

1. GİRİŞ

Yaklaşık 8-10 bin senelik bir geçmişi olan tarım, insanoğlunun yarım milyon senesini kapsayan göçebelik ve bir sonraki ürününü aradığı avcılık devresini değiştirmiştir. İnsan bilimi (antrapoloji) ile uğraşanlar insanoğlunun yeryüzünde bulunduğu devreleri;

- a. 3 milyon yıl tam yabani bir hayat
- b. 10 bin yıl çok az değişikliğe uğrayan el ile ekim
- c. 150 yıl nüfus artışı ile birlikte modern tarıma

geçiş olarak 3'e ayırmışlardır (Akçin, A., 1987).

Kültüre alınmış olan bitkilerin büyük bir çoğunluğu sınırlı sayıdaki bitki familyalarındandır. Bunlar arasında *Graminae*, *Leguminosea*, *Salonaceae*, *Aracea*, *Rosaceae* ve *Cucurbitaceae* familyası yer almaktadır.

Günümüzde bütün yaşam bitkilere bağlıdır. Besinlerimiz ya doğrudan doğruya bitkilerden, ya da bitkilerle beslenen hayvanlardan sağlanan ürünlerden oluşmaktadır. Bitkiler uygun zamanda doğrudan ya da dolaylı olarak insanların yağ, ilaç, giyim v.s. gibi ihtiyaçlarını karşılamaktadır (Şehirli ve Özgen, 1987).

Türkiye iklim ve coğrafi bakımdan çok farklı özelliklere sahip olan, dünyanın en önemli makro ve mikro gen merkezlerinden birisi olup, florasında yaklaşık 10 bin bitki bulunmaktadır (Akçin, A., 1987).

Tıbbi bitkiler eski çağlardan beri insanlar tarafından tanınmış, bilinmiş ve kendi yaşayış tarzına göre sağlığını korumak için ilaç yapımında kullanılmıştır.

Bununla beraber son 20-30 yıldan beri farmokoterapinin sentetik asıllı, yeni ilaç kaynaklarının keşfindeki başarısı, her ülkede bitkisel kaynakların bütün yönleri ile incelenme ve kullanılma probleminin önemini ortaya çıkarmıştır. Yakın zamana kadar bitkilerde bilinmeyen fizyolojik etkenli pek çok ilaç hammaddesi keşfedilmiştir (Makaklı, 1982).

Günümüzde de doğrudan bitkilerden veya bitkisel bir maddenin ya da bu tip bir maddeyi esas alarak oluşturulan yeni maddelerden ilaç olarak yararlanılmaktadır. Yeni tıbbi bitkiler, yeni ilaç hammaddeleri bulmak bilinenleri bilinmeyen yönleri ile değerlendirmek için bitkiler üzerinde sürekli araştırmalar devam etmektedir. Özellik-

le enfeksiyon hastalıklarına karşı doğal kaynaklı aktif bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar, her dönemde bilim adamlarının ilgisini çeken konular arasında yer almış, bugün de bu alanda yapılan çalışmaların hızından birşey yitirmediği görülmektedir (Malcolm, 1969, Moslenko, 1986).

Bugünde ülkemizin değişik bölgelerinde, hatta her bölgenin şehir, kasaba ve köylerinde, eski Türk Tababeti yaygın olarak kullanılmaktadır. Şehir ve kasabadan uzakta, imkansızlıkları ve zor şartları yenmek için kendilerine özgü değişik metodlar ve çözümler üretmişlerdir (Karaman, İ., 1997).

Doğal ortamdan elde edilen aktif maddelerin en önemli kaynağını bitkiler oluşturduğuna göre, binlerce bitki arasında araştırma amacıyla uygun olanların seçimi büyük bir önem taşımaktadır (Vlietick, A. J., Vanden Berghe, D.A., 1991). Antimikrobiyal madde araştırmalarında bitkiler gelişigüzel toplanıp, aktif maddeler bakımından taranabileceği gibi, bitkilerin tıbbi yönden önemine, mevcut literatür bilgilerine veya bitkilerin kemotaksonomik özelliklerine bakılarak seçim yapılabilir (Sugfness and Douras, 1979).

Bu araştırmaların çoğu istenilen öneme yönelik bir sonuç getirmese bile yine de ilaç yapımında kullanılacak, kesin etkili yeni bitkisel maddeler bu araştırmalarla ortaya çıkmaktadır.

Bitkisel ilaçların kullanıldığı yerlerin genellikle kırsal kesimler olmasına rağmen son zamanlarda bitkisel ilaçlar her yerde tercih konusu olmaya başlamıştır. Buna gerekçe olarak bazı kimyasal ilaçların insan vücudunda yan etkileri sebep olduğu, bitkisel ilaçların büyük bir kısmında ise yan etkinin yok denecek kadar az olduğu şeklinde açıklamaların yapılmasıdır.

Bitkisel kaynaklı maddelerde aktif maddelerin araştırması yapılırken o bitkinin kök, gövde, yaprak, çiçek, meyve ve tohumları incelenebilir. Kökteki veya çiçekteki aktivite farklı olabilir. Eğer bitkinin antimikrobiyal etkileri araştırılıyorsa bitkinin incelenen kısmından elde edilen ekstratın mikroorganizmaların ölümüne, inaktifleşmesine neden olup olmadığına bakılır. Germisit ya da mikrobisit etkinin uygulandığı mikroorganizmaları öldürmesi, inaktive etmesi, yani bu etkinin kalkmasından sonra da artık mikropların hiç bir şekilde gelişme ve çoğalmalarının söz konusu olmaması gerekmektedir.

Çalışmış olduğumuz *Ecballium elaterium*'un anavatanı Akdeniz ülkeleri olmakla birlikte, bitkinin Anadolu'da da yetiştiği bilinmektedir.

Eski Mısırlılar döneminden bu yana tedavi amacıyla kullanılmış olan bu bitkinin meyve suyundan elde edilen elaterium adı verilen maddenin müshil özelliği vardır. Aynı zamanda idrar arttırıcı etkisi de bilinmektedir.

Meyvelerin sıkılmasıyla elde edilen taze usare, burna çekilmek suretiyle, sinüzit tedavisinde kullanılması ülkemizde oldukça yaygındır. Klinik deneysel araştırmalarla sinüzitte bir miktar iyileşme sağladığı saptanmıştır (Baytop 1984).

Bu usarenin aynı zamanda antitümoral etkisi de belirlenmiştir. Yine halk arasında bitkinin kökünün iç kısmı bıçakla kazınarak elde edilen usare ağrı kesici ve yara iyi edici olarak cildin üzerine sarıldığı bilinmektedir. Bu bitkinin meyve özsu-
yunun halk arasında sarılığa iyi geldiği de söylenmektedir. Ancak bu konu hakkında herhangi bir araştırma yapılmamıştır.

Bu doğrultuda halk tarafından, sağlık alanında oldukça fazla kullanılan bu bitkinin antibakteriyel özellikleri daha önce araştırılmamıştır. Bu çalışmamızda yukarıda bahsi geçen *Ecballium elaterium*'un meyve özsu-
yundan elde edilen ekstratların olası antibakteriyel etkileri bilimsel olarak araştırılması yapılmıştır.

2. KONU İLE İLGİLİ YAYINLAR VE ÇALIŞMALAR

2.1. GENEL BİLGİLER

2.1.1. *Ecballium elaterium*'un Sistematigi

Bölüm : *SPERMATOPHYTA*

Alt Bölüm : *ANGIOSPERMAE*

Alt Sınıf : *Dilleniidae*

Takım : *Cucurbitales*

Familiya : *Cucurbitaceae*

Cins : *Ecballium*

Tür : *Ecballium elaterium*

2.1.2. *Ecballium elaterium*

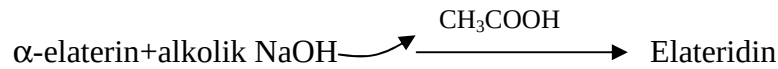
Halk arasında acı dülek, cırtatan, acı kavun ya da yabani hıyar olarak ta bilinmektedir. *Cucurbitaceae* familyasından, çok yıllık ve sürünücü, otsu ve monoik bir bitkidir. Mayıs-Eylül ayları arasında, açık sarı renkli çiçekler açan bitkiye daha çok viraneliklerde arsa ve yol kenarlarında rastlanır. Gövdesi etli bir yapıya sahip olup yatık üzeri sert kaba ve çengelli tüylerle örtülüdür. Boyu 1-2 m'ye kadar uzayabilir. Yapraklar alternan dizilişli, stipulasız, uzun saplı, lamina hemen hemen üçgen şeklinde, üst tarafı koyu yeşil renkli ve seyrek tüylü, alt tarafı ise mavimsi yeşil ve çok sık sert tüylerle kaplıdır. Damarlar yaprak kısımlarında daha çok belirgindir. Çiçekler tek cinsli, aktinomarf ve pentamerdir. Dişi çiçek kısa saplı ve tek başınadır. Erkek çiçekler uzun saplı olup, salkım şeklindedir. Kaliks 5 dişli ve tüylüdür. Korolla yalnız alt tarafta yapışık olan 5 petalden ibarettir. Erkek çiçekte bulunan 5 stamenden 4 tanesi ikişer ikişer birleşmiş durumda olup, beşincisi serbesttir. Anterler (S) şeklinde bir yarık ile açılır. Stilus üst tarafta 3 kısma ayrılmış olup, her kısım 2 parçalı bir stigma taşır. Ovaryum 3 gözlü ve çok tohumludur. Meyvenin üzeri sert tüylerle örtülüdür. Meyve oval şekilli, 3-5 cm uzunluğunda, sarımsı-yeşil renklidir. Meyveler olgunlaşınca, içlerinde meydana gelen basınç yüzünden sapa bağlandığı yerden ko-

par ve içindeki özsuyla birlikte kahverengi tohumlarını 3-6 m uzağa fırlatabilir (Baytop, T., 1963, Baytop, A., 1983). Bu fırlatmaya neden olan meyve içindeki basınç değeri, 5 deney sonucunda 160 mm/Hg olarak saptanmıştır.

Bitkinin, meyvesinin suyu güçlü katartik bir etkiye sahiptir. Bu usare *Succus elaterii* (elaterium) adını alır ve müşhil özelliğinden dolayı eski zamanlarda da kullanılmıştır. Bu drog 1949 yılına kadar İngiliz Farmostatikal Kodex'inde yer almıştır. Müshil doz fareler için 0,5-0,4mg/100g iken oral L.D 5mg/100g'dır.

Bitkinin meyvesi ve kök dışındaki basınçlı suyu inaktiftir. Elaterium'dan billur şeklinde bir bileşik izole edildi (Morries and Hannel, 1831). Bu bileşiğe α -elaterin adını verdiler. α -elaterinin emperik formülü $C_{28}H_{38}O_7$ olarak açıklandı (Berg, 1906).

Aynı kişi yaptığı çalışmalarda α -elaterini kısa bir süre alkolik NaOH ile muamele etmiş ve bunun sonucunda 1 molekül asetik asidin parçalanarak amorf, fenolik bir madde olan elateridinin meydana geldiğini açıklamıştır.



Eğer NaOH ile kaynatmaya devam edilirse, elaterin başka bir kristal bileşik olan ecballic acid'e dönüşebilir.

Ham elaterinin saflaştırılması esnasında, küçük miktarlarda ikinci bir bileşik, β -elaterin izole edilmiştir (Power and Moore, 1909).

Belkin ve Fitzgerald tümör nekroz kapasitesine sahip maddelerle ilgili bir araştırmalarında, bitki ekstratlarını elerken, *Ecballium elaterium*'un belirgin bir aktivitesinin olduğunu buldular. Bu araştırmalarında neoplazma kullandılar. Sarkoma 37, melez CAF₁, farelerinin, arka sağ bacaklarına, kas içine yerleştirildi. α -elaterin deri altına zerkedildiğinde, herhangi bir toksite ve önemli bir anti-tümör aktivite göstermez iken β -elaterin aktifti. α ve β -elaterin her ikisi birlikte periton boşluğuna verildiğinde ise oldukça aktif bulundu. Bu en son oluşan özel bir etki idi ve bu etkinin, α -elaterinin hidroliziyle meydana gelen elateridine ait olduğu bulundu.

Ecballium elaterim'un meyve suyunun amorf ekstratı, kağıt kromatografisinde iki nokta oluşturdu.

Kolon kromatografisinde bu iki saf madde izole edildi ve bu iki maddenin bütün fraksiyonlarının diğer test edilen maddeler arasında anti-tümör aktiviteye sahip olduğu bulundu. Ve bu iki ürün elatericin (cucurbitacin) A ve B olarak adlandırıldı. Bu bileşikler daha önce Enslin tarafından *Cucurbita pepo*'dan izole edilmiş ve cucurbitaein D ve I olarak isimlendirilmiştir (Oskoui, M.T.1979).

Cucurbitacin (elatericin) B'nin önemli bir anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğu da yapılan araştırmalar sonunda ortaya çıkarılmıştır.

Dondurularak (liyofilize edilerek) kurutulmuş *Ecballium elaterium* meyve suyu ekstratı 4 farklı dozda oral yoldan farelere verilmiştir. Ekstratın farelere verilmesinden 30 dakika sonra, her fareye kuyruk venalarından fizyolojik solüsyon içerisinde 0,1 ml %4'lük pontamine sky blue enjekte edilmiştir. Tablo 1'e bakıldığında farelerin vücut ağırlığına, kg'a 50mg'dan başlayan dozlarla verilmiş ve dozaj artırıldığında, aktivitenin de arttığı gözlenmiştir. Buna rağmen en yüksek inhibisyon 400 mg/kg'da gözlenmiştir. Bu dozaj farelerde yüksek bir toksik etki meydana getirmektedir. Dozaj 200 mg/kg'a düşürüldüğünde toksik etki gözlenmemekte, buna rağmen anti-inflamatuar aktivite yükselmektedir.

Tablo 2.1. Farede boya sızıntısı üzerinden *Ecballium elaterium* meyve suyunun oral yoldan verildiğinde etkileri

	Doz (mg/kg)	Boya Sızıntısı (µg/Fare) Ortalama ± SE	İnhibisyon (%)
Kontrol	0	238,3 ± 33,8	-
Meyve suyu	50	163,3 ± 13,8 ^a	31,3
(Dondurulmuş)	100	151,4 ± 15,2 ^a	36,3
	200	70,4 ± 9,2 ^b	70,3
	400	64,2 ± 4,6 ^b	72,7
Kontrol.....	0	101,2 ± 4,1	-
Acetylsalicylic acid	200	53,5 ± 3,3 ^b	46,6

a < 0,05

bp < 0,001

Aktif maddenin izolasyonunda dondurularak kurutulmuş meyve suyu H₂O içinde çözünmüş ve fraksiyonlar CHCl₃, EtOAc ve n-BuOH ile muamele edilmiştir.

Her ekstrat liyofilize durumda 400mg'a eşdeğer miktarda oral yoldan farelere verilmiştir. CHCl_3 ekstratı farelerde kg'a 20mg verildiği takdirde HOAc'nin garip bir şekilde vascular permeabilitinin inhibe edilmesine neden olduğu gözlenmiştir.

CHCl_3 ekstratı üç eşit parçaya ayrılarak, tlc(ince tabaka kromatografisi) uygulanmış ve $\text{CH}_3\text{Cl}_3\text{-MeOH}$ (1:1) karışımı ile Si-gel tabakasından çıkarılan her fraksiyon, 40mg CHCl_3 ekstratına tekabül edecek miktarda farelere verilmiştir. Bunun sonucunda yalnızca fraksiyon III önemli bir anti-inflamatuar etki göstermiştir.

III. Fraksiyon tlc'ye tabi tutulmuş ve 4 fraksiyon vermiştir. Her parça $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$ (1:1) ile ayrı ayrı si-gel'den ayrılmış ve yalnızca fraksiyon III.2'de önemli bir anti-inflamatuar etki gözlenmiştir.

Tablo 2.2. Farelerde boya sızıntısı üzerinden CHCl_3 fraksiyon III'ün 4 alt fraksiyonunu etkileri

	Doz (mg/kg)	Boya sızıntısı ($\mu\text{g}/\text{fare}$) Ortalama $\pm$ SE	İnhibisyon (%)
Kontrol	0	191,8 $\pm$ 15,3	-
Fraction III-1	22,6	195,7 $\pm$ 20,3	-2,0
Fraction III-2	5,9	57,5 + 11,3	69,6
Fraction III-3	4,3	198,4 $\pm$ 17,7	-3,5
Fraction III-4	22,3	226,4 $\pm$ 14,6	-17,9

Daha sonra önemli bir anti-inflamatuar etki gösteren bu bileşen mp. , U.V. absorpsiyonu ve spektra değerleri incelenmiştir. Netice de bu bileşiğin streoidal ve triterpenoidal bir yapıya sahip olduğu ileri sürülmüştür.

Kabakgillerin, lanostanetype triterpenoid, *Ecballium elaterium*'un ise esas anlamda bir triterpenoid olduğu ve meyve suyunun CHCl_3 ekstratından cucurbitacin E, B, D ve I izole edildiği rapor edilmiştir.

Karakteristik cucurbitacinlerin U.V. ışığı altında kütle ağırlığı 23'tür. Bu maddenin U.V. spektrumu 228nm'de maximum bir pik göstermektedir. Bu maddenin tüm bunlara bağlı olarak cucurbitacin B ile aynı madde olduğu rapor edilmiştir. Yapılan tüm analizler de bu sonucu doğrulamıştır. Cucurbitacin B'nin çeşitli fizyolojik aktiviteleri (purgative etkisi ve anti-tümör aktivitesi) bilinmektedir. Bunun yanında anti-

inflatuar bir aktiviteye de sahip olduğu bu çalışmada rapor edilmiştir (Yeşilada, E. et al, 1988).

Ecballium elaterium'un taze meyve suyu Türk halk tıbbında nasal aspirasyonla sinzıt tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak belirli oranda dile edilmeden kullanıldığı taktirde ölüm olaylarının olduğu rapor edilmiştir. Dilüe edilmeden kullanıldığında yüksek toksite, şiddetli ağrı ve acı, st solunum yollarında tıkanma, nefes darlığı ve baş ağrısı gibi durumlar meydana gelebilir. Bu yüzden meyve suyu mutlaka dile edilerek doğru şekilde kullanılmalıdır. Meyve suyunun bir non-toksik dozu tanımlanmıştır. Hacettepe Üniversitesi Hastanesinde, sinüzitten şikayetçi 49 gönüllü ile çalışılmıştır. Konsultasyon ve X-ışınları ile tıbbi teşhisten sonra hastalara, bir seri dilüsyona tabi tutulmuş meyve sularından uygulanarak non-toksik ve etkili doz bulunmuştur. Bu dozaj uygulamasında hastaların %71'inde iyileşme meydana gelmiş, %20'sinde ise klinik olarak i rahatlaması not edilmiştir. Buna rağmen röntgenler sinüslerin tamamen boşalmadığını göstermiştir. Hastaların %91'inde iyileşme meydana gelebildi.

Bu alışma esnasında cucurbitacin B'nin güçlü bir anti-inflatuar etkiye sahip olduğu ve vascular permeabilityyi arttırdığı, test modellerinde dikkate alınmıştır. Halen devam etmekte olan çalışmalar cucurbitacin B'nin, in vivo bir test modelinde, sinzıt üzerindeki etkilerini araştırmaya yöneliktir (Sezik, E., 1995).

Ecballium elaterium'un meyve suyunun etkisi üzerine bir başka araştırma ise bazı balık türlerinin kalpleri üzerinde yapılmıştır. Yapılan araştırmalarda meyve suyunun kalp hareketlerini inhibe edici bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. 1 ml suda maximum doz 0,5 cc olup öldürücü değildir. Fakat bazen geçici kalp durması meydana getirmektedir.

Ecballium elaterium'un meyve suyundan elaterase enzimi izole edilmiştir. Elateridinin bu enzimle maximum hidrolizi acetate buffer de pH 5,1 - 5,6'da, phosphate bufferde 4,9-5,3'de meydana gelmiştir.

Ecballium elaterium'un köklerinde, yaprakların da ve meyvelerindeki yağ asitleri araştırılmış, köklerde ve meyvelerde önemli yağ asitleri olan lauric acid ve palmitic acid, yapraklarda ise palmitic acid ve lineloic acid tespit edilmiştir (Gonzalez, 1966).

Ecballium elaterium belirgin cucurbitacinler için iyi bir kaynak olarak bulunmuş olup, bitkinin meyve suyunda büyük miktarlarda, cucurbitain D (elatericin A) ve cucurbitain I (elatericin B) olduğu gösterilmiştir (Lavie, 1958).

Bitkinin meyve, kök ve yapraklarındaki acı maddenin dağılımı ve kompozisyonu gösterilmiştir (Gonzalez, 1966). Acı maddeler idioblast adı verilen hücrelerde birikmekte ve bu hücreler bitkinin en fazla yaprak ve köklerinde bulunmaktaydı. Yapılan araştırmalarda benzer acı maddelere *Brassicaceae*, *Begoniaceae* Familyaları ile *Scrophulariaceae* Familyasından *Gratiola officinalis* türünde de rastlanmıştır.

Cucurbitaceae türlerinin acı maddeleri üzerinde yapılan araştırmalarda glikozit bağlı tekrakiklik Triterpen olan Cucurbitacin'lerin bu acılığı oluşturduğu ortaya çıkmıştır. Familya üyelerinde Cucurbitacin'den başka, yine acı tadı veren pentakiklik Triterpen-Saponinlerin bulunuşu da karakteristiktir.

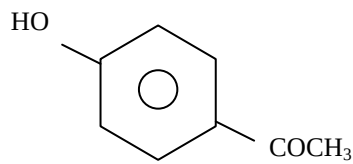
Daha sonra yapılan araştırmalarda *Ecballium elaterium*'un yaprak, kök ve meyvelerinden saf Cucurbitacin E, B, C, I, D, G ve H elde edildiği açıklanmıştır (Gonzalez, 1966).

Ecballium elaterium'un ham etheral ekstratından cucurbitacin D, E ve I'nın kristalizasyonu esnasında 5 fenolik kristal bileşik izole edilmiştir (Lavie, 1974).

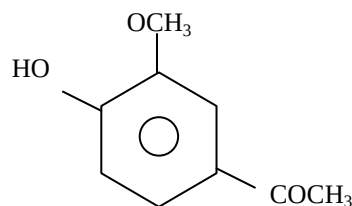
Bunlar;

1. Hydroquinone

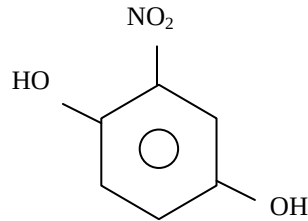
2. 4-Hydroxy-acetophenone



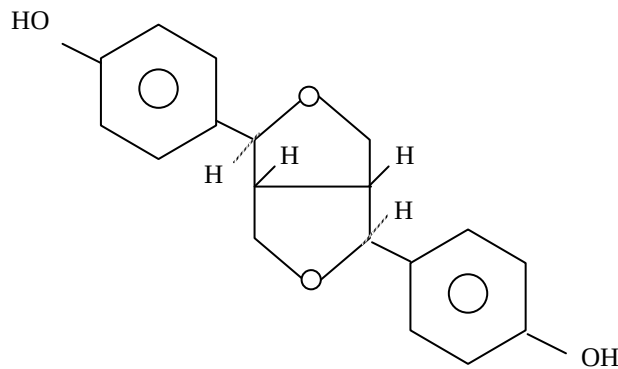
3. 4-Hydroxy-3-methoxyacetophenone



4. 2-Nitroquinol (Sentetik olarak bilinmesine rağmen ilk kez doğal olarak meydana geldiği rapor edilmiştir.)



5. 4-Hydroxyphenyl-bisepoxy lignan (ilginç bir bileşiktir. Doğal oluşan lignanlar için tek Oksijenli aromatik halkaya sahip ilk örnektir.)



Bu çalışma esnasında ana eriyikten 5 tane daha cucurbitacin izole edilmiş olup, bunlar da;

1. Cucurbitacin L
2. Cucurbitacin R (dihydrocucurbitacin D)
3. Anhydro-22 deoxo-3-epi-isocucurbitacin D
4. Hexanocucurbitacin I
5. 16-Deoxy- Δ 16-hexanocucurbitacin O'dır.

Ecballium elaterium'un içerdiği steroller araştırıldığında, bitkinin elasterol, dihydroelasterol ve tetrahydroelasterol içerdiği bulunmuştur (Gonzalez, 1966).

Bu bulgular uzun süre tartışılmış, fakat bu konuda yeni bir araştırma yapılmadığı için Gonzalez'in bulduğu sonuçlar kabul edilmiştir.

Son yıllarda bitkinin taze meyve suyu üzerinde yapılan araştırmalarda, meyve suyunun metanol ekstratından oleanolic asit gibi karakteristik beş triterpenoid glikozides elde edildi. Bunlar;

1. 3-O-beta-D-glucopyranoside
2. 3-O-beta-D-glucopyranosyl-3-beta-hydroxyolean-12-en-28-oic acid 28-O-beta-D-glucopyranoside
3. Oleanolic acid 3-O-beta-D-glucopyranosyl (1...>2)-beta-D-glucopyranoside
4. 3-O-beta-D-glucopyranosyl-3-beta-hydroxy-11-oxo-olean-12-en-28-oic acid 28-o-beta-D-glucopyranoside
5. Oleanolic acid 3-O-beta-D-glucopyranosyl (1...>3) [beta-D-glucopyranosyl (1...>2)-beta-D-glucopyranoside

Son bulunan iki bileşik elateroside A ve elateroside B şeklinde yeniden düzenlenmiştir. Bileşiklerin yapıları 2D-nmr ve diğer spektral analizlerle aydınlatılmıştır (Chakravarty, A.K. et al, 1997).

Uzun yıllardan beri bitkilerin içinde bulunan bazı peptidlerin proteolitik enzimlerin aktivitelerini inhibe edilebildiği biliniyordu. 1980 yılında Cucurbitaceae familyasına ait bitkiler üzerinde yapılan bir çalışmayla serine proteazların, özellikle tripsinin aktivitesini inhibe eden düşük kütle numaralı, polipeptitler keşfedildi.

Bu çalışmada *Cucurbita maxima*'dan iki tripsin inhibitörü izole edildi. Bunlara CMTI I ve CMTI II kodları verildi ve daha sonra amino asit dizilimleri açıklandı (Kuprysewski, 1983).

Cucurbita maxima'dan böyle bir sonuç alınması, aynı familyadan *Ecballium elaterium* üzerinde de çalışmaları yoğunlaştırmış ve çoğu proteolitik enzimler üzerinde inhibitör aktiviteye sahip, zengin bir polipeptit kaynağı olduğu keşfedilmiştir. En yüksek etkiyi de tripsin aktivitesi üzerinde göstermiştir.

Bu çalışmada tripsinin immobilize edilmesiyle, affinity kromatografide tripsinin inhibisyonundan sorumlu 3 peptit izole edilmiştir. Bunu ion-exchange kromatografi takip etmiş ve sonuçta *Ecballium elaterium*'dan tripsin aktivitesinin inhibisyonun da esas fonksiyonu olan EETI II (*Ecballium elaterium* trypsin inhibitor II) HPLC ile saflaştırılarak elde edilmiştir (Le-Nguyen et al, 1989).

EETI II'yi daha büyük noktalarda elde etmek ve dizilimini incelemek için bu konudaki çalışmalar halen devam etmektedir.

2.2. Çalışmalarda Kullanılan Patojen Bakteriler

2.2.1. *Staphylococcus aureus*

İnsan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara yolaçabilen *Staphylococcus* genusu bakterileri oldukça eski zamanlarda bazı araştırmacılar tarafından iltahaplarda görülmüş olmakla beraber ilk *Staphylococcus* adı 1880'de Ogston tarafından kullanılmıştır. Üremeleri esnasında birbirinden ayrılmayarak üzüm salkımı şeklinde, düzensiz kümeler oluşturulmalarına bakılarak bu bakterilere bu ad uygun bulunmuştur.

Staphylococcus aureus adı altında anılan tür özellikle, koagülaz olumlu, mannitolü aerop ve anaerop koşullarda asit oluşturarak parçalayan alfa toksin yapan, novobiocin'e duyarlı, insan ve diğer sıcak kanlı hayvanlarda geniş çapta piyogen toksik ve besin zehirlenmesi niteliğinde enfeksiyonlara neden olan stafilokoklar toplanır. Doğada oldukça yaygın olan tozda, toprakta, eşyada insan ve hayvan deri mukozası ağız ve nazofarinks floralarında bulunan *Staphylococcus aureus* bakterilerinin günümüz için en önemli yönleri kullanılmakta olan kemoterapötik maddelerin bir çoğuna hızla dayanıklılık kazanmaları ve bu nedenle eskiye oranla enfeksiyonların daha sık rastlanmasıdır (Jawest,E. et al., 1989).

2.2.2. Görünüm ve Boyanma Özellikleri

Teker teker incelendiklerinde stafilokok hücreleri diğer koklara göre daha çok olmak üzere tam yuvarlağa yakın şekildedir. Stafilokoklar yaklaşık 1µm çapındadırlar. Üreme esnasında bölünme sonucu meydana gelen hücreler birbirlerinden ayrılmazlar ve üç boyut yönünce çoğaldıklarından üzüm salkımına benzer kümeler yaparlar. Burada kokların şeklinin tam yuvarlak ve bakterilerin birbirine benzer görünümde olması stafilokoklar için karakteristik ise de streptokoklarla birarada bulundukları zaman ikisini görünümlerine göre ayırt etmek olanaksızdır. Bu taktirde stafilokokları streptokoklardan ayırtetmekte kullanılan en yararlı yöntem katalaz testi olup, stafilokoklarda deney olumlu olduğu halde, streptokoklarda olumsuzdur.

Stafilokoklar çeşitli bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram (+) pozitifler. Sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüzdürler. Bazı kökenlerinde belirgin bir kap-

sül ya da mukus katmanı olur. Hücre çeperleri özel yapıda olup peptidoglycan, teithoic acid ve türe özgü presipitinogen protein birimlerini içerir. Bazı kimyasal maddeler ve özellikle penicilinlerin, lizostafin ve asitlerin etkisi ile erirler veya L formlarına dönüşürler. Lizozimin eritici etkisine dirençlidirler (Bilgehan, H., 1995).

2.2.3. Üreme ve Biyokimyasal Özellikler

Stafilokoklar basit besiyerleri dahil birçok besiyerlerinde ürerlerse de kanlı besiyerinde daha iyi çoğalırlar. Fakültatif anaeropturlar. Oksijenli ortamda üremeyi sağ tutarlarsa da belli miktarda oksijenli hatta tamamen oksijensiz ortamda bile üreyebilirler. Optimal olarak 37°C'de ve pH 7,4'te ürerler. Jeloz besiyerinde bolca ürer ve yuvarlak kenarlı, mat, kabarık S tipinde ve 1,2 mm çapında koloniler yaparlar. Uygun ortam bulurlarsa koloniler 6-8 mm çapına ulaşabilirler.

Geneli altın sarısı renginde pigment oluştururlar ve koloniler bu renktedir. Birde porselen beyazı renginde koloni oluşturan stafilokoklar vardır. İnsanlardan hastalık etkeni olarak ayrılan stafilokok kökenleri bu ikisi arasında sarı ve turuncunun çeşitli renklerinde koloni yapabilirler.

Buyyonda başlangıçta bir bulanıklık meydana getirerek ürerler. Sonra besiyeri durulur ve dipte ince bir çökelti oluşur. Kanlı jeloz besiyerinde üretilen stafilokoklardan çoğu kolonilerin etrafında tam hemoliz yaparlar. Stafilokoklar başta glikoz olmak üzere birçok karbonhidratları parçalar ve son ürün olarak laktik acid oluştururlar. Fakat gaz yapmazlar. Ancak şekerlerden mannitol üzerine olan etkileri özellik taşımakta olup bu karbonhidratı yalnız koagülaz olumlu (patojen) stafilokoklar parçaladıkları halde koagülaz olumsuz olanlar parçalayamazlar. Bu nedenle mannitole etki, bir patojenlik deneyi olarak kullanılmaktadır ve koagülaz testinden sonra *Staphylococcus aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmede en yararlı yöntemdir. %1 glikoz içeren besiyerlerinde üretilince daha belirgin olarak katalaz olumlu, oksidaz olumsuzdurlar. Nitratları, nitritlere indirgerler (Okar, İ., 1989, Beka, H., 1991).

2.2.4. Dirençlik

Stafilokoklar oldukça dayanıklı bakterilerdir. Diğer bakterilerin çoğu 60°C'de 30 dakika bekletilmekle öldükleri halde stafilokoklar bir saat süre sonra bile canlılık-

larını saklı tutabilirler. Aynı şekilde sporsuz olmalarına rağmen kuruluğa karşı dayanıklılıkları da fazladır. Bazı dezenfenktanların alışılacmış konsantrasyonlarına dayanabilirlerse de kristal viyole ve malaşit yeşili gibi boyaların, alçak konsantrasyonları dahi onları öldürürler.

Genel olarak sulfonamid ve antibiyotik maddelere karşı diğer bakterilere göre dayanıklı oldukları gibi stafilokoklar hızlı kemoterapötiklere direnç kazanarak onlardan etkilenmeyen kökenler haline dönüşürler (Bilgehan, H., 1995).

2.2.5. Hastalandırıcılık Özellikleri

Stafilokoklar hastalık meydana getirebilme bakımından çeşitli durumlar gösterirler. İnsanların %10-40'ının burunlarında *Staphylococcus aureus* bulunabilir. Burun dışında nazofarink, deri ve daha olmak üzere perineum, gastroentestinal sistem ve genital bölgede *S.aureus* kolonizasyonlarına rastlanmaktadır. Bunun dışında aşağıda da açıklanacağı gibi stafilokoklar besin zehirlenmelerinden, lokal iltihaplanmalar ve nihayet ağır sepsislere varacak kadar çeşitli ve değişik derecede hastalandırıcılık özelliği gösterebilirler (Okar, İ., 1989).

2.2.6. *Bacillus subtilis*

Endospor oluşturan, gram (+) pozitif çomaklardır. *Bacillus* cinsi içerisinde birçoğu saprafit aerob, sporlu, çomakçılar bulunmaktadır.

Bacillus subtilis'in sporları doğada çok yaygın olup toz, toprak gübre, bitki ve hayvanlar ile süt ve sularda bulunan bu bakteri, yaklaşık 1,5-3µm boyunda, 0,5-0,8µm eninde tek tek, bazen zincirler yapan, çomakçık şeklindedir. Peritrih kirpikleri bulunduğundan hareketli olup, sporları oval şekilde ve subterminaldir. Bakterinin kalınlığını aşmaz ve hücre şeklini bozmazlar. Kapsülü yoktur, gram (+) pozitifdir.. Bazı kapsüllü, hareketsiz ve uzun zincir yapan varyantları üreyebilirler. Buyyonda hafif bir bulanıklık ve yüzeyde kalın ve buruşuk bir zar yaparak üremesi karakteristiktir. Jelozdaki kolonileri kirli beyaz, gri renkte mat olup kenarları pürütlü, yüzeyi bol granüllü R tipindedir. Zamanla bol üreyerek, besiyerinin yüzeyini buruşuk bir zar gibi kaplar. Bazı kökenleri kırmızımsı ve kahverengi, daha az olarak turuncu ve siyah pigmentli oluşturabilirler. Bu olay besiyeri yapısı ile ilgilidir.

Jelatine yapılan batırma kültürlerinde, batırma çizgisi boyunda jelatini sütun ya da kese biçiminde eritir. Sporları çeşitli etkilere karşı dayanıklıdır. Bakteri aslında saprofit olmakla beraber doğrudan doğruya doku ve özellikle göz içerisine girmesi sonucunda panoftalmi, iridoksilit gibi göz yangıları meydana getirebilir. Bazı besin zehirlenmelerinden sorumlu olduklarından kuşulanılmaktadır. Ekmeğin yumuşayarak bozulmasına neden olur.

Kültür süzüntülerinden subtilin adı verilen bir kısım bakterilere karşı inhibitör etki gösteren bir madde de elde edilmiştir. Fare peritonuna verildiklerinde bazen ölüme yol açarlar. Ancak hiç bir zaman *B.antracis* kadar tehlikeli değildirler (Bilgehan, H., 1995).

2.2.7. *Escherichia Coli*

Enterobacter familyası içerisinde yer alan bu tür, hafif hareketli, genelde hareketsiz, gram (-) negatif, çomakçılar biçimindeki bakterilerdir. Endospor oluşturmazlar, değişebilen anaeropturlar. Fermantatif metabolizmaları var olup, glikozu parçalayarak asit ve gaz oluştururlar.

2.2.8. Görünüm ve Boyanma Özellikleri

E.coli yaklaşık olarak 2-6µm boyunda ve 1,0-1,5µm eninde, düz uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bakterilerdir. Genelde etraflarında bulunan kirpikleri aracılığı ile hareketli olmakla beraber hareketleri yavaştır. Hatta hareketsiz görünebilirler. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram olumsuzdurlar. Etraflarında kapsül maddeleri bulunmakla beraber organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül ya da mikrokapsül bulunur.

2.2.9. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

E.coli buyyon ve jeloz besiyerinde kolayca ürer. Değişebilen anaerop olup, optimal üreme ısı 37°C'dir. 15-45 derecelerde üreyebilirler. Özellikle 44°C'de üreyebilmeleri benzer bazı bakterilerden ayırt edici bir özelliktir. Ortalama pH 7,2'de ürerler. Buyyonda homojen bulunaklık yaparlar. Jelozlar hafif kabarık, düzgün 1-2 mm çapında parlak S tipi koloniler yaparlar.

Koli basilleri birçok şekerleri asit ve gaz meydana getirerek parçalarlar. Laktoza olan etkileri, bu şekere etki etmeyen diğer bağırsak bakterilerinden ve özellikle *Salmonella* ve *Shigella*'lardan ayırt edici bir özellikleridir. Endo Agarda *E.coli* kolonileri laktozu parçalayıp asit oluşturdıklarından kırmızı madeni parlaklık verirler. Aynı temele dayalı olarak Eozin metilen mavisi besiyerinde mavi-siyah ve yeşilimsi parlaklıklı SS agar, MC Conkey Jelozu vb. besiyerlerinde de koli basilleri kırmızı koloniler yaparlar.

E.coli bakterileri triptofandan indol yaparlar.metil kırmızısı testi olumlu, Voges proskauer testi olumsuzdur. Simon'un sitratlı besiyerinde üremezler. Bu dört karakter yani İndol (İ), Metil Kırmızısı (M), Voges proskauer (V) ve sitrat (C) birlikte incelenir ve ilk harflerin birleşmesinden oluşan İMVİC testleri adını alırlar(Cingilli, H., 1997).

Özellikle bağırsak bakterilerini bu testlerle olan ilişkilerine göre ayırt etmek mümkündür. Bu durumda *E.coli* için İMVİC testleri +--- dir denir.

2.2.10. Dirençlilik

E.coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60°C ısıda 30 dakika, oda ısısında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa dirençlidir. Dezenfektanlara karşı dirençsizdir. Malaşit yeşili, Brillant yeşili ve fuksin gibi boyalar, safra, safra tuzları, sodium tetraiyonat,bizmut sitrat, sodium sülfat, sodium dezoksikolat selenit tuzlarına karşı dirençleri *Salmonella* ve *Shigella* gibi bakterilere göre daha az olduğundan bu maddeler belli konsantrasyonlarda besiyerlerine konularak *E.coli* basillerinin inhibisyonu ile, birlikte bulundukları *Salmonella* ve *Shigella*'lar için ayırtıcı ve çoğaltıcı özellikler kazandırılırlar (Beka, H., 1991).

2.2.11. *E.coli*'nin Yaptığı Hastalıklar

E.coli uzun yıllar fırsatçı patojen yani kendisi doğrudan hastalık yapmayan, ancak vücutta başka bir nedenle hastalığa bağlı olarak direnç düştüğünde fırsat bularak kendi hastalığını yapan bir bakteri olarak tanınmış iken, 1980'li yıllardan bu yana elde edilen bulgular ile *E.coli*'nin insanları ölüme kadar götürebilen hastalıklara neden olan ve doğrudan hastalandırma özelliğine sahip (primer patojen) ırklarının bulunduğu gösterilmiştir. İnsanlarda *E.coli*'nin yaptığı hastalıklar intestinal (bağırsak

hastalıkları) ve ekstraintestinal (bağırsak dışı hastalıklar olarak iki grupta incelenebilir. Bağırsak hastalıkları arasında gastroenteritis (ateş, diyare, kramp şeklinde ortaya çıkması önemlidir. Gastroenteritis yan *E.coli*'ler arasında özellikle çocuklarda görülen dizanteriye ve koleraya benzer diyareye neden olan ırklardan söz edilebilir.

Bağırsak dışı hastalıklar olarak idrar yolları enfeksiyonu, menenjit, eklem sertleşmesi, yara enfeksiyonları, böbrek yetersizliği, bağışıklık ile ilgili hastalıklar, safra kesesi enfeksiyonları, karaciğer absesi sayılabilir (Forum (Anonim), Bilim ve Teknik, Ekim 1996, Robert, F., Bryan, G. 1986).

2.2.12. *Salmonella Enteriditis*

2.2.13. Görünüm ve Boyanma Özellikleri

Salmonella bakterileri yaklaşık olarak 2,0 - 5,0 µm boyunda 07 - 1,5 µm eninde çomakçık şeklinde peritrih kirpikleri aracılığı ile hareketli, sporsuz, kapsülsüz bakterilerdir. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar ve gram (-) negatiftirler.

2.2.14. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

Salmonella bakterileri alışılmış birçok besiyerinde ürerler. Aerop ve fakültatif anaeropturlar. 37°C'de en iyi ürerlerse de üreme ısıları sınırları oldukça geniştir. (20°C-40°C) Optimum üreme pH 7.2'de seviyesinde olmaktadır. Buyyon ve benzeri sıvı besiyerlerinde homojen bulanıklık yaparlar. Jelozda ise büyücek 1-3 mm çapında, yuvarlak, çoğu kez kabarık, düzgün yüzeyli ve düz kenarlı koloniler yaparlar. Ama bunun yanında daha ufak çaplı cüce koloniler yapan türleri de vardır.

Salmonellalar laktoza etki etmezler. Bu karakterleri onları *Escherichia*'lardan ilk ayırmada önem taşır. İçerisinde laktoz ve uygun bir ayıraç bulunan selektif plak besiyerine (Endo-EMB) ekilen bu bakteriler laktoza etki etmediklerinden renksiz, halbuki laktoza etkili olanlar koyu kırmızı, siyah, yeşilimsi parlak koloniler yaparlar. Laktozdan başka *Salmonellalar*'ın hiç bir türün başlıca şekerlerden genellikle sükroz, adonitol ve salisiline etki etmezler.

2.2.15. Dirençlilik

Salmonella bakterileri ısıya dirençsizdirler. 55°C'de 20 dakikada ölürlür. Kuru- luğa dirençleri yoktur. Ancak gün ışığından uzak nemli ortamlarda, lağım sularında, kuyu sularında ve toprakta uzun süre canlı kalabilirler. Soğuya çok dirençlidirler. Liyofilize durumlarda yıllarca canlı kalabilirler.

Doğrudan temas etmek koşulu ile antiseptikler çabuk etkilidirler. Normal kon- santrasyonlardaki klor, sulardaki *Salmonella*'ları öldürür. Ancak dışkı parçaları ve diğer organik maddeler içindeki *Salmonella*'lara bu maddenin etkisi daha az olmak- tadır.

Salmonella'ların saklanması için %1 agar ve %2 NaHPO₄ 12H₂O bulunan dik jeloza batırma kültürü yapıp, üretildikten sonra sıkıca kapatılmak suretiyle olmakta- dır. Bu şekilde aylarca canlı kalabilirler. Ayrıca *Salmonella*'lar liyofilize edilebilirler (Unat, E. K., 1982).

2.2.16. Hastalandırıcılık Özellikleri

Gram (-)negatif diğer bakterilerdeki gibi *Salmonella*'lar da endotoksinler bu- lunmaktadır. Endotoksin etkisinin *Salmonella*'ların hücre çeperindeki lipopolisakkaritlerde bulunduğu, bunların polisakkarit kısmının O antijenleri niteli- ğinde oldukları, lipid kısmının ise toksik olduğu bilinmektedir. Endotoksinlerin or- ganizma üzerindeki belli başlı etkileri şöyle özetlenebilir. Ateş yükselmesi, lökopeni, lökositoz, önce hiper sonra hipoglisemi, kan basıncının düşmesi, letal şok.

Salmonellaların yaptığı hastalıklar üç tipte toplanır.

I. Genel enfeksiyon niteliğindeki hastalıklar

II. Entero-kolitler (Besin zehirlenmeleri)

III. Sepsis ve lokalize organ hastalıklar.

Salmonella enteriditis hayvanlarda patojendir. Hayvanlardan insanlara et, süt, yumurta, krema ve bunlardan yapılan çeşitli besin maddeleri ile kolayca bulaşırlar. Bunların yenilmesi ile insanlarda kısa süreli akut ateşli veya çoğu kez ateşsiz şiddetli sürgün, bulantı ve kusma ile seyreden enfeksiyonlar görülmektedir (Robert, F. B., Bryan, G. H., 1986, Unat, E. K., 1982).

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. MATERİYAL

3.1.1. Ekstrat

Bu çalışmada *Cucurbitaceae* familyası üyelerinden *Ecballium elaterium*'un olgunlaşmış meyvelerinin suları materyal olarak kullanıldı. Olgun meyveler toplanarak el ile tek tek suları sıkıldı. Bu meyve suyunun bir kısmı aynı gün teste tabi tutulurken, bir kısımda $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ve TCA ile çöktürülerek, liyofilize edildi.

Şekil: 3.1. *Ecballium elaterium*; Olgunlaşmış meyve

Şekil 3.2. *Ecballium elaterium*; meyvelerinin sapları üzerindeki görünümü

Şekil 3.3. *Ecballium elaterium*; meyvelerinin bitki üzerindeki durumu

3.1.2. Mikroorganizmalar

Bu çalışmada; kullanılan bakteriler Biofarma İlaç San. Tic. A.Ş.'den temin edildi.

1. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
2. *Salmenalla enteriditis* ATCC 13076
3. *Escherichia coli* ATCC 25922
4. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 bakterileri kullanıldı.

3.1.3. Besiyerleri

Bakteri kültürlerinin hazırlanmasında nutrient agar (DIFCO) besiyeri, mikropleyt çalışmasında ise nutrient broth (DIFCO) besiyeri kullanıldı.

3.1.4. Kimyasal Maddeler

1. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
2. TCA
3. NaCl (%0,9)
4. Distile su
5. Sodyum sülfid
6. Sülfirik asit

3.2. Metod

3.2.1. Dializ Tüpünün Hazırlanması

Yarı geçirgen bir yapıya sahip olan dializ tüpünün, üzerindeki gliserinin uzaklaştırılması için 4 saat boyunca saf su içinde tutuldu. Saf su her 30 dakikada bir değiştirildi. Daha sonra sülfür bileşiklerini uzaklaştırmak için %0,3 (w/v)'lük sodyum sülfid (Na_2SO_3) çözeltisinde 80°C 'de 1 dakika tutuldu. 2 Dakika süreyle 60°C 'lik sıcak suda yıkandı. Bunu takiben %0.2 (w/v)'lik H_2SO_4 ile muamele edilerek acı difikasyona tabi tutuldu. En sonunda sıcak su ile yıkanarak asit uzaklaştırıldı ve saf suyun içine konularak kullanıma hazır duruma getirildi.

3.2.2. Ekstratların Elde Edilmesi

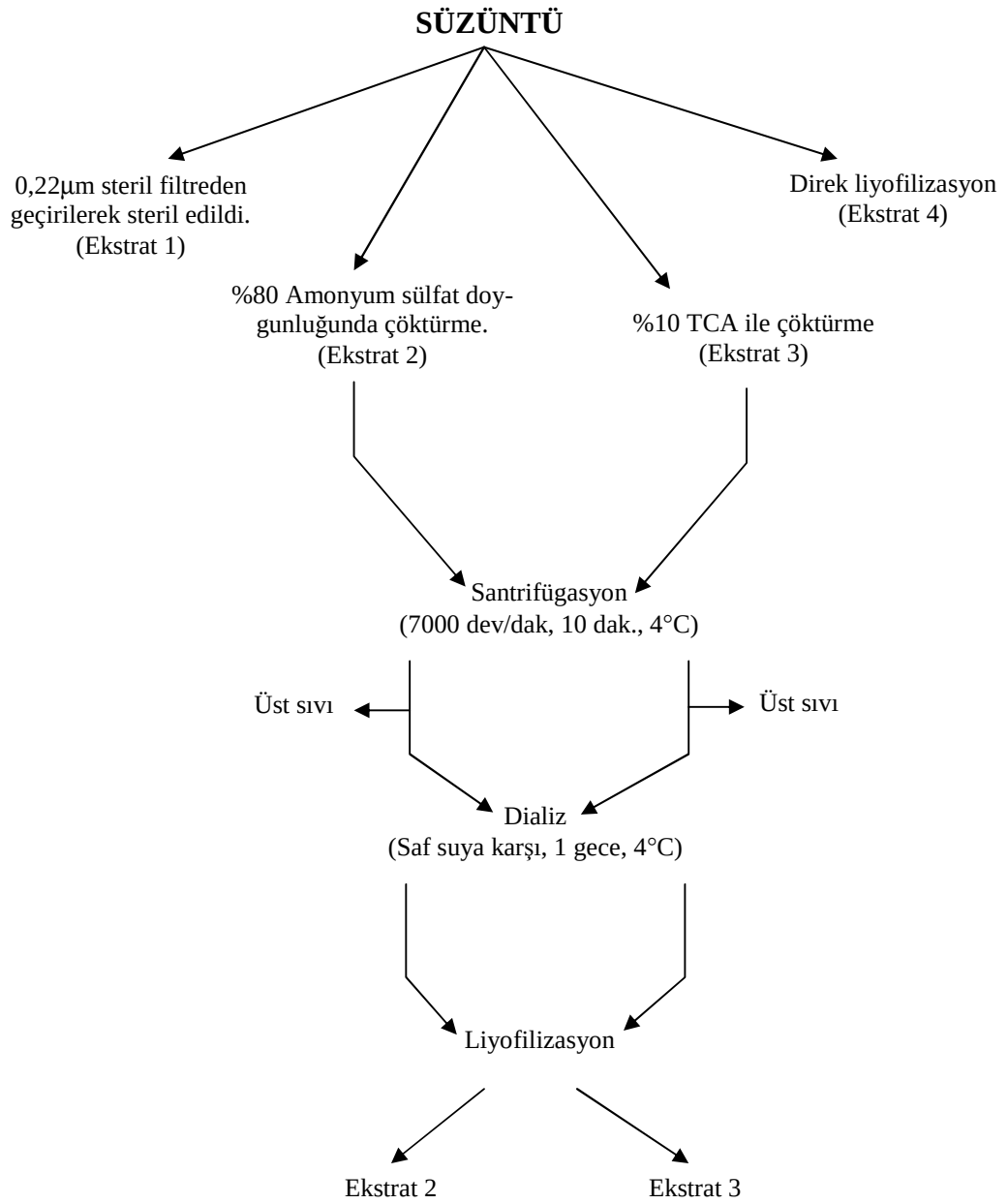
Ecballium elaterium'un olgunlaşmış meyveleri toplanarak, tek tek suları sıkıldı. Sıkma esnasında bitki tohumları da, meyve suyuna karıştığı için, bir tülbentten süzülerek tohumlarından ayrıldı. Süzüntü daha sonra iki ayrı kaba taksim edildi.

Bu süzüntünün meyve özsuynun bir kısmı hemen kullanıldı. (Meyve suyu sıkılır sıkılmaz, aktivitesini tayin etmek amacıyla teste alındı) Meyve suyu 0,22µm çapında porlara sahip steril filtreden geçirilerek, steril duruma getirildi (Ekstrat 1).

Süzüntünün geriye kalanı ise 3 kısma ayrıldı. Bir kısım %80 (NH₄)₂SO₄ doygunluğuna getirildi. Bu amaçla 10ml süzüntüye 5,6 g (NH₄)₂SO₄ yavaş yavaş karıştırılarak ilave edildi. Süzüntünün diğer bir kısmı ise eşit hacimde %10 TCA (Trichloroacetic acid) ilave edilerek çöktürüldü.

Her iki çöktürme yöntemi ile de elde edilen çökeltiler santrifügasyon (7000 dev/dak, 10 dak., 4°C) ile ayrılarak, az miktarda saf suda süspanse edildi. Dializ edilen süspansiyonlar liyofilize edildi (Ekstrat 2, Ekstrat 3). Süzüntünün ayrılan üçüncü kısmı ise direkt liyofilize edildi (Ekstrat 4).

Böylece biri sıvı, diğer üç tanesi toz halde olmak üzere dört ekstrat elde edildi (Aydın,Y.Ç.1997).(Şekil .3.4)



Şekil 3.4. *Ecballium elaterium*'un olgunlaşmış meyvelerinden hazırlanan ekstratlar ve elde edilme yöntemleri

3.2.3. Besiyeri ve Bakterilerin Hazırlanması

3.2.3.1. Besiyerlerin Hazırlanması

Bu çalışmanın her aşamasında bakterilerin gelişimi için genel amaçlı bir besiyeri olan nutrient agar ve nutrient broth kullanıldı. Kullanılan besiyerleri hazırlandıktan sonra, 121°C'de, 1,5 atm'de, 20 dakika sterilizasyona tabi tutuldu. Nutrient broth steril tüplere 10 ml dağıtılarak, +4°C'de kullanılacağı zamana kadar saklandı. Nutrient agar otoklavdan çıktıktan sonra 45-50°C'ye kadar soğutulurken, steril petrilere yaklaşık 4 mm kalınlıkta (20ml) olacak şekilde dağıtıldı. Besiyeri katılaştıktan sonra, kullanılacağı zamana kadar buzdolabında +4°C'de muhafaza edildi.

3.2.3.2. Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması

Bakteriler çalışma süresince tüplere, eğri olarak dökülmüş nutrient agarda, 4°C'de saklandı. Her 21 günde bir bakteri kültürlerinden pasaj alınarak tazelendi.

Çalışma esnasında sıcaklığı oda ısısına getirilmiş bakteri kültürlerinden, petrilendirilmiş nutrient agara pasaj alınarak 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Böylece çalışmalarda taze bakteri kültürü kullanıldı.

Burada önemli olan, kültür tazeleme işlemleri esnasında saf bakteri kültürlerinin kontamine olmamasıdır.

3.2.3.3. Bakterilerin Mc Farland Bulanıklık Standardına Ayarlanması

Antibakteriyel çalışmalarda bakteri süspansiyonları hazırlanırken Mc Farland bulanıklık standartlarından yararlanıldı. Etüvde 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş bakteri kültürlerinden, bakteri süspansiyonu hazırlamak için %0,9 NaCl kullanıldı. Deney tüpüne bir miktar %0,9 NaCl konuldu.

Daha sonra iğne öze ile petrilerdeki bakteri kültüründen alınan bakteri kolonileri tüpün kenarında iyice ezilerek sıvı ile iyice karışması sağlandı. Böylece istenilen bulanıklık standardı ayarlandı. (Eğer bulanıklıkta istenilen standart ayarlanamazsa bir miktar daha %0,9 NaCl veya bakteri kolonisi ilave edilebilir.) (Bilgehan, H., 1995).

$$0,5\text{Mc Farland} = 10^8 \text{ CFU/ml}$$

Mc Farland Standart serisi tıbbi malzeme satan firmalardan temin edilebilir. Örnek: 0,5McF, 1McF, 2McF, ... 10McF gibi.

3.2.4. Ekstratların Olası Antibakteriyel Aktivitelerinin Araştırılmasında Kullanılan Yöntemler

3.2.4.1. Agar Difüzyon Yöntemi

Antibakteriyel aktivitesi bilinmeyen maddelerin araştırılmasında en yaygın olarak kullanılan yöntemdir.

Bu yöntemin dayandığı temel standardize edilmiş plak besiyerlerinin yüzeylerine veya içlerine belirli yoğunluktaki süspansiyonlarda ekilmeleri, sonra besiyerlerinin belirli noktalarına çeşitli yöntemlerle bırakılan aktivitesi araştırılacak madde (disklere emridilmiş olarak) buradan yayılarak bakterilerin üzerine etkili olması ve sonuçta disk etrafında üremenin önlendiği zon'ların çaplarının ölçülmesi ile değerlendirilmesi şeklinde özetlenebilir (Dortunç, T., 1990, Akan, Ö. vd., 1991).

3.2.4.2. Agar Difüzyon Yönteminde Kullanılacak Disklerin Hazırlanması

Disk hazırlamada kullanılan emici kağıdın iyi kalite olması, besiyerine, antimikrobiklere ve mikroorganizmaların üremesine olumsuz etkisinin olmaması gerekir.

Emici özelliği iyi olmalıdır. Bu işlem için Whatman No.1 veya No.2 süzgeç kağıtları kullanılabilir. Disklerin büyüklüğü 5 mm ile 8 mm arasında değişmekle beraber, ortalama 6,25 mm çaplı diskler kullanılmaktadır. Pratikte bu diskler laboratuvarında dosya kağıt delme zımbası ile hazırlanabilir. Ve çapı da yaklaşık 6 mm kadardır. Diskler öncelikle otoklavda steril edilir. Disklere emdirilecek maddenin diskler tarafından tam olarak emilebilmesi için disklerin nemlerini tamamen kaybetmeleri gerekmektedir. Bunun için bir petri kutusuna diskler üst üste gelmeyecek şekilde konularak, etüvde 2-3 saat bekletilir (Bilgehan, H., 1995).

3.24.3. Agar Difüzyon Yöntemiyle Antibakteriyel Etkinin Araştırılması

Agar difüzyon yöntemiyle eldeki ekstratların antibakteriyel etkilerinin araştırılması amacıyla 0,5Mc Farland (10^8 CFU/ml) bulanıklığındaki standarda göre ayarlanmış bakteri süspansiyonu kullanıldı. Petrilere ekilen bakteri süspansiyonun miktarı 1ml ve 0,5ml olarak iki farklı çalışma yapıldı.

Öncelikle çalışılacak bakteri türü için 3 petri alınarak, 37°C'lik etüvde yüzeyleri kurutuldu. Bu arada besiyerlerinin yüzeyleri kururken, steril bir petriye sıvı veya suda çözünmüş ekstrat aktararak, bu ekstratın içine üst üste gelmemelerine dikkat edilerek, önceden hazırlanmış diskler atıldı. Ve ekstrat disklerle iyice emdirildi. Petrilerin yüzeyleri kuruduktan sonra, 3 petriyede hazırlanmış bakteri süspansiyonundan 1 ml ekildi. Ekim işlemi tamamlandıktan sonra, petrilere ikisine ekstrat emdirilmiş disklerden 4-5 adet, belirli aralıklarla yerleştirildi. Ekim yapılan diğer petri ise bakteri kolonilerinin üremelerini gözlemlemek amacıyla kontrol amaçlı kullanıldı. Petriler daha sonra 35-37°C'lik etüve kaldırılarak 24 saat inkübe edildiler.

II. Aşamada ise aynı bakteri süspansiyonu bu kez petrilere 0,5ml ekilerek çalışma aynen tekrarlandı.

Bu çalışmalar elde edilen 4 ekstrat için, her bakteri türü üzerinde ayrı ayrı tekrarlandı.

Bu işlem her bakteri türü için ayrı ayrı tekrarlandı. Aynı işlem liyofilize edilmiş diğer ekstratlar içinde tekrarlandı. Aradaki tek fark liyofilize edilmiş ekstratlar toz halde oldukları için belli bir miktar saf suda çözüldükten sonra disklerle emdirildiler.

3.2.4.4. Seri Dilüsyon Yöntemi

Bu yöntem, antibakteriyel etkinliği bilinmeyen bir maddenin bakteriler üzerinde etkili olup olmadığı, eğer bir etkisi varsa bu maddenin, bakterilerin üremesini inhibe etmek veya öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu belirlemek için uygulanır.

Bu işlem için sıvı ortamda test edilecek olan maddenin iki kat artan dilüsyonları hazırlanır. Bu yöntemde 10x100 mm'lik steril deney tüpleri kullanılabilir.

leceği gibi, mikrodilüsyon yöntemiyle çalışabilmek için mikropleytlerden de yararlanılır.

Mikropleyt çukurlarına sırasıyla önce besiyeri, daha sonra aktivitesi araştırılacak madde, en son olarak ta hazırlanan bakteri süspansiyonu eklenir. İlk çukura besiyeri, son çukura ise besiyerini kontrol amacıyla ekstrat konmaz. İkinci çukurdan başlayarak pipetle birkaç kez çekip bırakılarak ekstrat ve besiyeri karıştırılır ve çukurdan çukura aynı miktarda aktarmalar yapılarak çift kat sulandırımalar yapılır. En son olarakta bakteri süspansiyonundan bütün çukurlara dağıtılır ve 24 saat, 37°C'de inkübe edilir.

Üremenin olup olmadığı çukurlardaki bulanıklığa bakılarak karar verilir. Başlangıçta çukurlarda eğer maddenin antibakteriyel etkisi varsa üreme görülmez. Üremenin görülmediği en son çukur, maddenin, bakteri üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonudur (MIC). Minimum bakterisid konsantrasyonu bulmak için ise, üreme görülmeyen en son çukurdan başlayarak, tüm üreme görülmeyen çukurlardan ayrı ayrı, katı besiyerine pasaj alınır. Bir gece 37°C'de inkübe edilir.

Üreme göstermeyen çukurlardan katı vasatlara alınan pasajlarda üreme göstermeyen ilk petri ise maddenin bakteri için minimum bakterisid konsantrasyonudur (MBC) (Akan, Ö. vd., 1991, Bilgehan, H., 1995).

3.2.4.5. Seri Dilüsyon Yöntemiyle Antibakteriyel Etkinliğin Araştırılması

Sıvı dilüsyon yöntemiyle eldeki ekstratların antibakteriyel etkinliklerinin araştırılması amacıyla 1×10^6 CFU/ml'ye ayarlanmış bakteri süspansiyonu kullanıldı. İşlem için steril 96WELL mikropleytler, 20-200µl sıvı çekme kapasitesine sahip mikropipet ve besiyeri olarakta nutrient broth kullanıldı.

Mikropleytin ikinci çukurundan itibaren bütün çukurlara 100µl besiyeri konuldu. Ardından aktivitesi araştırılacak ekstrattan 200µl ilk çukura kondu ve ilk çukurdan 100µl çekilerek, 2. çukura aktarıldı. İkinci çukurdan başlayarak, her seferinde 3-5 kez çekip bırakmak suretiyle ekstrat ve besiyeri iyice karıştırıldıktan sonra, yine 100µl alınarak, 3. çukura aktarıldı. Böylece her çukurda bir öncekinin iki katı kadar sulandırımalar yapıldı. Sonuçta bir besiyeri kontrol çukuru olarak bırakıldı ve çukura ekstrat konmadı.

En son adımda hazırlanan bakteri süspansiyonundan I. çukurdan başlayarak, son çukura kadar 100µl eklendi. 37°C'de bir gece inkübe edildi.

Bu işlem her ekstrat için, çalışmada kullanılan bakteri türlerine ayrı ayrı uygulandı (Şekil 3.5).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Literatürlere bakıldığında *Ecballium elaterium*'un genelde meyve suyu üzerinde çalışılmış olup, bu meyve suyunun bileşenleri ve biyokimyasal olaylar üzerine etkileri araştırılmıştır. Özellikle meyve suyunda bulunan güçlü tripsin inhibitörü üzerinde oldukça durulmuş olup, sonuçta *Ecballium elaterium*'dan tripsin inhibitör inhibisyonunda esas fonksiyonu olan EETI II saflaştırılarak elde edilmiştir (Le-Nguyen et al., 1989).

Meyve suyunun purgatif, anti-tümoral ve anti-inflamatuar etkileri üzerinde incelemeler yapılmıştır. Özellikle meyve suyunun içinde bulunan Cucurbitacin B'nin güçlü anti-inflamatuar bir etkiye sahip olduğu araştırmalar sonucunda ortaya konulmuştur (Yeşilada, E. et al., 1988).

Bu bitki ülkemizde halk arasında sinüzitin iyileştirilmesinde kullanılmakta ve bu konudaki tıbbi özellikleri araştırılmaya devam edilmektedir (Sezik, E., 1995).

Yapılan çalışmalarda bitkinin meyve suyundaki kimyasal bileşenler tespit edilmiş veya bu bileşenlerden bazıları başka ürünlere dönüştürülmüştür (Morris and Hannel, 1931, Power and Moore, 1909, Lavie, 1958, Gonzalez, 1966, Chakravarty, A.K. et al., 1997).

Bugün sentetik kemoterapotiklerin yanında, doğa kaynaklı droglara yönelik araştırmalar her geçen gün artmaktadır.

Brassica oleracea (beyaz lahana) ve bazı yüksek bitkilerin antimikrobiyal etkileri bulunmuştur (Şengün, A., Çevikbaş, A., Gürkan, E., 1973).

Greylfurt ekstresinin farelerde meydana getirilen fusiform hücreli sarkom ve Ehrlich ascitis tümörünün üzerine antitümoral etkisinin olduğu kanıtlanmış (Şengün, A., Baykurt, F. et al., 1981).

Yine bazı bitkilerden elde edilen uçucu yağların antibakteriyel ve antifungal etkileri araştırılmış ve içlerinden bazılarının antibakteriyel ve antifungal etkileri saptanmıştır (Dortunç, T., 1990).

Juniperus oxycedrus'un kuru gövdesinden elde edilen ekstrat'ın antibakteriyel etkinliği incelenmiş ve araştırmalar sonucunda bu ekstratın antibakteriyel etkinliği gözlenmiştir (Karaman, İ., 1997).

Doğa kaynaklı droglara ilişkin yapılan bu araştırmalar ve verilen örnekler daha da arttırılabilir.

Med-line, kimyasal abstrak ve biyolojik abstrak gibi bazı veri tabanları taranarak *Ecballium elaterium* antibakteriyel özelliği ile ilgili bir çalışma olmadığı gözlenmiştir.

Biz çalışmalarımızda bu bitkinin meyve suyunu hem taze olarak sıvı halde, hem de bazı kimyasallar ile çöktürülerek liyofilizasyona tabi tutulmuş toz haldeki ekstratların bazı gram (+) ve gram (-) bakteriler üzerindeki direk etkilerini in-vitro ortamda araştırdık. Burada işlemi bu şekilde yapmamızın amacı;

1) Bu maddenin kullandığımız bakteri türleri üzerine etkisinin olup olmadığını laboratuvarda gözlemlemek.

2) Maddenin bir bütün olarak bakteriler üzerindeki etkisini belirlemek.

3) Hangi miktarlarda etkili olduğunu görmek

Araştırma esnasında Agar Difüzyon Yöntemi ve Seri Dilüsyon Yöntemi aynı zamanda birbirine paralel olarak çalışıldı. Genel olarak iki yöntem ile yapılan çalışmalardan her zaman paralel sonuçlar alınamayacağı yapılan bazı çalışmalarda gözlenmiştir (Kıvanç, M., Akgül, A., 1986).

Agar Difüzyon Yönteminde hiç etkilenmeyen veya diğerlerine oranla daha az etkilenen mikroorganizmaların Seri Dilüsyon Yönteminde daha duyarlı oldukları gözlenmiştir.

Ecballium elaterium'un meyve suyundan elde edilen 4 farklı ekstratın Agar Difüzyon Yöntemine göre çalışmada kullanılan bakterilerin üzerinde antibakteriyel bir aktivite göstermedikleri saptanmıştır.

Seri Dilüsyon Yönteminde ise kullanılan bakteri popülasyonunda yalnızca Ekstrat I'in *Staphylacoccus aureus* üzerinde sulandırılmadan bakterisit bir etkisi tespit edilmiştir. Buna karşılık diğer bakteri türleri üzerinde üremeyi durdurucu inhibitör bir etki gösterirken, bakterisid bir etki tespit edilmemiştir.

Ekstrat-2, Ekstrat 3 ve Ekstrat 4'ün ise *Staphylococcus aureus* veya diğer bakteri türleri üzerinde inhibitor veya bakterisid etkileri gözlenememiştir.

Sonuçta *Ecballium elaterium*'un meyve suyundan elde edilen ekstratların, bu çalışmada kullanılan bakteriler üzerinde antibakteriyel aktiviteye sahip olmadıkları anlaşılmıştır.

Yalnızda Ekstrat I *Staphylacoccus aureus* üzerinde antibakteriyel bir aktivite göstermiştir.

Bilindiği gibi maddenin antibakteriyel özelliği bakteri türlerine göre değişmektedir. Buradan yola çıkılarak bundan sonraki çalışmalarda madde diğer bakteri türleri üzerinde denenebilir. Yapmış olduğumuz çalışmalar tamamen laboratuvarında in-vitro ortamda gerçekleştirilmiş, in vivo olarak denemeler yapılmamıştır. İn vivo çalışmalar uzun bir süreye ihtiyaç duyduğundan ayrı bir çalışma yapılabilir. Çünkü bakterilerin in-vitro ortamda gösterdikleri duyarlılık ve direnç ile, in vivo ortamda gösterdikleri direnç farklı olmaktadır(Karaman, İ.,1997)

Ancak bu çalışmalardan sonra *Ecballium elaterium*'un meyve suyunun antibakteriyel aktivitesi hakkında daha kesin sonuçlar elde edilebilir.

KAYNAKLAR

- AKAN, Ö. ve ark. Klinik Mikrobiyoloji Laboratuar El Kitabı, Hacettepe - Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, 1991.
- AKÇİN, A., Genel Tarla Ziraatı. Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarla Bitikleri Bölümü, Konya, 1987.
- AYDIN, Y.Ç., *Sanicula europaea* L. Ekstrelerinin Page Tekniği ile Analizleri. M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi), 1997.
- BAYTOP, A., Farmasötik Botanik. İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:36, 1983.
- BAYTOP, T. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İ.Ü. Yayınları, N.3255, Eczacılık Fak. No:40, Sanal Matbaacılık, İstanbul, 1994.
- BAYTOP, T. Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İsmail Akgün Matbaası, İstanbul, 1963.
- BEKA, H., Antibiyotiklerin Subminimal İnhibitör Konsantrasyonlarının Bakterilerin İnce Yapı, Morfoloji ve Konakçı Savunma Mekanizmalarına Duyarlılıkları Üzerine Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi) Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji A.B.D. İstanbul, 1991.
- BİLGEHAN, H. Klinik Mikrobiyoloji Kitabı, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi 9. Baskı, Bornova-İzmir, 1995.
- BİLGEHAN, H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi. 2. Baskı, Bornova-İzmir, 1995.
- CHAKRAVARTY, A.K., SARKAR, T., DAS, B., MASUDA, K., SHIOJIMA, K. Triterpenoid Glycosides From Fruits of *Ecballium elaterium*. Journal of the Indian Chemical Society 74 (11-12), S:858-863, 1997.
- COŞAR, G., TUMBAY, E., ÖNÜR, M.A. Bazı Yüksek Bitkilerin Antimikrobiyal Etkileri. II. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, S:15, 39-42, 1985.

- DORTUNÇ, T., Bazı Uçucu Yağların Antibakteriyel ve Antifungal Etkileri Üzerinde Araştırmalar (Yüksek Lisans Tezi). Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji A.B.D. İstanbul 1990.
- FAVEL, A., LE NGUYEN, D., COLETTI-PREVIERO, M.A., CASTRO, B. Active Site Chemical Mutagenesis of *Ecballium elaterium* Trypsin İnhibitor II: New Microproteins İnhibiting Elastase and Chymotrypsin. Biochem Biophys Res. Commun, S:162, 79-82, 1989.
- FORUM (ANONİM). *E.coli*'nin Yaptığı Hastalıklar. Bilim ve Teknik, Ankara, Ekim 1996.
- GABORİAUP, C., VANEY, MC., BACHET, B., LE-NGUYEN, D., CASTRO, B., MORNON, J.P. Crystallization and Preliminary X-ray Study of Porcine Trypsin, Free and Complexed With *Ecballium elaterium* Trypsin İnhibitor, a Member of the Squash İnhibitors Family. Journal Mol. Biol, S:210, 883-884, 1989.
- HALAWEISH, F.T., TALLAMY, D.W. Productions of Cucurbitacins by Cucurbit Cell Cultures. Plant Science, S:131, 209-218, 1998.
- JAWETZ, E., MELNICK, L. J., ADELBURG, E.A., BROOKS, G.F., BUTEL, J.S., ORNSTON, L.N., Medical Microbiology Middle East Edition. Lebanon, 1989.
- KARAMAN, İ. *Juniperus Oxycedrus*'un Kuru Gövdesinden Elde Edilen Ekstrat'ın Antibakteriyel Özelliğinin Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gebze, 1997.
- KIVANÇ, M., AKGÜL, A. Antibacterial Activities of Essential Oils From Turkish Spices and Citrus. Flavour and Fragrance J. 1:175-179, 1986.
- LE NGUYEN, D., NALİS, D., CASTRO, B. Solid Phase Synthesis of Trypsin İnhibitor Isolated From the *Cucurbitaceae Ecballium elaterium*. Int. Journal Pept. Protein Res., S:34, 492-497, 1989.
- OKAR, İ., *St.aureus*'un Yeni Aminoglikozitlerden Amikacin'e Karşı Duyarlılığın Değişmesinde Adrenalinin Etkisi. (Uzmanlık Tezi) Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji A.B.D. İstanbul, 1989.

- OSKOUİ, M.T., Triterpenas of *Brionie dioica* and *Ecballium elaterium*. Chelsea College Universty of London, 1979.
- ROBERT, F.B., BRYAN, G.H., Basic Medical Microbiology. Fourty Edition, U.S.A. 1986.
- SEIFERT, K., ELGAMAL M. H. New Curcurbitacin Glucosides From *Ecballium elaterium*. Pharmazie, S:32, 605-606, 1977.
- SEZİK, E. Research on a Turkish Medicinal Plant, *Ecballium elaterium*. Khimiya Prirodnynkn Soedinenii, S:5, 698-699, 1997.
- SEZİK, E., YEŞİLADA, E. Clinical Effects of the Fruit Juie of *Ecballium elaterium* in the Treatment of Sinusitis. Toxicol Clin. Toxicol, S:33, 381-383, 1995.
- STOYONOV, N. F., Tıbbi Bitkilerimizi Değerlendirelim, (Çeviri, Barsi Makaklı) Akgün Yayınevi, Yalova, 1982.
- SUFFNESS, M. and DOUROS, J., Drugs of Plant Origin, Meth. Cancer. Res., S:16, 73-126, 1979
- ŞEHİRALİ, S., ÖZGEN, MURAT., Bitkisel Gen Kaynakları. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara Yayınları, No:1020, 1987.
- ŞENGÜN, A., ÇEVİKBAŞ, A., GÜRKAN, E. *Brassica oleracea*'nın Doku Kültüründe Yetiştirilen Hücreler ve Bakteriler Üzerine Etkisi. IV. Bilim Kongresi, 5-8 Kasım, Ankara, 1973.
- TANKER, M., TANKER, N., Farmakognozi. Cilt 1, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:58, 1985.
- TEMİZ, A. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatiboğlu Yayınevi. 2. Baskı, Ankara, 1996.
- TURAN, K., KURU, A. Bakteri-Bakteriyofaj Sisteminde, *Sanicula europaea* L. Yapraklarının Sulu Extresinin Antiviral Aktivitesinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İ.Ü., İstanbul, 1994.
- UNAT, E.K., Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi. Dergah Tıp Yayınları, 1982.

- VLIETINCK, A.J., VANDEN BERGE, D.A. Can Ethnopharmacology Contribute to the Development of Antiviral Drugs? J. Ethnopharmacol., S:32, 141-153, 1991.
- YEMNİ, E., Kefir'in Antibakteriyel, Antifungal, Antitümoral Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi) Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji A.B.D. İstanbul, 1986.
- YEŞİLADA, E., TANAKA, S., SEZİK, E. and TABATA, M. Isolation of an Anti-Inflammatory Principle From the Fruit Juice of *Ecballium elaterium*. Journal Naturel Product, S:51, 504-508, 1988.

ÖZGEÇMİŞ

1973 Yılında İstanbulda doğdu.1990 Yılında Üsküdar Kız Lisesinden mezun oldu.Aynı yıl Trakya Üniversitesi,Fen edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi.1994 Yılında mezun oldu.1995'te Merkez Laboratuvarı İlaç San.A.Ş.'de Kalite güvence departmanında biyolog olarak görev yaptı.Aynı yıl Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans pogramına girdi.1996-1998 Yılları arasında Biofarma İlaç San.Tic.A.Ş. 'de Kalite güvence departmanında biyolog olarak görev yaptı .