grubu içermektedir ve bu sayede çözücülerde çok daha iyi çözünmektedir. Bu durum, polifenollerin su ekstresine kıyasla daha yüksek antifungal aktivite göstermesine neden olabilmektedir [42]. Buna ek olarak, mikroalgler yüksek oranda polar bileşikler içerdiklerinden, non-polar çözücüler en düşük ekstre verimini verecektir

[34, 36]. Diklorometan ve metanol ekstralarının, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere ve mantarlara karşı iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir [36]. Mikroalg ekstralarında bulunan fenolik ve terpenoid bileşiklerin, fungal miselyum büyümesini durdurduğu veya inhibe ettiği düşünülmektedir [42–44].

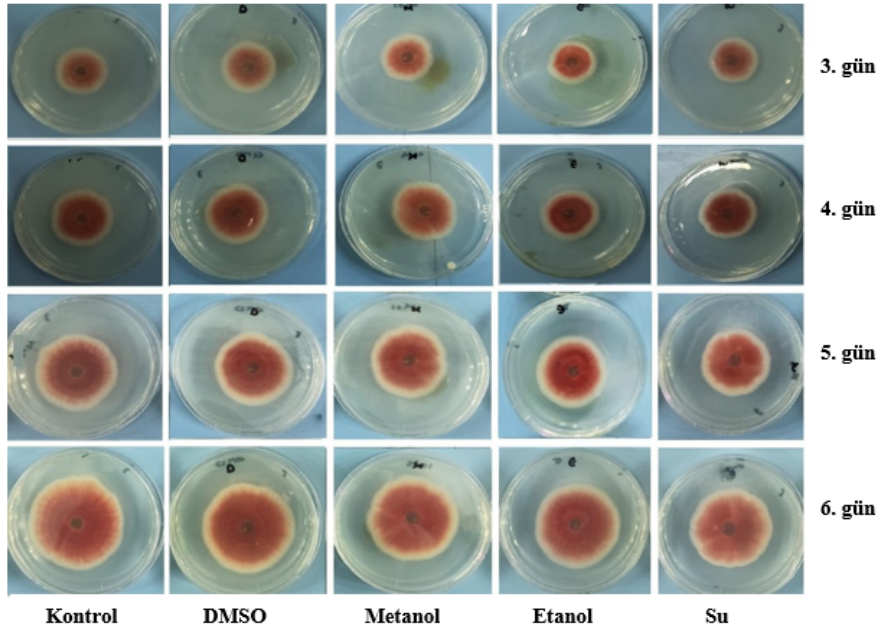
Literatürde, farklı mikroalg ekstralarının antifungal etkileri değerlendirilmektedir. Ghasemi ve ark. [12] eşitli mikroalglerin metanolik ve hekzan ekstralarını *C. kefyi*, *C. albicans*,



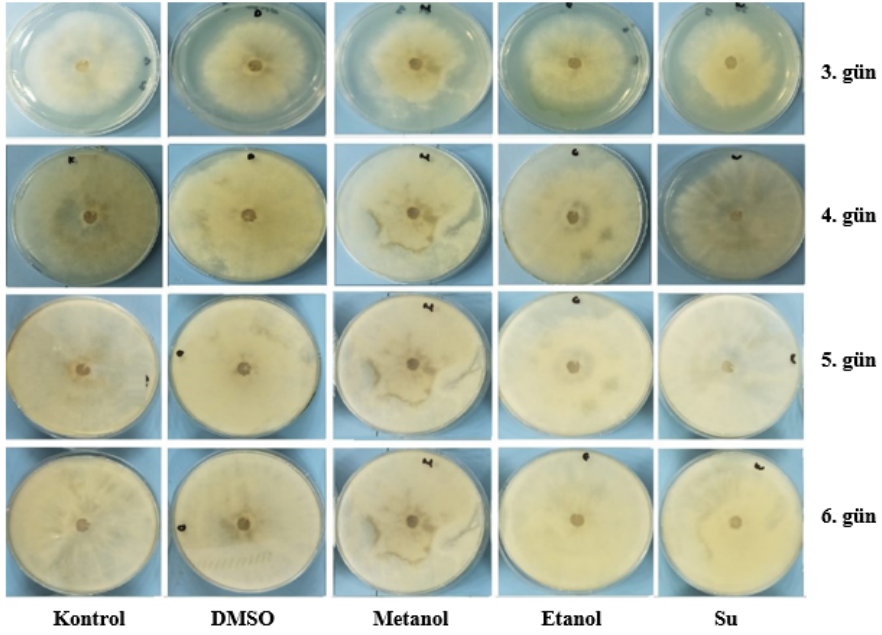
Şekil 1 *C. variabilis* mikroalginin etanolik (EE), metanolik (ME), DMSO'lu (DE) ve sulu (WE) ekstralarının antioksidan aktivitesi



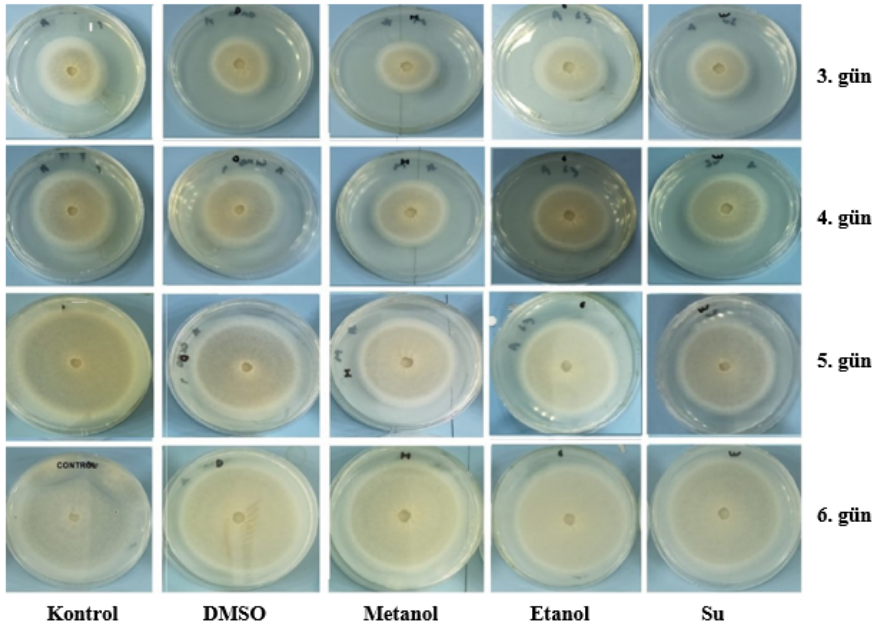
Şekil 2 Antarktik mikroalgi ekstrelerinin *C. gloeosporioides*'a karşı inhibisyonu



Şekil 3 Antarktik mikroalgi ekstrelerinin *F. oxysporum*'a karşı inhibisyonu



Şekil 4 Antarktik mikroalgi ekstrlerinin *B. cinerea*'ya karşı inhibisyonu



Şekil 5 Antarktik mikroalgi ekstrlerinin *A. niger*'e karşı inhibisyonu



A. niger ve *A. fumigatus*'a karşı test etmiş ve denenen birçok çözücü arasında yalnızca metanolik ekstrelerin anlamlı bir antifungal aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Santoyo ve ark. [13], *H. pluvialis*'in etanol ekstrelerini *C. albicans* ve *A. niger*'e karşı test etmiş ve tüm ekstrelerin *A. niger*'e karşı etkisiz olduğunu bildirmiştir. Ayrıca literatürde, Antarktika mikroalg türlerinin antifungal aktivite-lerini değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak, bazı Antarktika makroalg türleri antifungal özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Martins ve ark. [45] dört farklı makroalg türünün (*Cystosphaera jacquiniotii*, *Iridaea cordata*, *Himantothallus grandifolius* ve *Pyropia endiviifolia*) hekzan, kloroform, etil asetat ve etanol ekstreleri farklı *Candida* türlerine karşı test etmiştir. Bu çalışmada, *H. grandifolius*'un etil asetat ekstrelerinin çalışma kapsamında kullanılan diğer ekstreler arasında en dikkat çekici antifungal aktiviteyi gösterdiği rapor edilmiştir. Literatürdeki çalışmalar göz önüne alındığında, Antarktika mikroalg türlerinin antifungal uygulamalar açısından değerlendirilme potansiyeline sahip olduğu söylenebilmektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, literatürde bildirilen bazı bulgularla örtüşmektedir. Örneğin, Ghasemi ve ark. [12] tarafından bildirilen metanolik mikroalg ekstrelerinin antifungal etkisi, çalışmamızda da metanol ekstrelerinin bazı fungal türlerde inhibisyon göstermesiyle paralellik arz etmektedir. Buna karşılık, Santoyo ve ark. [13]'nın *A. niger* üzerinde etkisiz bulunduğu etanol ekstresi, bizim çalışmamızda sınırlı da olsa inhibisyon göstermiştir. Bu farklılık, kullanılan mikroalg türleri, ekstraksiyon yöntemi veya test edilen fungal suşlardaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca, Antarktika kökenli mikroalg türlerinin antifungal aktivitesine yönelik literatürde yeterli veri bulunmazken, çalışmamızda *C. variabilis* YTU. ANTARCTIC.001 türüne ait ekstrelerin bazı funguslara karşı belirgin inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir. Bu yönüyle çalışma, Antarktik mikroalglerin antifungal biyoyetkinlik potansiyelini ortaya koyarak, bu alanda yapılacak ileri araştırmalar için önemli bir öncül oluşturmuştur. Bu çalışmanın sonuçları, Antarktika kutup bölgesinde ekstrem koşullar altında yetişen mikroalg türlerinin bazı bakteri türleri ve mantarlara karşı umut verici antibakteriyel ve antifungal aktivite sergilediğini göstermektedir. Bu çalışmada, kutuptan izole edilen mikroalg hücre ekstrelerinin, ılıman bölgelerde yetişen makro ve mikroalg türlerine kıyasla Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı daha yüksek antibakteriyel aktivite ve fungal patojenlere karşı daha güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca mikroalgler, çevresel strese karşı hayatta kalma mekanizmaları olarak güçlü antioksidan özellikler gösterebilen sekonder metabolit-

ler üretirler bu sayede mikroalg ekstrelerinin endüstriyel alanda değerlendirilebileceğini öne sürülebilir. Elde edilen sonuçlar, Antarktika'dan izole edilen mikroalglerin güçlü antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahip olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Antarktika mikroalglerinin antimikrobiyal bileşiklerine ilişkin moleküler yapılarının belirlenmesine yönelik ileri araştırmalar, gelecekteki biyoteknolojik ve farmasötik uygulamalar açısından faydalı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- [1] Amaro, H. M., Guedes, A. C., & Malcata, F. X. (2011). Antimicrobial activities of microalgae: An invited review. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 2, 1272-1284.
- [2] Koçer, A. T., Mutlu, B., & Özçimen, D. (2020). Investigation of biochar production potential and pyrolysis kinetics characteristics of microalgal biomass. *Biomass Convers Biorefinery* 10, 85-94.
- [3] Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd_Allah, E. F. (2019). Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi journal of biological sciences*, 26(4), 709-722.
- [4] Babich, O., Sukhikh, S., Larina, V., Kalashnikova, O., Kashirskikh, E., Prosekov, A., & Dolganyuk, V. (2022). Algae: Study of edible and biologically active fractions, their properties and applications. *Plants*, 11(6), 780.
- [5] Bidigare, R. R., Ondrusek, M. E., Kennicutt, M. C., Iturriaga, R., Harvey, H. R., Hoham, R. W., & Macko, S. A. (1993). Evidence a photoprotective for secondary carotenoids of snow algae 1. *Journal of Phycology*, 29(4), 427-434.
- [6] Suh, S. S., Kim, S. M., Kim, J. E., Hong, J. M., Lee, S. G., Youn, U. J., & Kim, S. (2017). Anticancer activities of ethanol extract from the Antarctic freshwater microalga, Botrydiopsisaceae sp. *BMC complementary and alternative medicine*, 17, 1-9.
- [7] da Silva Vaz, B., Moreira, J. B., de Moraes, M. G., & Costa, J. A. V. (2016). Microalgae as a new source of bioactive compounds in food supplements. *Current opinion in food science*, 7, 73-77.
- [8] Pratt, R., Daniels, T. C., Eiler, J. J., Gunnison, J. B., Kumler, W. D., Oneto, J. F., & Strain, H. H. (1944). Chlorellin, an antibacterial substance from *Chlorella*. *Science*, 99(2574), 351-352.
- [9] Navarro, F., Forján, E., Vázquez, M., Toimil, A., Montero, Z., Ruiz Domínguez, M. D. C., & Vega, J. M. (2017). Antimicrobial activity of the acidophilic eukaryotic microalga *Coccomyxa onubensis*. *Phycological Research*, 65(1), 38-43.
- [10] Vehapi, M., Yilmaz, A., & Özçimen, D. (2018). Antifungal activities of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella minutissima* microalgae cultivated in Bold Basal medium, wastewater and tree extract water against *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*. *Rom. Biotechnol. Lett.*, 1, 1-8.

- [11] Fabregas, J., Garcia, D., Fernandez-Alonso, M., Rocha, A. I., Gómez-Puertas, P., Escribano, J. M., & Coll, J. M. (1999). *In vitro* inhibition of the replication of haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) and African swine fever virus (ASFV) by extracts from marine microalgae. *Antiviral research*, 44(1), 67-73.
- [12] Ghasemi, Y., Moradian, A., Mohagheghzadeh, A., Shokravi, S., & Morovat, M. H. (2007). Antifungal and antibacterial activity of the microalgae collected from paddy fields of Iran: characterization of antimicrobial activity of *Chroococcus dispersus*. *Journal of Biological Sciences*, 7(6), 904-910.
- [13] Santoyo, S., Rodríguez-Meizoso, I., Cifuentes, A., Jaime, L., Reina, G. B., Señorans, F. J., & Ibáñez, E. (2009). Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. *LWT-Food Science and Technology*, 42(7), 1213-1218.
- [14] Schuelter, A. R., Kroumov, A. D., Hinterholz, C. L., Fiorini, A., Trigueros, D. E. G., Vendruscolo, E. G., & Módenes, A. N. (2019). Isolation and identification of new microalgae strains with antibacterial activity on food-borne pathogens. Engineering approach to optimize synthesis of desired metabolites. *Biochemical Engineering Journal*, 144, 28-39.
- [15] Bhagavathy, S., Sumathi, P., & Bell, I. J. S. (2011). Green algae *Chlorococcum humicola*-a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(1), 1-7.
- [16] Teoh, M. L., Chu, W. L., Marchant, H., & Phang, S. M. (2004). Influence of culture temperature on the growth, biochemical composition and fatty acid profiles of six Antarctic microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 16, 421-430.
- [17] Cebi, N., Arici, M., & Sagdic, O. (2021). The famous Turkish rose essential oil: Characterization and authenticity monitoring by FTIR, Raman and GC-MS techniques combined with chemometrics. *Food chemistry*, 354, 129495.
- [18] Brands-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- [19] Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- [20] Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.
- [21] Vehapi, M., Koçer, A. T., Yılmaz, A., & Özçimen, D. (2020). Investigation of the antifungal effects of algal extracts on apple-infecting fungi. *Archives of microbiology*, 202, 455-471.
- [22] Suh, S. S., Hong, J. M., Kim, E. J., Jung, S. W., Kim, S. M., Kim, J. E., & Kim, S. (2018). Anti-inflammation and anti-cancer activity of ethanol extract of antarctic freshwater microalga, *Micractinium* sp. *International journal of medical sciences*, 15(9), 929-936.
- [23] Goiris, K., Muylaert, K., Fraeye, I., Foubert, I., De Brabanter, J., & De Cooman, L. (2012). Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *Journal of applied phyco-logy*, 24, 1477-1486.
- [24] Vijayavel, K., Anbuselvam, C., & Balasubramanian, M. P. (2007). Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 303, 39-44.
- [25] Gürlek, C., Yarkent, Ç., Köse, A., Tuğcu, B., Gebeloğlu, I. K., Öncel, S. Ş., & Elibol, M. (2020). Screening of antioxidant and cytotoxic activities of several microalgal extracts with pharmaceutical potential. *Health and Technology*, 10, 111-117.
- [26] Azaman, S. N. A., Nagao, N., Yusoff, F. M., Tan, S. W., & Yeap, S. K. (2017). A comparison of the morphological and biochemical characteristics of *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella zofingiensis* cultured under photoautotrophic and mixotrophic conditions. *PeerJ*, 5, e3473.
- [27] Ali, H. E. A., Shanab, S. M. M., Abo-State, M. A. M., Shalaby, E. A. A., Eldmerdash, U., & Abdullah, M. A. (2014). Screening of microalgae for antioxidant activities, carotenoids and phenolic contents. *Applied mechanics and materials*, 625, 156-159.
- [28] Gilbert, R. J., Stringer, M. F., & Peace, T. C. (1974). The survival and growth of *Bacillus cereus* in boiled and fried rice in relation to outbreaks of food poisoning. *Epidemiology & Infection*, 73(3), 433-444.
- [29] Kausalya, M., & Rao, G. N. (2015). Antimicrobial activity of marine algae. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 6(1), 78-87.
- [30] Tüney, İ., Cadirci, B. H., Ünal, D., & Sukatar, A. (2006). Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 30(3), 171-175.
- [31] Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., Avalo, B., Cifuentes, A., Reglero, G., & Ibáñez, E. (2012). Comprehensive characterization of the functional activities of pressurized liquid and ultrasound-assisted extracts from *Chlorella vulgaris*. *LWT-Food Science and Technology*, 46(1), 245-253.
- [32] Suresh, A., Praveenkumar, R., Thangaraj, R., Oscar, F. L., Baldev, E., Dhanasekaran, D., & Thajuddin, N. (2014). Microalgal fatty acid methyl ester a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, 979-984.
- [33] Stirk, W. A., & van Staden, J. (2022). Bioprospecting for bioactive compounds in microalgae: Antimicrobial compounds. *Biotechnology advances*, 59, 107977.
- [34] Karthika, N., & Muruganandam, A. (2019). Bioactive compounds and antimicrobial activity of cyanobacteria from south east coast of India. *International Journal of Current Research in Life Sciences*, 8(1), 3027-3030.
- [35] Saad, M. G., Abdu, M., Shafik, H. M., Marwa, C., & Saad, G. (2019). Phytochemical screening and antimicrobial activities of some green algae from Egypt. *J. Med. Plants Stud*, 7, 12-16.
- [36] Alghanmi, H. A., & Omran, A. S. (2020). Antibacterial activity of ethanol extracts of two algae species against some pathogenic bacteria



isolated from hospital patients. *EurAsian Journal of BioSciences*, 14(1), 383.

- [37] Uma, R., Sivasubramanian, V., & Niranjali Devaraj, S. (2011). Preliminary phycochemical analysis and *in vitro* antibacterial screening of green micro algae, *Desmococcus olivaceous*, *Chlorococcum humicola* and *Chlorella vulgaris*. *J Algal Biomass Utiln*, 2(3), 74-81.
- [38] Bai, V. D. M., & Krishnakumar, S. (2013). Evaluation of antimicrobial metabolites from marine microalgae *Tetraselmis suecica* using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5(3), 17-23.
- [39] Asthana, R. K., Deepali, Tripathi, M. K., Srivastava, A., Singh, A. P., Singh, S. P., & Srivastava, B. S. (2009). Isolation and identification of a new antibacterial entity from the *Antarctic cyanobacterium* Nostoc CCC 537. *Journal of applied phycology*, 21, 81-88.
- [40] Biondi, N., Tredici, M. R., Taton, A., Wilmotte, A., Hodgson, D. A., Losi, D., & Marinelli, F. (2008). Cyanobacteria from benthic mats of Antarctic lakes as a source of new bioactivities. *Journal of applied microbiology*, 105(1), 105-115.
- [41] Elvedal, I. (2018). *Bioactivity Potential of an Arctic Marine Diatom Species Cultivated at Different Conditions* (Master's thesis, UiT The Arctic University of Norway).
- [42] Özçimen, D. (2018). Investigation of antifungal effect of *Chlorella protothecoides* microalgae oil against *Botrytis cinerea* and *Aspergillus niger* fungi. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 15(2), 45-52.
- [43] de Morais, M. G., Vaz, B. D. S., de Morais, E. G., & Costa, J. A. V. (2015). Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *BioMed research international*, 2015(1), 835761.
- [44] Oh, B. T., Jeong, S. Y., Velmurugan, P., Park, J. H., & Jeong, D. Y. (2017). Probiotic-mediated blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruit fermentation to yield functionalized products for augmented antibacterial and antioxidant activity. *Journal of bioscience and bioengineering*, 124(5), 542-550.
- [45] Martins, R. M., Nedel, F., Guimarães, V. B., Da Silva, A. F., Colepicolo, P., De Pereira, C. M., & Lund, R. G. (2018). Macroalgae extracts from Antarctica have antimicrobial and anticancer potential. *Frontiers in microbiology*, 9, 412.

The Determination of Antibacterial Activities of Herbal-Infused Syrups Recommended for Use as Food Supplements

Gıda Takviyesi Olarak Kullanımı Tavsiye Edilen Bitkisel İçerikli Şurupların Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi

Abstract

Aim: The study aimed to determine the antibacterial activities of herbal syrups sold as dietary supplements in pharmacies on various Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Materials and Methods: In the study, the well diffusion and broth microdilution methods were used to determine the antibacterial activities of 3 different herbal syrups recommended for use in adults against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Bacillus cereus* ATCC 14579, while 3 different herbal syrups recommended for use as dietary supplements in children between the ages of 4-11 were examined against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Results: According to the results of the study, all three of the herbal syrups recommended for adults and only one of the herbal syrups recommended for children showed antibacterial activity against the bacteria used in the study. When the data obtained from the methods used to determine antibacterial activity in the study were compared, it was determined that antimicrobial activity could not be detected with the well diffusion method, while syrups containing different herbal ingredients had antibacterial activity in various dilutions on different bacteria with the broth microdilution method.

Conclusion: Study results indicate that herbal syrups recommended for use as dietary supplements have antibacterial activities on Gram-positive and Gram-negative bacteria that can cause various infectious diseases. In addition, the findings obtained from the study reveal the importance of the method used to determine the antibacterial activity. According to the study results, it was determined that the well diffusion method was not sufficient to detect antibacterial activity. The broth microdilution method has been determined to be a more sensitive method than the well diffusion method, as it can detect the antibacterial activities of pharmaceutical products in different concentrations.

Keywords: Antibacterial activity, herbal dietary supplements, well diffusion method, broth microdilution method

Özet

Amaç: Çalışmada eczanelerde gıda takviyesi olarak satılan bitkisel içerikli şurupların çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki antibakteriyel aktivitelerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kuyu difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile yetişkinlerde kullanımı tavsiye edilen 3 farklı bitkisel içerikli şurubun *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Bacillus cereus* ATCC 14579 bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri incelenirken, 4-11 yaş arası çocuklarda kullanımı tavsiye edilen 3 farklı bitkisel içerikli şurubun ise *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir.

2025, 1(1) 21-27

Cansu VATANSEVER^{1*}

CV: 0000-0002-2751-1033

Ipek Ada ALVER²

İAA: 0000-0003-4787-8171

¹ Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Pharmacy, Altınbas University, Istanbul, Türkiye

² Department of Operating Room Services, Vocational of Health School, Altınbas University, Istanbul, Türkiye

*Bahsi geçen çalışma 13. Uluslararası Akademik Araştırmalar Kongresi'nde (07-08 Mayıs 2024) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Received/Geliş Tarihi:

25.02.2025

Accepted/Kabul Tarihi:

03.04.2025

Conflict of interest

The authors declared no conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Ethical approval

This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author:

Cansu VATANSEVER

E-posta:

cansu.vatansever@altinbas.edu.tr

This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License





Bulgular: Çalışma sonuçlarına göre yetişkinlerde kullanımı tavsiye edilen bitkisel içerikli şurupların hepsinin, çocuklarda kullanımı tavsiye edilen bitkisel şurupların ise yalnızca bir tanesinin çalışmada kullanılan bakteriler üzerinde antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada antibakteriyel aktivitenin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden elde edilen veriler karşılaştırıldığında kuyu difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite tespit edilemezken sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile farklı bitkisel içerikli şurupların farklı bakteriler üzerinde çeşitli konsantrasyonlarda antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.

Sonuç: Çalışma sonuçları gıda takviyesi olarak kullanımı tavsiye edilen bitkisel şurupların çeşitli enfeksiyon hastalıklarına neden olabilecek Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde antibakteriyel aktivitelerinin mevcut olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca çalışmadan elde edilen bulgular söz konusu antibakteriyel aktivitenin belirlenmesinde kullanılan yöntemin de önemini ortaya koymaktadır. Çalışma sonuçlarına göre kuyu difüzyon yönteminin antibakteriyel aktivitenin tespit edilmesinde yeterli olmadığı tespit edilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi, farmasötik ürünlerin farklı konsantrasyonlarının antibakteriyel aktivitelerini tespit etmekle birlikte, kuyu difüzyon yöntemine göre daha duyarlı bir yöntem olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Antibakteriyel aktivite, bitkisel içerikli gıda takviyeleri, kuyu difüzyon yöntemi, sıvı mikrodilüsyon yöntemi

1. Introduction

In recent years, the increasing resistance to antibiotics used in the treatment of infectious diseases has led to the use of alternative products with antibacterial activities. The most important products used for this purpose are pharmaceutical products with herbal ingredients. Various herbal-based pharmaceutical products, including essential oils, have been reported to exhibit antimicrobial activity against bacteria, yeasts, and molds [1,2]. According to the World Health Organisation (WHO), approximately 20,000 medicinal plants have been approved and used for therapeutic purposes. Also, they are classified as Safe Food Assessment (SFA) [3]. The demand for herbal pharmaceutical products is increasing day by day due to their low cost, lack of side effects, low toxicity and natural composition [4]. Medicinal plants contain various bioactive compounds, including flavonoids, alkaloids, terpenoids, tannins, berberine, quinine, and emetines, which are widely utilised in the treatment of infectious diseases [5]. An increase in the number of multi-drug-resistant bacteria causes difficulties in the treatment of infectious diseases. Therefore, the use of medicinal plants with antimicrobial activity is recommended as an alternative therapeutic agent to conventional antimicrobial drugs [6]. Studies have reported that the therapeutic effects of medicinal plants are caused by the synergistic effect of multiple compounds rather than a single active ingredient, and these plants can be used effectively in the treatment of infectious diseases [7,8]. In light of these findings, recent research has focused on

identifying inhibitory compounds from natural antimicrobial agents derived from plant extracts [9].

The broth microdilution method, the well diffusion method, and the disk diffusion method are widely used for the evaluation of the antimicrobial activity of herbal pharmaceutical products. These methods are reference methods for antimicrobial susceptibility testing. In dilution-based tests, the lowest concentration of antimicrobial agent that visibly inhibits bacterial growth is determined as the "Minimal Inhibitory Concentration (MIC)", which indicates the concentration required to inhibit microbial growth [10].

The aim of the study was to determine the antibacterial activities of herbal syrups sold as food supplements in pharmacies on various Gram-positive and Gram-negative bacteria. Additionally, the study sought to compare the effectiveness of the broth microdilution method and the well diffusion method in evaluating the antibacterial susceptibility of these herbal products.

2. Materials and methods

The study was conducted in two groups, and in the first group, 3 different herbal syrups recommended for use as food supplements in adults were used. The antibacterial activities of herbal syrups recommended for adults were investigated on *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Bacillus cereus* ATCC 14579, bacteria frequently encountered in adults' infections.

Table 1 Herbal contents of syrups recommended for use in adults

Herbal syrup recommended for use in adults	Herbal content
Herbal syrup-A	Echinacea, plantain, grape, thyme
Herbal syrup-B	Thyme, marshmallow, liquorice root, linden flower, ginger
Herbal syrup-C	Thyme, primrose

Table 2 Herbal contents of syrups recommended for use in children

Herbal syrup recommended for use in children	Herbal content
Herbal syrup-D	Black elderberry
Herbal syrup-E	Thyme, linden, marshmallow, carob
Herbal syrup-F	Liquorice root, basil, galania, turmeric, fructus piperis nigri, mint, ginger, grape, white turmeric, black pepper

In the second group, 3 different herbal syrups recommended as food supplements for children aged 4-11 were used. The antibacterial activities of herbal syrups recommended for use in children were investigated on *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, bacteria frequently encountered in children's infections.

The broth microdilution and the well diffusion methods were used to determine the antibacterial activities of herbal syrups.

2.1.1 The Broth Microdilution Method

Minimum inhibitory concentration (MIC) values of herbal syrups were determined using the broth microdilution method recommended for antibiotics by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [11]. In the antibacterial activity tests of herbal syrups, firstly, a single colony was taken from 24-hour bacterial cultures and

transferred to Mueller Hinton broth and adjusted to the McFarland 0.5 turbidity standard with a spectrophotometer. Then, the bacterial count was standardised to 10^5 bacteria/ml with necessary dilutions. 200 µl of herbal syrup was placed in the first well of the 96-well round-bottom microplate. Subsequently, 100 µl of Mueller Hinton broth was placed in each of the following wells. Serial dilution was performed in the wells by transferring 100 µl of sample taken from the first well to the next well, and herbal syrup was diluted 2-fold in each well. The last well, numbered 12, was not included in the serial dilution process and was used as a negative control. Then, 10 µl of bacterial suspension was added to all wells and incubated for 24 hours at 37°C. At the end of the incubation period, the lowest concentration at which there was no growth was determined as the MIC. Cefepime antibiotic was used as a positive control in the study, and the studies were performed in three replicates.

2.1.2 The Well Diffusion Method

The disc diffusion method was performed with some modifications of previous studies that were conducted to determine the antibacterial activity of herbal products [12,13]. A single colony was taken from 24-hour bacterial cultures and transferred to Mueller Hinton broth and adjusted to the McFarland 0.5 turbidity standard by spectrophotometer. Then, the bacterial count was standardised to 10^5 bacteria/ml with necessary dilutions. 100 μ l of the bacterial suspensions were inoculated on Mueller Hinton agar using the spread plate culture method. Wells were opened with glass pipettes on the medium. 20 μ l of herbal syrup, 20 μ l of antibiotic as a positive control and 20 μ l of sterile physiological water as a negative control were added to the wells on the medium. Afterwards, the media were incubated at 37°C for 24 hours. At the end of the incubation period, the inhibition zone diameters around the wells were measured. The studies were carried out in three replicates.

3. Results

According to the study results, it was found that all three herbal syrups recommended for use in adults have antibacterial activity on the bacteria used in the study. Among the syrups recommended for use in adults, the syrup with the highest antibacterial activity at the highest dilution was the herbal syrup-A, and it has shown its antibacterial activity on *E. coli* with 12.5% dilution (Table 3). The study results showed that the only syrup that demonstrated antibacterial activity against all tested bacteria was herbal syrup-C (Table 3). Additionally, it was determined that thyme is the common ingredient in syrups recommended for both adults and children that exhibited antibacterial activity (Tables 3, 4).

According to the results of the study, it was detected that only one of the herbal syrups recommended for use in children has antibacterial activity on the bacteria used in the study. Among these syrups, only herbal syrup-E demonstrated antibacterial effects,

Table 3 MIC values of syrups recommended for use in adults according to broth microdilution method

	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579
Herbal syrup-A	12.5% dilution	Direct	25% dilution	50% dilution
Herbal syrup-B	50% dilution	50% dilution	Direct	25% dilution
Herbal syrup-C	50% dilution	50% dilution	25% dilution	50% dilution

Table 4 MIC values of syrups recommended for use in children according to the broth microdilution method

	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
Herbal syrup-D	-	-	-	-
Herbal syrup-E	25% dilution	25% dilution	6.25% dilution	0.78% dilution
Herbal syrup-F	-	-	-	-

showing higher dilution efficacy against Gram-positive bacteria compared to Gram-negative bacteria (Table 4). When comparing Gram-positive bacteria, it was observed that herbal syrup-E maintained its antibacterial effect against *E. faecalis* even at higher dilutions (0.78%) compared to *S. aureus* (Table 4).

According to the study results, differences were detected in terms of results among the methods used to determine antibacterial activity. While antibacterial activity could not be detected in any of the herbal syrups with the well diffusion method, antibacterial activity was detected in some herbal syrups analysed with the broth microdilution method.

4. Discussion

Nowadays, the increased side effects of antibiotics and the development of multi-drug-resistant bacteria against pharmaceutical antimicrobial products increased the importance of natural herbal products and food supplements containing these substances in the treatment of infectious diseases. Plants used in traditional medicine have begun to take their place in research as new antimicrobial compounds because they are considered natural, low-cost, lacking ecotoxic side effects, therapeutic and safe [14]. There are various studies showing the antimicrobial activities of these aromatic and medicinal plants [15-17]. Since bacteria develop resistance to antibiotics, it is believed that this global problem can be prevented by the antimicrobial activities of secondary metabolites (such as phenolic compounds, flavonoids, alkaloids) found in plants [18]. For this reason, numerous studies have focused on identifying the antioxidant and antimicrobial components of different herbal products [19-21].

According to the results of the study, it was found that herbal syrups recommended for use as food supplements have antibacterial activities on Gram-positive and Gram-negative bacteria that can cause various infectious diseases. Furthermore, thyme was identified as the common ingredient in the syrups with antibacterial activity for both adults and children. Therefore, it is thought that the detected antibacterial activity is mostly caused by thyme. The study findings align with previous studies on thyme. In the study conducted by Con et al., they tested the antimicrobial activity of essential oils obtained from six different plants against *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus plantarum*, *Yersinia enterocolitica*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Micrococcus luteus* and determined that thyme has the highest antimicrobial activity against the tested bacteria [22]. Sagdic et al. conducted a study on the inhibition of *E. coli* O157:H7 growth by seven plant

extracts (cumin, thyme, bay leaf, myrtle leaf, *Helichrysum compactum* Boiss known as everlasting, marjoram, and laurel) and found that thyme and marjoram showed higher antimicrobial activity [23]. Other studies have also demonstrated the antimicrobial effects of thyme oil extracts, with results comparable to those of the study [24-26].

The study results indicate that, among the syrups recommended for use in children, only herbal syrup-E showed antibacterial activity, showing higher dilution efficacy against Gram-positive bacteria than Gram-negative bacteria. Previous studies have shown that Gram-positive bacteria are generally more sensitive to herbal products than Gram-negative bacteria. In a study, the antibacterial effects of 46 medicinal plants and spice extracts were tested on 5 foodborne pathogenic bacteria (*B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* and *Salmonella anatum*), and as a result of the study, it was determined that Gram-positive bacteria were more sensitive than Gram-negative bacteria, and the most resistant bacterium was *E. coli* and the most sensitive bacterium was *S. aureus* [27]. In the study conducted by El Astal et al., it was reported that thyme extracts showed antibacterial activity against *S. aureus* and *Enterococcus sp.* [28]. According to the results of the study, it was detected that among the syrups recommended for use in children, herbal syrup-E exhibited the highest antibacterial activity against *E. faecalis* at a 0.78% dilution and against *S. aureus* at a 6.25% dilution. These dilutions are higher than Gram-negative bacteria.

In another study, the antibacterial activities of 16 herbs hydrosols (anise, basil, cumin, dalmatian sage, dill, fennel, laurel, mint, oregano, pickling herb, rosemary, sage, summer savoury, sea fennel, sumac and black thyme were) tested against 15 bacteria and as a result of the study, it was determined that anise, cumin, marjoram, savoury (thyme), thyme hydrosols showed antibacterial activity and the highest antibacterial activity belonged to marjoram and savoury (thyme) [29]. According to the results of the study, considering the dilution ratio of syrup, most effective herbal syrup for adults is herbal syrup-A, and it contains echinacea, plantain, grape, thyme and only one effective herbal syrup for children is herbal syrup-E and it contains thyme, linden, mallow flower, and carob. These results reveal that many different herbal products have antibacterial effects on a wide variety of bacteria.

In another study, they investigated the antimicrobial activity of 16 types of plants against *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* and *Salmonella infantis* using the disk diffusion method and determined that the most

sensitive microorganism was *B. cereus* [30]. According to the results of the study, growth of *B. cereus* was inhibited with all herbal syrups recommended for adults, with herbal syrup-B specifically inhibiting *B. cereus* at a 25% dilution.

When comparing the methods used to determine antibacterial activity, it was found that while the well diffusion method failed to detect antimicrobial activity, the broth microdilution method revealed antibacterial effects of different herbal syrups at various dilutions. It is thought that the reason for this difference is likely due to the amount of herbal syrup and/or antimicrobial substance used in the broth microdilution method as well as the limited diffusion of antimicrobial metabolites from herbal syrups in the well diffusion method [31, 32].

References

- [1] Ozturk, B.Y. (2019). Intracellular and extracellular green synthesis of silver nanoparticles using *Desmodium sp.*: Their antibacterial and antifungal effects. *Caryologia: International journal of cytology, cytosystematics and cytogenetics*, 72(1), 29-43.
- [2] Goel, N., Rohilla, H., Singh, G., & Punia, P. (2016). Antifungal activity of cinnamon oil and olive oil against *Candida spp.* isolated from blood stream infections. *Journal of clinical and diagnostic research*, 10(8), 9-11.
- [3] Magi, G., Marini, E., & Facinelli, B. (2015). Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A Streptococci. *Frontiers in microbiology*, 6, 165.
- [4] Sekar, S. and Kandavel, D. (2010). Interaction of plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) and endophytes with medicinal plants-New Avenues for Phytochemicals. *Journal of phytochemistry*, 2, 91-100.
- [5] Hussain, T., Arshad, M., Khan, S., Satar, H., & Qureshi, M.S. (2011). *In vitro* screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity. *Pakistan journal of botany*, 43, 531-538.
- [6] Yarnell, E. and Abascal, K. (2004). The leading publisher in biotechnology. *Alternative & complementary therapies Part 2*, 10(5), 277- 284.
- [7] Faydaoglu, E. and Surucuoglu, M. (2013). Tibbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. *Erzincan university journal of science and technology*, 6(2), 233-265.
- [8] Shanthi Sree, K.S., Yasodamma, N., & Paramageetham, C.H. (2010). Phytochemical screening and *in vitro* antibacterial activity of the methanolic leaf extract: *Sebastiania chamaelea* Müell. Arg. *The bioscan*, 5, 173-175.
- [9] Dash, B.K., Sultana, S., & Sultana, N. (2011). Antibacterial activities of methanol and acetone extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum*) and Coriander (*Coriandrum sativum*). *International journal of life sciences and medicinal research*, 27, 1-8.
- [10] Jones, R.N. (2006). Microbiological features of vancomycin in the 21st century: minimum inhibitory concentration creep, bactericidal/static activity, and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains. *Clinical infectious diseases*, 42(1), 13-24.
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30th ed. 2020.
- [12] Cui, Z. H., He, H.L., Wu, S.B.; Dong, C.L., Lu, S.Y., Shan, T.J., Fang, L.X., Liao, X.P., Liu, Y.H., & Sun, J. (2021). Rapid screening of essential oils as substances which enhance antibiotic activity using a modified well diffusion method. *Antibiotics*, 10(463), 1-11.
- [13] Mirtaghi, S.M., Torbati Nejad, P.T., Mazandarani, M., Livani, F., & Bagheri, H. (2016). Evaluation of antibacterial activity of *Urtica dioica* L. leaf ethanolic extract using agar well diffusion and disc diffusion methods. *Medical laboratory journal*, 10(5), 15-21.
- [14] Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*, 9(10), 2041.
- [15] Jaafreh, M., Khleifat, K. M., Qaralleh, H., & Al-limoun, M. O. (2019). Antibacterial and Antioxidant Activities of *Centeurea damasceana* Methanolic Extract. *arXiv preprint arXiv:1911.02243*.
- [16] ALrawashdeh, I. N., Qaralleh, H., Al-limoun, M. O., & Khleifat, K. M. (2019). Antibacterial activity of *Asteriscus graveolens* methanolic extract: synergistic effect with fungal mediated nanoparticles against some enteric bacterial human pathogens. *arXiv preprint arXiv:1911.02245*.
- [17] Fazlul, M., Deepthi, S.P., & Irfan, M. (2019). Antibacterial and antifungal activity of various extracts of *Bacopa monnieri*. *arXiv preprint arXiv:1909.01856*.
- [18] Bazargani, M.M., and Rohloff, J. (2016). Antibiofilm activity of essential oils and plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilms. *Food control*, 61, 156-164.
- [19] Yetgin, A., Senturan, M., Benek, A., Efe, E., & Canlı, K. (2017). *Pterigynandrum filiforme* Hedw. türünün antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Anatolian bryology*, 3(1), 43-47.
- [20] Kirca, A., Bilisli, A., Demirel, N.N., Turhan, H., & Arslan, E. (2007). Çanakkale florasındaki bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri. Tübitak proje, (104).
- [21] Avsar, C., Keskin, H., & Berber, I. (2016). Hastane enfeksiyonlarından izole edilen mikroorganizmalara karşı bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi. *International journal of pure and applied sciences*, 2(1), 22-29.
- [22] Con, A.H., Ayar, A., & Gokalp, H.Y. (1998). Bazı baharat uçucu yağlarının çeşitli bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi. *Gıda*, 23(3), 171-175.
- [23] Sagdic, O., Kuscü, A., Özcan, M., & Özcelik, S. (2002). Effect of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *E. coli* O157:H7. *Food microbiology*, 19(5), 473-480.

- [24] Sagdic, O. (2003). Sensitivity of four patogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensmittel wissenschaft und technologie*, 36, 467-473.
- [25] Cosentino, S.C.I.G., Tuberose, C.I.G., Pisano, B., Satta, M.L., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F. (1999). *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Letters in applied microbiology*, 29(2), 130-135.
- [26] Briozzo, J., Núñez, L., Chirife, J., Herszage, L., & D'aquino, M. (1989). Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution. *Journal of applied bacteriology*, 66(1), 69-75.
- [27] Shan, B., Cai, Y., Brooks, J.D. & Corke, H. (2007). The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International journal of food microbiology*, 117, 112-119.
- [28] El Astal, Z.Y., Aera, A., & Aam, A. (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts in Palestine. *Pakistan journal of medical sciences*, 21(2), 187-193.
- [29] Sagdic, O., Ozcan, M., & Ozcelik, S. (2003). Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food control*, 14(3), 141-143.
- [30] Choyam, S., Lokesh, D., Kempaiah, B.B., & Kammara, R. (2015). Assessing the antimicrobial activities of Ocins. *Frontiers in microbiology*, 6, 1034.
- [31] Halder, D., Mandal, M., Chatterjee, S.S., Pal, N.K., & Mandal, S. (2017). Indigenous probiotic *Lactobacillus* isolates presenting antibiotic like activity against human pathogenic bacteria. *Biomedicine*, 5(2), 31.
- [32] Ripamonti, B., Agazzi, A., Bersani, C., De Dea, P., Pecorini, C., Pirani, S., Rebucci, R., Savoini, G., Stella, S., Stenico, A., Tirloni, E., Domeneghini, C. (2011). Screening of species-specific lactic acid bacteria for veal calves multi-strain probiotic adjuncts, *Anaerobe*, 17, 97-105.

Antibacterial activity of *Phlomis fruticosa* L. plant extracts

Phlomis fruticosa L. bitki ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi

Abstract

Aim: This study aimed to determine the antibacterial activities of extracts obtained from the *Phlomis fruticosa* plant.

Materials and methods: Petroleum ether, ethyl acetate, methanol, and methanol:water (70:30) extracts were obtained from *Phlomis fruticosa* plant by the Soxhlet method. The antibacterial activity of the extracts was determined using the disc diffusion method. Antibacterial activity was started at a concentration of 50 mg/disc. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were used in the antibacterial activity tests.

Results: It was determined that the methanol extract showed the highest activity on *Pseudomonas aeruginosa* bacteria among the four extracts by forming a zone diameter of 25 mm. Other extracts were found to have inhibition zone diameters in the 6-12 mm range against the tested bacteria.

Conclusion: In this study, the antibacterial activity of petroleum ether, ethyl acetate, and methanol:water extracts of *P. fruticosa* was studied for the first time. Since the methanol extract has a high inhibition zone diameter against *P. aeruginosa* bacteria, the bioactive compounds responsible for this activity should be investigated in future studies.

Keywords: *Phlomis fruticosa*, extract, antibacterial activity, the disc diffusion method, Soxhlet extraction

Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı, *Phlomis fruticosa* bitkisinden elde edilen ekstraktların antibakteriyel aktivitelerini belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: *Phlomis fruticosa* bitkisinden Soxhlet yöntemi ile petrol eteri, etil asetat, metanol ve metanol:su (70:30) ekstraktları elde edilmiştir. Ekstraktların antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Antibakteriyel aktivite testi 50 mg/disk konsantrasyonda başlatılmıştır. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri antibakteriyel aktivite testlerinde kullanılmıştır.

Bulgular: Dört ekstre içinde metanol ekstresinin 25 mm zon çapı oluşturarak *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi üzerinde en yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Diğer ekstraktların test edilen bakterilere karşı 6-12 mm aralığında inhibisyon zon çaplarına sahip olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada, *P. fruticosa* bitkisinin petrol eteri, etil asetat ve metanol:su ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi ilk defa çalışılmıştır. Metanol ekstresinin *P. aeruginosa* bakterisine karşı yüksek inhibisyon zon çapına sahip olması nedeniyle aktiviteden sorumlu biyoaktif bileşiklerin ileriki çalışmalarda araştırılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Phlomis fruticosa*, ekstre, antibakteriyel aktivite, disk difüzyon yöntemi, Soxhlet ekstraksiyonu

2025, 1(1) 28-32

Betül BUDAK¹

Esra YILDIRIM SERVİ^{2*}

EYS: 0000-0001-5094-5828

¹ School of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, İstanbul Yeni Yüzyıl University, İstanbul, Türkiye

² Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Engineering and Natural Sciences, İstanbul Sabahattin Zaim University, İstanbul, Türkiye

Received/Geliş Tarihi:

10.03.2025

Accepted/Kabul Tarihi:

06.04.2025

Conflict of interest

The authors declared no conflicts of interest.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author:

Esra YILDIRIM SERVİ

E-posta:

esra.servi@izu.edu.tr

This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License



1. Introduction

Plants are a promising option for discovering new antimicrobial agents due to their use in traditional medicine to treat bacterial diseases and their potential to provide an endless variety of chemical compounds for research [1]. Plants have great potential to develop effective solutions against existing drug resistance and to create safer and more effective treatment methods. Bioactive compounds of plant origin attract attention with their broad-spectrum antimicrobial properties and are evaluated in scientific studies [2].

Phlomis fruticosa L. belongs to Lamiaceae family. *P. fruticosa* is known as "Parşamba" in Türkiye [3]. *P. fruticosa* is an ornamental plant widely grown in many gardens worldwide. The plant's natural habitat is the Mediterranean region, where it grows wild from Sardinia in Italy to Anatolia in Türkiye. *Phlomis* species are used to treat various conditions, including diabetes, stomach ulcers, haemorrhoids, inflammation, and wounds. *P. fruticosa* is traditionally used in Italy to prepare pasta sauces and as an antitussive agent, while in Türkiye and Greece, it is used to treat stomach ulcers [4-6].

Studies have shown that extracts obtained from *P. fruticosa* have antibacterial and antifungal activities and play a potential role in relieving the clinical symptoms associated with ulcerative colitis [7,8]. Flavonoids, iridoids, and phenylethyl alcohol were the major secondary metabolite groups of *Phlomis* extracts. Some *Phlomis* extracts have been reported to have antidiabetic, antinociceptive, anti-ulcerogenic, anti-inflammatory, anti-allergic, and antioxidant activities [9-17]. Methanol extracts of *P. bruguieri*, *P. herba-venti*, and *P. olivieri* showed antibacterial and antifungal activities against some bacteria and fungi [18]. The ethanol extract of *P. fruticosa* showed antifungal activity against *Aspergillus ochraceus*, *Cladosporium cladosporioides*, and *Phomopsis helianthi* [8]. Methanol extract of *P. fruticosa* and *P. lanata* showed antioxidant activity by inhibiting bleomycin-Fe(II)-catalyzed arachidonic acid superoxidation [19].

Based on the information obtained from previous research, this study aims to investigate further the antibacterial properties of extracts obtained from *P. fruticosa* using the Soxhlet method. Extracts with four different polarities (petroleum ether, ethyl acetate, methanol, and methanol:water (70:30)) were obtained from the aerial parts of *P. fruticosa*. Additionally, the antibacterial effect of extracts was determined by using the disc diffusion assay.

2. Materials and methods

2.1 Plant material

The aerial part of *P. fruticosa* was collected from Denizli-Türkiye (37° 51' 40"N; 29° 09' 28"E). The dry aerial part of the plant was ground in a grinding mill and powdered.

2.2 Extraction

The dry aerial parts of *P. fruticosa* (123 g) were extracted with petroleum ether, ethyl acetate (EtOAc), methanol (MeOH), and methanol:water (70:30) by the Soxhlet method, respectively. In Soxhlet extraction, 400 mL of each solvent was used, and the heater temperature was set at 60°C. The extraction process continued for 4 hours. After Soxhlet extraction, each extract was filtered with filter paper. The extract was concentrated at 45 °C under reduced pressure using a rotary evaporator (Heidolph) to obtain crude petroleum ether, ethyl acetate, methanol, and methanol:water (70:30) extracts. The extracts were stored at 4 °C in the refrigerator for further analysis [20].

2.4 Antibacterial activity

Antibacterial activity of the extracts was evaluated against two strains: Gram-positive (+) *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Bacillus cereus*, and Gram-negative (-) *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* by using the disc diffusion method. Chloramphenicol was used as a positive control. 10% Dimethyl sulfoxide (DMSO) was used as a negative control. All the experiments were performed in triplicate.

3. Results

The disc diffusion method was performed using 50 mg/disc. The petroleum ether extract showed antibacterial activity against only *E. coli*, the inhibition zone diameter was 11 mm. The methanol extract showed the highest activity on *P. aeruginosa* bacteria among the four extracts by forming a zone diameter of 25 mm. The inhibition zone diameters of methanol extract were 6-7 mm for other bacteria except *B. subtilis*. The inhibition zone diameters of ethyl acetate extract were detected between 8-10 mm against *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, and *E. coli*. The methanol:water extract was effective against *E. coli*, *B. cereus*, and *P. aeruginosa* (Table 1).

4. Discussion

There are limited studies on the antibacterial activity of *Phlomis fruticosa*. According to a study, ethanol (70%)

**Table 1** The disc diffusion method and inhibitory zone diameters (mm) of *P. fruticosa* extracts

Bacteria Plant Materials	Gram Negative (-)		Gram Positive (+)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Petroleum ether extract	11	-	-	-	-
Ethyl acetate extract	10	8	-	8	-
Methanol extract	7	25	7	-	6
Methanol:water (70:30)	12	10	-	-	10
Chloramphenicol (positive control)	25	26	30	32	28
DMSO (10%) (negative control)	-	-	-	-	-

extract of *P. fruticosa* leaves investigated antibacterial and antifungal activity against seven bacterial and seven fungal species. The inhibition zone diameters of ethanol extract were 16 mm for *S. aureus* and 17 mm for *B. subtilis* at 100 µg/mL concentration and 12 mm for both bacteria at 20 µg/mL concentration, respectively. The ethanol extract did not form inhibition zones against *E. coli* and *P. aeruginosa* at both concentrations [8].

The antibacterial activity of ethanol, ethanol:water (1:1), and water extracts of *P. fruticosa* and *P. herba-venti* aerial parts were studied against *E. coli*, *P. aeruginosa*, and *S. aureus* using the broth microdilution assay. The ethanol extracts of both plants displayed the highest antibacterial activity against these three bacteria. The ethanol:water extracts showed moderate activity. The water extracts were not effective against test bacteria [7].

In another study, the antimicrobial activity of the methanol extract of the aerial part of *P. fruticosa* was studied against eight bacteria and eleven fungi species using the broth microdilution assay. The methanol extract showed moderate antibacterial activity. The extract had the highest minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) value (1.25 mg/mL) against *S. aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* bacteria [6].

The methanol extracts of *P. bruguieri*, *P. herba-venti*, and *P. olivieri* were obtained by the maceration method. The antimicrobial activity of the extracts was studied against *S. aureus*, *Streptococcus sanguis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, and *Aspergillus niger* at 10-1000 µg/disc concentrations by using disc diffusion method. It was determined that the methanol extract of *P. bruguieri* had inhibition zone diameters in the 10.1-16.7 mm and 13.8-18.6 mm

range against *S. aureus* and *S. sanguis* at all tested concentrations, respectively. The inhibition zone diameters of the methanol extract of *P. bruguieri* were 9.8-15.8 mm against *K. pneumoniae* at concentrations of 100-1000 µg/disc, 9.2-11.1 mm against *E. coli* bacteria and 9.9-12.3 mm against *P. aeruginosa* at concentrations of 500-1000 µg/disc. The inhibition zone diameters of methanol extract of *P. herba-venti* were 8.7-14.6 mm against *K. pneumoniae* at 50-1000 µg/disc, 8.3-13.3 mm against *S. sanguis* at 100-1000 µg/disc, 8.7-12.2 mm against *S. aureus* and 8.4-11.2 mm against *E. coli* at 250-1000 µg/disc, 8.5-10.9 mm against *P. aeruginosa* at 500-1000 µg/disc. The methanol extract of *P. olivieri* was effective on *K. pneumoniae* (8.9-15.9 mm) at all tested concentrations. The inhibition zone diameters of methanol extract of *P. olivieri* were 8.9-13.1 mm against *S. aureus* and 9.0-13.6 mm against *E. coli* at 250-1000 µg/disc, 8.9-11.5 mm against *P. aeruginosa* and 8.9-12.0 mm against *S. sanguis* at 500-1000 µg/disc [18]. When the results were compared, it was determined that the methanol extract of the current study had a higher inhibition zone against *P. aureoginosa* bacteria. The reasons for these differences may be the chemical compositions of the plants, extraction methods, and geographical origins.

The antibacterial, antiviral, and antifungal activities of petroleum ether and methanol extracts of seven *Phlomis* species growing in Türkiye were examined. The petroleum ether and methanol extracts showed similar antibacterial activity against the tested bacteria. Methanol extracts were found to have the highest MIC value against *S. aureus* (4 µg/mL) and *Enterococcus faecalis* (2 µg/mL) bacteria. Petroleum ether extract had the highest MIC values against *E. faecalis* (4 µg/mL) and *S. aureus* (8 µg/mL). Both extracts had lower MIC values against *E. coli* (128 µg/mL), *P. aureoginosa* (128 µg/mL), and *B. subtilis* (64 µg/mL and 128 µg/mL) [21]. The petroleum extract of the current study didn't show antibacterial activity against *E. coli*, *S. aureus*, *P. aureoginosa*, and *B. subtilis*. The methanol extract of the current study had better antibacterial activity against *P. aureoginosa* than the previous study. Plant species and extraction methods were different between current and previous studies. These factors may affect the chemical composition of the extracts. For this reason, current and previous studies may show different antibacterial activity.

There are differences between the activity results in the current study and the literature. In the literature, it has been determined that *Phlomis* species are generally

effective against *S. aureus* bacteria. However, the current study determined that only the methanol extract created a very low inhibition zone against *S. aureus*, and the other extracts were ineffective. Contrary to the results in the literature, it was observed that the methanol extract in the current study created a significant inhibition zone against *P. aeruginosa*. The reason for this difference in activity results may be related to the different extraction methods, extract concentrations, extract contents, storage conditions of the extracts, and geographical regions. Additionally, the use of solvents of different polarity may affect the chemical composition of the extracts and, therefore, exhibit different synergistic effects against bacteria.

In this study, the antibacterial activity of petroleum ether, ethyl acetate, and methanol:water extracts of *P. fruticosa* was studied for the first time. Since the methanol extract has a high inhibition zone diameter against *P. aeruginosa* bacteria, the bioactive compounds responsible for the activity should be investigated in future studies.

References

- [1] Anand, U., Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A., & Lakhssassi, N. (2019). A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*, 9(11), 258.
- [2] Odongo, E. A., Mutai, P. C., Amugune, B. K., Mungai, N. N., Akinyi, M. O., & Kimondo, J. (2023). Evaluation of the antibacterial activity of selected Kenyan medicinal plant extract combinations against clinically important bacteria. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 100.
- [3] Güner, A., & Aslan, S. (Eds.). (2012). *Türkiye bitkileri listesi:(damarlı bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları.
- [4] Amor, I. L. B., Boubaker, J., Sgaier, M. B., Skandrani, I., Bhour, W., Neffati, A., & Chekir-Ghedira, L. (2009). Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. *Journal of ethnopharmacology*, 125(2), 183-202.
- [5] Selvi, S., Polat, R., Çakılcıoğlu, U., Celep, F., Dirmenci, T., & Ertuğ, Z. F. (2022). An ethnobotanical review on medicinal plants of the Lamiaceae family in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 46(4), 283-332.
- [6] Stojković, D., Gašić, U., Drakulić, D., Zengin, G., Stevanović, M., Rajčević, N., & Soković, M. (2021). Chemical profiling, antimicrobial, anti-enzymatic, and cytotoxic properties of *Phlomis fruticosa* L. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 195, 113884.
- [7] Ferrante, C., Recinella, L., Ronci, M., Orlando, G., Di Simone, S.,



- Brunetti, L., & Menghini, L. (2019). Protective effects induced by alcoholic *Phlomis fruticosa* and *Phlomis herbaefolventi* extracts in isolated rat colon: Focus on antioxidant, antiinflammatory, and antimicrobial activities *in vitro*. *Phytotherapy Research*, 33(9), 2387-2400.
- [8] Ristić, M. D., Duletić-Lausević, S., Knezević Vukcević, J., Marin, P. D., Simić, D., Vukojević, J., & Vajs, V. (2000). Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of *Phlomis fruticosa* L. (Lamiaceae). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 14(4), 267-271.
- [9] Marin, P. D., Veitch, N. C., Grayer, R. J., Kite, G. C., Soković, M., & Janačković, P. (2007). Flavonoids from *Phlomis fruticosa* (Lamiaceae) growing in Montenegro. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(7), 462-466.
- [10] Kyriakopoulou, I., Magiatis, P., Skaltsounis, A. L., Aligiannis, N., & Harvala, C. (2001). Samioside, a New Phenylethanoid Glycoside with Free-Radical Scavenging and Antimicrobial Activities from *Phlomis samia*. *Journal of Natural Products*, 64(8), 1095-1097.
- [11] Çalış, İ., & Kirmızibekmez, H. (2004). Glycosides from *Phlomis lunariifolia*. *Phytochemistry*, 65(18), 2619-2625.
- [12] Calis, I., Kirmizibekmez, H., Ersoz, T., Dönmez, A. A., Gotfredsen, C. H., & Jensen, S. R. (2005). Iridoid glucosides from Turkish *Phlomis tuberosa*. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 60(12), 1295-1298.
- [13] Ismailoglu, U. B., Saracoglu, I., Harput, U. S., & Sahin-Erdemli, I. (2002). Effects of phenylpropanoid and iridoid glycosides on free radical-induced impairment of endothelium-dependent relaxation in rat aortic rings. *Journal of ethnopharmacology*, 79(2), 193-197.
- [14] Liu, P., Takaishi, Y., & Duan, H. Q. (2007). Two new phenylethanoid glycosides from the roots of *Phlomis umbrosa*. *Chinese Chemical Letters*, 18(2), 155-157.
- [15] Saracoglu, I., Varel, M., Hada, J., Hada, N., Takeda, T., Donmez, A. A., & Calis, I. (2003). Phenylethanoid glycosides from *Phlomis integrifolia* Hub.-Mor. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(11-12), 820-825.
- [16] Takeda, Y., Kinugawa, M., Masuda, T., Honda, G., Otsuka, H., Sezik, E., & Yesilada, E. (1999). Phlomisethanoside, a phenylethanoid glycoside from *Phlomis grandiflora* var. *grandiflora*. *Phytochemistry*, 51(2), 323-325.
- [17] Takeda, Y., Matsumura, H., Masuda, T., Honda, G., Otsuka, H., Takaishi, Y., & Yesilada, E. (2000). Phlorigidosides A-C, iridoid glucosides from *Phlomis rigida*. *Phytochemistry*, 53(8), 931-935.
- [18] Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., Mahdavi, M. R., & Rahimi, F. (2006). Antimicrobial studies on extracts of three species of *Phlomis*. *Pharmaceutical biology*, 44(6), 426-429.
- [19] Couladis, M., Tzakou, O., Verykokidou, E., & Harvala, C. (2003). Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17(2), 194-195.
- [20] Bitis, L., Sen, A., Ozsoy, N., Birteksoz-Tan, S., Kultur, S., & Melikoglu, G. (2017). Flavonoids and biological activities of various extracts from *Rosa sempervirens* leaves. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31(2), 299-303.
- [21] Özcelik, B., Orhan, I., Kartal, M., & Konuklugil, B. (2010). *In vitro* testing of antiviral, antibacterial, antifungal effects and cytotoxicity of selected Turkish *Phlomis* species. *Acta alimentaria*, 39(2), 119-125.

In vitro inhibitory effects of methanol extracts of four *Centaurea* species on α -amylase and α -glucosidase

Dört *Centaurea* türünün metanol ekstratlarının α -amilaz ve α -glukozidaz üzerindeki *in vitro* inhibitör etkileri

Abstract

Aim: Medicinal plants have been used in traditional folk medicine for thousands of years against various diseases, including diabetes. Some *Centaurea* species are among these medicinal plants. The aim of this study was to scientifically and comparatively evaluate the antidiabetic activities of methanol extracts obtained from the capitulum and non-capitulum aerial parts of *Centaurea cuneifolia*, *C. kilaea*, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* and *C. stenolepis* against α -glucosidase and α -amylase for the first time except *C. kilaea*.

Materials and Methods: Methanol extracts from *Centaurea* species were obtained by maceration method. Antidiabetic activity was performed by two known *in vitro* methods such as alpha-glucosidase and alpha amylase inhibitory activity.

Results: Among the extracts, *Centaurea cuneifolia* capitula (CCC) and *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* capitula (CSSC) methanol extracts with IC_{50} values of 164.30 and 463.70 μ g/mL exhibited the best inhibitory activity against α -amylase and α -glucosidase enzymes.

Conclusion: This is the first study on anti α -amylase and anti α -glucosidase activity of three *Centaurea* species except *Centaurea kilaea*. These results indicate that CCC and CSSC have inhibitory effects against alpha amylase and alpha glucosidase. At the same time, the extracts were generally found to be active against the alpha amylase enzyme. In addition, it was found remarkable that only the capitulum of *Centaurea* species were effective against alpha glucosidase enzyme. However, *in vivo* studies are needed to fully reveal the antidiabetic effect and bioactivity-directed fractionation, and isolation studies are needed to reveal the compounds responsible for the antidiabetic effect.

Keywords: *Centaurea* species, diabetes, antidiabetic activity, α -glucosidase, α -amylase

Özet

Amaç: Tıbbi bitkiler geleneksel halk tıbbında binlerce yıldır diyabet dahil çeşitli hastalıklara karşı kullanılmaktadır. Bu tıbbi bitkiler arasında bazı *Centaurea* türleri de yer almaktadır. Bu çalışmada, *Centaurea cuneifolia*, *C. kilaea*, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* ve *C. stenolepis* türlerinin kaputulum ve kaputulum hariç toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstratlarının α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerine karşı antidiyabetik aktivitelerinin *C. kilaea* hariç ilk kez bilimsel ve karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: *Centaurea* türlerinden elde edilen metanol ekstratları maserasyon yöntemi ile elde edilmiştir. Antidiyabetik aktivite, alfa-glukozidaz ve alfa amilaz inhibitör aktivite gibi bilinen iki *in vitro* yöntemle gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Ekstreler arasında, 164,30 ve 463,70 μ g/mL'lik IC_{50} değerlerine sahip *Centaurea cuneifolia* capitula (CCC) ve *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* capitula (CSSC) metanol ekstratları, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerine karşı en iyi inhibitör aktiviteyi göstermiştir.

Sonuç: Bu çalışma, *Centaurea kilaea* türü hariç diğer üç *Centaurea* türlerinin anti

2025, 1(1) 33-40

Ali ŞEN¹

AS: 0000-0002-2144-5741

¹ Marmara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, Istanbul, TÜRKİYE

Received/Geliş Tarihi:

22.03.2025

Accepted/Kabul Tarihi:

02.05.2025

Conflict of interest

The authors have no conflict of interest to declare.

Data Availability

Data will be provided upon request.

Author Contributions

Conception/Design of Study - AŞ; Data Acquisition - AŞ; Data Analysis/Interpretation - AŞ; Drafting Manuscript - AŞ; Critical Revision of Manuscript - AŞ; Final Approval and Accountability - AŞ.

Acknowledgements

The author would like to thank Dr. Gizem Bulut for her help in identification of the plant material.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author:

Ali ŞEN

E-posta:

ali.sen@marmara.edu.tr

This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License





α -amilaz ve anti α -glukozidaza aktivitesine yönelik ilk çalışmadır. Bu sonuçlar, CCC ve CSSC'nin alfa amilaz ve α -glukozidaz enzimlerine karşı inhibitör etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, ekstrelerin genellikle α -amilaz enzimine karşı aktif olduğu bulunmuştur. Ayrıca, *Centaurea* türlerinin sadece kapitulumlarının α -glukozidaz enzimine karşı etkili olması dikkat çekici bulunmuştur. Bununla birlikte, antidiyabetik etkiyi tam olarak açığa çıkarmak için de *in vivo* çalışmalara ve antidiyabetik etkiden sorumlu bileşikler ortaya çıkarmak için biyoaktivite rehberliğinde fraksiyonlama ve izolasyon çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: *Centaurea* türleri, diyabet, antidiyabetik aktivite, α -glukozidaz, α -amilaz

1. Introduction

Type 2 diabetes mellitus is a disease that causes problems in regulating blood sugar levels, and effective treatments are based on blood sugar control and reducing side effects [1]. Inhibition of carbohydrate digestive enzymes such as alpha-amylase and alpha-glucosidase is a widely practiced strategy to manage diabetes mellitus, as both enzymes, responsible for the digestion of starch and glycogen, control postprandial glucose levels [2]. Currently, drugs used in the treatment of DM include acarbose, miglitol and voglibose, and among these drugs, acarbose can inhibit both diabetic enzymes, while the other two can only inhibit the α -glucosidase enzyme [3]. However, these drugs have been reported to have some undesirable side effects such as abdominal distension, flatulence, bloating, and possibly diarrhea [4]. Therefore, there is a need to investigate promising and safer potential inhibitors with low toxicity from natural products such as medicinal plants. In order to find these inhibitors, it is very important to conduct research on crude extracts obtained from medicinal plants.

Centaurea species, a member of the Asteraceae family, are represented by 194 taxa (159 species), more than half of which are endemic (110 of which are endemic) in Türkiye (and therefore the country of genetic source of these species) [5]. Various parts of *Centaurea* species are used internally and externally, usually in the form of infusion and decoction, in traditional folk medicine to treat many different diseases, including diabetes. In these studies, it was reported that the infusion obtained from the leaves of *C. iberica*, *C. glastifolia*, *C. pterocaula* and the flowers and leaves of *C. saligna* were used as a blood sugar lowering agent [6,7]. Scientific studies on *Centaurea* species have reported that these species have anti-inflammatory, antioxidant, antipyretic, antimalarial, antimicrobial, antiviral, antipityroviral, antiulcerogenic, smooth muscle contraction, hypoglycemic, immunological, neurotoxic, cytotoxic (anticancer), vasodilator, wound healing, and antidia-

betic activities [8-21]. Phytochemical analysis studies on *Centaurea* species have suggested that these species contain phenolic acids, flavonoids, terpenes (such as sesquiterpenes, sesquiterpene lactones, diterpenes, triterpenes), fatty acids [22-32].

In scientific studies on antidiabetics against alpha-glucosidase and/or alpha-amylase enzymes, *C. amnicola*, *C. antitauri*, *C. cadmea* subsp. *pontica*, *C. centaurium*, *C. depressa*, *C. drabifolia* subsp. *detonsa*, *C. karduchorum*, *C. kilaea*, *C. kotschy* var. *persica*, *C. sivasica*, *C. patula*, *C. pulchella*, *C. tchihatcheffi*, *C. triumfettii*, *C. urvillei* subsp. *hayekiana* were found to have significant activities. The fact that *Centaurea* species have both ethnobotanical uses as blood sugar lowering and that these species exhibit good antidiabetic activity in scientific studies indicates that it may be important to carry out antidiabetic activity studies on different *Centaurea* species.

The aim of this study was to scientifically and comparatively investigate the antidiabetic activities of methanol extracts of different parts of four *Centaurea* species (*C. cuneifolia*, *C. kilaea*, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* and *C. stenolepis*) based on the inhibition of alpha amylase and alpha glucosidase enzymes for the first time except *C. kilaea*.

2. Materials and methods

2.1 Plant material

Centaurea species (*C. cuneifolia*, *C. kilaea*, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* and *C. stenolepis*) were previously collected from various districts of Istanbul, Türkiye and identified by Gizem Bulut, an expert botanist at Marmara University Faculty of Pharmacy. The specimens, which were given herbarium numbers (*C. cuneifolia*: 11690, *C. kilaea*: 11712, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis*: 11965 and *C. stenolepis*: 11651), are kept in Marmara University Faculty of Pharmacy herbarium [12].

2.2 Preparation of plant extracts/fractions

Methanol extracts from the capitulum and aerial parts excluding the capitulum of *Centaurea* species were previously obtained in the study of Sen et al. (2013) [12]. Briefly, each sample was ground and after weighing 15 g, they were macerated with 180 mL of methanol for 24 h. Then, the samples were filtered, and the same volume of fresh methanol was added to the remaining residue. This process was carried out three times in total. The solvents of the combined filtrates were evaporated to dryness in a rotary evaporator at a temperature not exceeding 40 °C and extracts were obtained. The yields of the obtained extracts were calculated (*C. cuneifolia* capitulum: 12.69%, *C. cuneifolia* aerial part: 10.60%, *C. kilaea* capitulum: 11.33%, *C. kilaea* aerial part: 12.92%, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* capitulum: 10.90%, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* aerial part: 8.14%, *C. stenolepis* capitulum: 13.22% and *C. stenolepis* aerial part: 13.54%) and stored at +4 °C until analysis.

2.3 Alpha-amylase inhibitor activity

The α -amylase inhibitory activity of the extracts was evaluated according to the methods of Ramakrishna et al. (2017) and Şen et al. (2019) [33, 34]. 10 μ L of extract, 15 μ L of 0.02 M sodium phosphate buffer (pH 6.9, 0.006 M NaCl) and 25 μ L of porcine-amylase (0.5 mg/ml-15 units) prepared in buffer were mixed. The mixture was incubated at 25°C for 10 minutes. Then, 25 μ L of a 1 % starch solution prepared in buffer was added to each well. The mixtures were again incubated at 25°C for 10 mins. The reaction was stopped with 50 μ L of dinitrosalicylic acid (DNSA) and incubated in boiling water bath for 10 mins. The solutions were cooled to room temperature and then were read absorbance at 540 nm diluting with 225 μ L of ultra pure water. Acarbose was used as standard. The percentage inhibitory activity of the extract and standard against α -amylase enzyme were calculated according to the following:

$$\alpha\text{-amylase inhibitor activity (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

where A_0 is the absorbance of the control (containing all reagents except the test compounds), and A_1 is the absorbance of the extract/standard. Extract or standard concentration providing 50% inhibition (IC_{50}) was calculated from the graph plotting inhibition percentage against extract or standard concentration. Tests were carried out in triplicate.

2.4 Alpha-glucosidase inhibitor activity

The α -glucosidase inhibitory activity of the extracts was evaluated according to the methods of Ramakrishna et al. (2017) and Şen et al. (2019) [33, 34]. 10 μ L of extract was mixed with 40 μ L of 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.9), and 100 μ L of α -glucosidase (obtained from *Saccharomyces cerevisiae*) prepared in buffer. The mixtures were incubated at 25°C for 10 minutes. Thereafter, 50 μ L of 5 mM *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG) prepared in buffer to the solutions was added. The mixtures were re-incubated at 25°C for 5 minutes, and their absorbance was recorded by reading in the microplate reader before and after incubation at 405 nm. Acarbose was used as standard. The percentage inhibitory activity of the extract and standard against α -glucosidase enzyme were calculated according to the following:

$$\alpha\text{-glucosidase inhibitor activity (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

where A_0 is the absorbance of the control (containing all reagents except the test compounds), and A_1 is the absorbance of the extract/standard. Extract or standard concentration providing 50% inhibition (IC_{50}) was calculated from the graph plotting inhibition percentage against extract or standard concentration. Tests were carried out in triplicate.

2.5 Statistical analysis

Statistical analyses were performed with GraphPad Prims 5.0 software. Activity results were expressed as mean $\pm$ standard deviation. After one-way analysis of variance (ANOVA) was applied, differences between groups were determined by Tukey test. A significance level of $p < 0.05$ was accepted.

3. Results

Among the extracts, CCC exhibited the best α -amylase inhibitory activity with an IC_{50} value of 164.30 μ g/mL, while CSSC showed the lowest activity with an IC_{50} value of 846.70 μ g/mL (Table 1). All extracts showed low anti- α -amylase activity compared to standard acarbose (16.61 μ g/mL). (Table 1). CCC showed the highest inhibition against the α -amylase enzyme with an inhibition rate of 47.86% at a concentration of 142.86 μ g/mL, followed by CKC (43.79%), CKA (43.74%), CSA (39.96%), CSC (38.44%), CCA (36.38%), CSSC (14.65%) and CSSA (14.58%), respectively (Figure 1). When the extracts were evaluated in terms of inhibitory activities on α -glucosidase enzyme, the best ac-

**Table 1** Alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibitor activities of extracts (IC₅₀, µg/mL)

Extracts and standart*	α -amylase inhibitor activity	α -glucosidase inhibitor activity
CCC	164.30 ± 3.89 ^b	833.30 ± 3.96 ^c
CCA	596.30 ± 4.95 ^f	-
CKC	228.10 ± 0.99 ^c	1107.00 ± 24.75 ^d
CKA	230.80 ± 2.12 ^c	-
CSSC	846.70 ± 4.17 ^h	463.70 ± 0.00 ^b
CSSA	658.10 ± 3.82 ^g	-
CSC	305.60 ± 2.12 ^c	-
CSA	253.00 ± 3.61 ^d	-
Acarbose	16.61 ± 0.33 ^a	113.70 ± 0.64 ^a

* The capitula and aerial parts except capitula of *Centaurea cuneifolia*, *C. kilaea*, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* and *C. stenolepis* are abbreviated as CCC, CCA, CKC, CKA, CSSC, CSSA, CSC, CSA.

** Each value in the table is the mean of three replicates and was represented as mean ± SD.

*** Different and same letter superscripts in the same column show statistical significance ($p < 0.05$) and non-significance ($p > 0.05$), respectively.

-: IC₅₀ values could not be calculated since the extracts did not show any activity against α -glucosidase enzyme at all determined concentrations.

tivity was found in CSSC with an IC₅₀ value of 463.70 µg/mL, while the activities of all extracts were lower than acarbose (113.70 µg/mL) used as standard (Table 1). CSSC (26.27%) exhibited the strongest inhibition against α -glucosidase enzyme at a concentration of 250 µg/mL, followed by CCC (14.38%) and CKC (10.78), respectively. Other extracts did not exhibit any inhibition against the α -glucosidase enzyme (Figure 2).

4. Discussion

This study aimed to comparatively and scientifically examine the antidiabetic effects of methanol extracts obtained from different parts of *C. cuneifolia*, *C. kilaea*, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* and *C. stenolepis* via inhibition of alpha amylase and alpha glucosidase enzymes.

When the extracts were compared in terms of their antidiabetic activities, it was found that CCC and CSSC

exhibited the best activity against α -amylase and α -glucosidase enzymes, respectively.

In addition to the fact that the extracts were generally effective against alpha amylase enzyme, it was also found remarkable that only the extracts obtained from the capitulum of *Centaurea* species were active against alpha glucosidase enzyme.

In this study, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity tests on other *Centaurea* species (*C. cuneifolia*, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* and *C. stenolepis*) except *C. kilaea* were performed for the first time. In the literature, only one study like the current study was found on *C. kilaea*. In the mentioned study, Kisa et al. reported that methanol-chloroform (4:1) extract from *Centaurea kilaea* exhibited antidiabetic activity against α -amylase and α -glucosidase enzymes with IC₅₀ values of 121.1 and 110.5 µg/mL [15]. These values are better than the results of our current study.

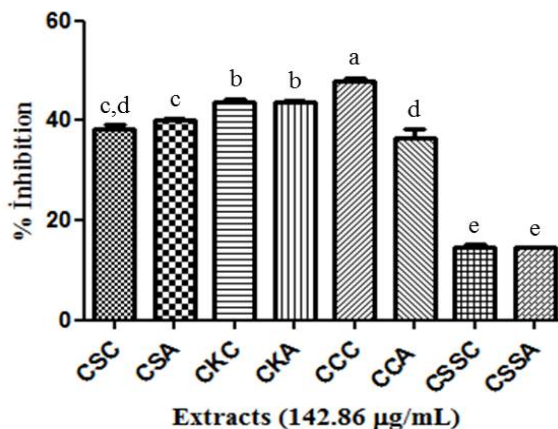


Figure 1 Inhibitory effects of extracts on α -amylase enzyme (The capitula and aerial parts except capitula of *Centaurea cuneifolia*, *C. kilaea*, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* and *C. stenolepis* are abbreviated as CCC, CCA, CKC, CKA, CSSC, CSSA, CSC, CSA. Different and same letter superscripts in the same column show statistical significance ($p < 0.05$) and non-significance ($p > 0.05$), respectively.)

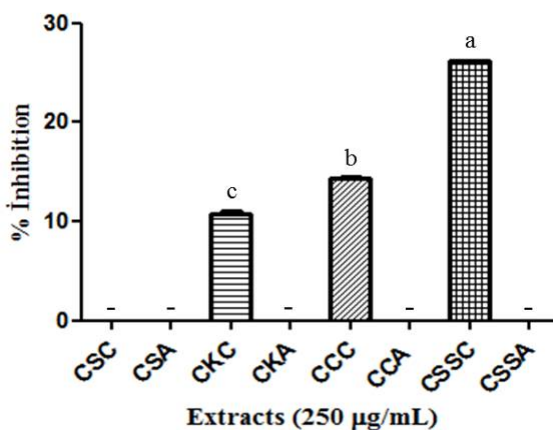


Figure 2 Inhibitory effects of extracts on α -glucosidase enzyme (The capitula and aerial parts except capitula of *Centaurea cuneifolia*, *C. kilaea*, *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* and *C. stenolepis* are abbreviated as CCC, CCA, CKC, CKA, CSSC, CSSA, CSC, CSA. -: no inhibition. Different and same letter superscripts in the same column show statistical significance ($p < 0.05$) and non-significance ($p > 0.05$), respectively.)



The reason for this may be that less polar compounds contributed to the activity because less polar extract was used.

Studies on alpha amylase and alpha glucosidase activities of different *Centaurea* species have been found in the literature. In one of these studies, Zengin et al. evaluated the activities of chloroform and ethyl acetate extracts obtained from the aerial parts of 8 *Centaurea* species (*C. depressa*, *C. drabifolia* subsp. *detonsa*, *C. kotschy* var. *persica*, *C. patula*, *C. pulchella*, *C. tchihatcheffi*, *C. triumfettii*, *C. urvillei* subsp. *hayekiana*) on the inhibition of diabetic enzymes and observed that at 2 mg/mL concentration, *C. pulchella* chloroform extract inhibited the activity of alpha amylase enzyme by 59.54%, while *C. triumfettii* ethyl acetate extract inhibited the activity of alpha glucosidase enzyme by 69.88% [16]. In the present study, CCC (47.86% inhibition at 142.86 μ g/mL for α -amylase) and CSSC (26.27% inhibition at 250 μ g/mL for α -glucosidase) exhibited better antidiabetic activity at much lower concentrations. This may be due to the difference in species (thus the difference in chemical composition) and the difference in extracts obtained.

In another study, methanol extract obtained from the aerial parts of *Centaurea cadmea* subsp. *pontica* was found to have IC_{50} values of 69.15 and 82.48 μ g/mL against alpha glucosidase and alpha amylase enzymes, respectively [17]. The results were found to be better compared to the current study. This can be explained by the thought that the phytochemical contents of the related species may also be different due to species differences.

Corforti et al. (2008) evaluated the antidiabetic effects of methanol extract prepared from the roots of *C. centaurium* and its fraction against alpha amylase enzyme and revealed that methanol extract inhibited the enzyme by 32.51% (IC_{50} : >1000 μ g/mL) at a concentration of 1000 μ g/mL and hexane fraction inhibited the enzyme by 82.34% (IC_{50} : 158 μ g/mL) at a concentration of 500 μ g/mL [18]. In our current study, CCC (47.86%), CKC (43.79%), CKA (43.74%), CSA (39.96%), CSC (38.44%), CCA (36.38%) exhibited better anti-alpha-amylase activity than *C. centaurium* methanol extract even at about 7 times lower extract concentration (142.86 μ g/mL). This may be due to the difference in chemical content due to species differences. The *C. centaurium* hexane fraction exhibited slightly better activity than CCC (164.30 μ g/mL) in the current study when compared in terms of IC_{50} values. This can be explained by the fact that lipophilic compounds also contributed to the activity.

Yirtici et al. (2002) revealed that *C. sivasica* aerial part methanol extract has antidiabetic effects against α -amylase and α -glucosidase enzymes with IC_{50} values of 279.40 and 252.60 μ g/mL, respectively [19]. When the results of this study were compared with the results of the current study in terms of alpha amylase inhibitory activity, CCC (164.30 μ g/mL), CKC (228.10 μ g/mL), CKA (230.80 μ g/mL) and CSA (253.00 μ g/mL) showed better activity, while *C. sivasica* aerial part methanol extract showed better activity in terms of alpha glucosidase inhibitory activity. The reason for this situation may be due to the change in chemical composition due to species difference.

In a study by Dalar et al., the inhibitory effects of hydrophilic (80% ethanol, 19% H_2O and 1% of 0.1% tri-fluoroacetic acid, v/v/v) extracts prepared from roots, stems, leaves and flowers of *C. karduchorum* were investigated against alpha amylase and alpha glucosidase enzymes. According to the results of this study, it was observed that the extracts prepared from roots, stems, leaves and flowers of *C. karduchorum* exhibited IC_{50} values of 5.35, 1.42, 0.63 and 1.51 mg/mL against alpha glucosidase enzyme, respectively. It was reported that only the extract prepared from the leaves of *C. karduchorum* was active against alpha amylase enzyme and showed an IC_{50} value of 14.63 mg/mL [20]. When the results of this study were compared with the current study results, it showed lower activity than all extracts according to alpha amylase inhibitor test results and lower activity than CSSC according to alpha glucosidase inhibitor test results. The reason for this situation may be due to the change in chemical composition due to species difference.

Nobarirezaeyeh et al. (2024) found that methanol extracts prepared from dried fruit aerial parts of *C. amanicola* and *C. antitauri* inhibited the activity of α -amylase enzyme by 21.11% and 42.91% at 5000 μ g/mL concentration, respectively, while they did not have any activity against α -glucosidase enzyme [21]. In the current study, CCC (47.86%), CKC (43.79%) and CKA (43.74%) at about 35 times lower concentration (142.86 μ g/mL) against α -amylase enzyme; CSSC (26.27%), CCC (14.38%) and CKC (10.78%) at about 20 times lower concentration (250 μ g/mL) against α -glucosidase enzyme showed a better inhibitory effect. The difference in phytochemical composition due to species differences may be responsible for this difference in results.

However, although estimating the antidiabetic effect of the extract on the enzymes used in this study is important for a preliminary evaluation, there are some

limitations to the study. The relevant extracts were applied directly to the enzyme *in vitro*, that is, in a controlled environment outside the body. In a living organism, when these extracts are applied, they will be metabolized in the gastrointestinal system and then enter the systemic circulation and show their effects. Therefore, *in vivo* studies will be important at this stage in evaluating the pharmacokinetics of the extracts.

These results indicated that *C. cuneifolia* capitula (CCC) and *C. solstitialis* subsp. *solstitialis* capitula (CSSC) methanol extracts have antidiabetic effects against α -amylase and α -glucosidase enzymes, respectively and support the use of *Centaurea* species in traditional folk medicine. However, *in vivo* experiments (e.g. streptozotocin-induced diabetes model in rats) are needed to definitively reveal the antidiabetic effects of the extracts. It may also be important to conduct further studies such as bioactivity-directed fractionation and isolation studies to reveal the compounds responsible for the activity of the extracts.

References

- [1] Nguyen, N. H., Duong, T. H., Sichaem, J., Nguyen, T. D., Duong, G. H., Thi-Phuong, N., Ngoc, T.-M.-D., Tran, T.-C.-T., & Nguyen, H. T. (2025). Triterpenoids from leaves of *Paramignya trimera* with their α -glucosidase inhibition: *In vitro* and *in silico* aspects. *Natural Product Research*, 1-9.
- [2] Christou, A., Stavrou, C., Michael, C., Botsaris, G., & Goulas, V. (2024). New insights into the potential inhibitory effects of native plants from Cyprus on pathogenic bacteria and diabetes-related enzymes. *Microbiology Research*, 15(2), 926-942.
- [3] Iqbal, T., Khan, S., Rahim, F., Hussain, R., Khan, Y., Felemban, S., & Khowdiary, M. M. (2024). Benzothiazole based sulfonamide scaffolds as active inhibitors of α -amylase and α -glucosidase; synthesis, structure confirmation, *in silico* molecular docking and ADME analysis. *Journal of Molecular Structure*, 1309, 138074.
- [4] Ramos, J. A. V., Echeverry, M. S. V., Osma, J. A., & Chamarro, N. L. (2025). *In vitro* study on the α -glucosidase inhibitory activity and antioxidant capacity of leaf extracts of *Coffea arabica* (Caturra variety). *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 1-13.
- [5] Bizim Bitkiler (2025). <https://www.bizimbitkiler.org.tr/v2/hiyer-arsi.php?c=Centaurea> (Access date: 18.03.2025)
- [6] Tuzlacı E. (2016). Türkiye Bitkileri Geleneksel **İlaç** Rehberi, İstanbul Kitabevleri, İstanbul (In Turkish)
- [7] Dalar, A. (2018). Plant taxa used in the treatment of diabetes in Van province, Turkey. *International Journal of Secondary Metabolite*, 5(3), 171-185.
- [8] Arif, R., Küpeli, E., & Ergun, F. (2004). The biological activity of *Centaurea* L. species. *Gazi University Journal of Science*, 17(4), 149-164.
- [9] Şen, A. (2023). Antioxidant and anti-inflammatory activity of five *Centaurea* species. *European Journal of Biology*, 82(2), 311-316.
- [10] Şekerler, T., Şen, A., Bitiş, L., & Şener, A. (2020). *In vitro* anti-hepatocellular carcinoma activity of secondary metabolites of *Centaurea kilaea* Boiss. *Journal of Research in Pharmacy*, 24, 479-486.
- [11] Sekerler, T., Sen, A., Bitis, L., & Sener, A. (2018). Anticancer, antioxidant and anti-inflammatory activities of chloroform extracts from some *Centaurea* species. *Proceedings*, 2(25), 1542.
- [12] Şen, A., Bitiş, L., Birteksöz-Tan, S., & Bulut, G. (2013). *In vitro* evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of some *Centaurea* L. species. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(1), 42-45.
- [13] Aksoy, H. (2020). Evaluation of the biological and wound healing activities of *Centaurea virgata*. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 10(3), 304-308.
- [14] Koca, U., Süntar, I. P., Keles, H., Yesilada, E., & Akkol, E. K. (2009). *In vivo* anti-inflammatory and wound healing activities of *Centaurea iberica* Trev. ex Spreng. *Journal of Ethnopharmacology*, 126(3), 551-556.
- [15] Kisa, D., Imamoglu, R., Genc, N., Taslimi, P., Kaya, Z., & Taskinç Tok, T. (2023). HPLC analysis, phytochemical content, and biological effects of *Centaurea kilaea* against some metabolic enzymes: *In vitro* and *in silico* studies. *ChemistrySelect*, 8(6), e202204196.
- [16] Zengin, G., Locatelli, M., Carradori, S., Mocan, A. M., & Aktumsek, A. (2016). Total phenolics, flavonoids, condensed tannins content of eight *Centaurea* species and their broad inhibitory activities against cholinesterase, tyrosinase, α -amylase and α -glucosidase. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(1), 195-200.
- [17] Kisa, D., Çelik, A., & İmamoğlu, R. (2024). Assessment of inhibitory ability against medicinally important enzymes with *in vitro* and *in silico* studies: Phenolic content of endemic *Centaurea cadmea* subsp. *pontica*. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 27(1), 14-25.
- [18] Conforti, F., Menichini, F., Loizzo, M. R., Statti, A. G., Rapisarda, A., Menichini, F., & Houghton, P. J. (2008). Antioxidant, α -amylase inhibitory and brine-shrimp toxicity studies on *Centaurea centaurium* L. methanolic root extract. *Natural Product Research*, 22(16), 1457-1466.
- [19] Yırtıcı, Ü., Ergene, A., Atalar, M. N., & Adem, Ş. (2022). Phytochemical composition, antioxidant, enzyme inhibition, antimicrobial effects, and molecular docking studies of *Centaurea*



- sivasisica*. *South African Journal of Botany*, 144, 58-71.
- [20] Dalar, A., Uzun, Y., Mukemre, M., Turker, M., & Konczak, I. (2015). *Centaurea karduchorum* Boiss. from Eastern Anatolia: Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities. *Journal of Herbal Medicine*, 5(4), 211-216.
- [21] Nobarirezayeh, M., Yuca, H., Aydın, B., Civaş, A., Karakaya, S., Karadayı, M., Demir, A. Y., Bona, M., Yılmaz, B., Göger, G., Şahinöz, M.Z., Özer, E. B., Tekman, E., Güvenalp, Z. & Gençler Özkan, A. M. (2024). Phytochemical evaluation via GC-MS and LC-MS/MS: A comprehensive study of antidiabetic, antimicrobial, antioxidant, and genotoxic activities of extracts from endemic species *Centaurea amanicola* Hub.-Mor. and *C. antitauri* Hayek (Asteraceae). *Natural Product Research*, 1-10.
- [22] Yıldırım, A., Şen, A., Gökteş, B., Uslu, H., Özakpınar, Ö. B., & Bitiş, L. (2024). Antiproliferative activity and molecular docking analyses of sesquiterpene lactones obtained from activity-directed isolation of *Centaurea saligna* (K. Koch) Wagenitz in neoplastic cells. *Molecular Biotechnology*, 1-13.
- [23] Yıldırım, A., Şen, A., & Bitiş, L. (2024). Anti-inflammatory compounds and a new sesquiterpene lactone from *Centaurea gabrieljanae* Greuter. *Natural Product Research*, 1-11.
- [24] Yıldırım, A., Şen, A., Göger, F., Özakpınar, Ö. B., & Bitiş, L. (2022). *In vitro* antiproliferative, antioxidant, anti-inflammatory activities and phenolic profile of *Centaurea saligna* (K. Koch) Wagenitz. 26(1), 163-173.
- [25] Sen, A., Kurkcuoglu, M., Yildirim, A., Senkardes, I., Bitis, L., & Baser, K. H. C. (2021). Chemical composition, antiradical, and enzyme inhibitory potential of essential oil obtained from aerial part of *Centaurea pterocaula* Trautv. *Journal of Essential Oil Research*, 33(1), 44-52.
- [26] Sen, A., Ozbas Turan, S., & Bitis, L. (2017). Bioactivity-guided isolation of anti-proliferative compounds from endemic *Centaurea kilaea*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 541-546.
- [27] Polatoglu, K., Sen, A., Bulut, G., Bitis, L., & Gören, N. (2014). Essential oil composition of *Centaurea stenolepis* Kerner. from Turkey. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(6), 1268-1278.
- [28] Sen, A., Gurbuz, B., Gurer, U. S., Bulut, G., & Bitis, L. (2014). Flavonoids and biological activities of *Centaurea stenolepis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 50, 128-129.
- [29] Polatoğlu, K., Şen, A., Bulut, G., Bitiş, L., & Gören, N. (2014). Essential oil composition of *Centaurea kilaea* Boiss. and *C. cu-neifolia* Sm. from Turkey. *Natural Volatiles & Essential Oils*, 1(1), 55-59.
- [30] Servi, H., Çelik, S., & Göktürk, R. S. (2019). Essential oil composition of two endemic *Centaurea* species from Turkey. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 6(1), 18-24.
- [31] Zengin, G., Cakmak, Y. S., Guler, G. O., & Aktumsek, A. (2010). *In vitro* antioxidant capacities and fatty acid compositions of three *Centaurea* species collected from Central Anatolia region of Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2638-2641.
- [32] Ayad, R., & Akkal, S. (2019). Phytochemistry and biological activities of Algerian *Centaurea* and related genera. *Studies in Natural Products Chemistry*, 63, 357-414.
- [33] Ramakrishna, R., Sarkar, D., Schwarz, P., & Shetty K. (2017). Phenolic linked anti-hyperglycemic bioactives of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars as nutraceuticals targeting type 2 diabetes. *Industrial Crops and Products*, 107, 509-517.
- [34] Sen, A., Kurkcuoglu, M., Senkardes, I., Bitis, L., Baser, K.H.C. (2019). Chemical composition, antidiabetic, anti-inflammatory and antioxidant activity of *Inula ensifolia* L. essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(4), 1048-1057.

Editörden / Editorial

Hüseyin Servi

Sihirden Tedaviye Mantarlar

Mushrooms from magic to cure

Gül Baktır

Antarktik Mikroalg Ekstrelerinin Antioksidan Potansiyeli, Fenolik İçeriği ve Antimikrobiyal Etkileri

Antioxidant Potential, Phenolic Content, and Antimicrobial Effects of Antarctic Microalgal Extracts

Anıl Tevfik Koçer, Benan İnan, Meyrem Ertürk, Gülcan Ayşin Karaca, Beyza Karacaoğlu, Didem Balkanlı

The Determination of Antibacterial Activities of Herbal-Infused Syrups Recommended for Use as Food Supplements

Gıda Takviyesi Olarak Kullanımı Tavsiye Edilen Bitkisel İçerikli Şurupların Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi

Cansu Vatansever, İpek Ada Alver

Antibacterial activity of *Phlomis fruticosa* L. plant extracts

Phlomis fruticosa L. bitki ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesi

Betül Budak, Esra Yıldırım Servi

In vitro inhibitory effects of methanol extracts of four *Centaurea* species on α -amylase and α -glucosidase

Dört *Centaurea* türünün metanol ekstrelerinin α -amilaz ve α -glukozidaz üzerindeki *in vitro* inhibitör etkileri

Ali Şen