

Tıbbi Amaçlı Kullanılan *Terminalia chebula* ve *Terminalia citrina* Bitkilerinin Kurutulmuş Meyvelerinde Antiradikal, Antibakteriyel ve Mutajenik Aktivite Analizleri

Zehra Tuğba MURATHAN^{*1}, Nurcan ERBİL², Mehmet ARSLAN³

¹ Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Battalgazi Meslek Yüksekokulu, Park ve Bahçe Bitkileri Bölümü, Battalgazi/Malatya

² Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Ardahan

³ Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Sağlık Yönetimi Bölümü, Ardahan

Öz: *Terminalia* cinsi üyeleri Combretaceae familyasındandır. Cins ait yaklaşık 250 tür bulunmaktadır. Bu türler içerisinde özellikle *Terminalia chebula* ve *Terminalia citrina* bazı hastalıkların önlenmesinde geleneksel olarak halk tıbbında kullanılmaktadır. Türkiye’de bu bitkilerin kurutulmuş meyveleri sırasıyla kara ve sarı halile olarak adlandırılmaktadır. Bu çalışmada, aktarlarda yoğun olarak satılan ve halk tarafından çeşitli amaçlarla kullanılan *T. chebula* ve *T. citrina* bitkilerine ait kurutulmuş meyvelerde bazı biyoaktif bileşen içerikleri, antioksidan kapasite, antibakteriyel ve mutajenik aktiviteler analiz edilmiştir. Toplam fenolik madde içerikleri *T. citrina*’da 108.3, *T. chebula*’da 226.3 mg GAE/g değerlerinde, toplam flavanoid madde içerikleri ise *T. chebula*’da 40.7, *T. citrina*’da 55.9 mg QE/g değerlerinde tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite analizleri üç farklı metoda göre (ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ve FRAP (Demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü)) yapılmıştır. Her üç metoda göre de *T. chebula* örneklerinin *T. citrina* örneklerine göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *T. citrina* ve *T. chebula*’nın metanol ekstraktlarının test bakterilerine karşı oldukça iyi seviyede antibakteriyel etki gösterdiği, her iki ekstrakta karşı ise en duyarlı bakterinin *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633 olduğu tespit edilmiştir. Kuru meyve ekstraktlarının farklı dört dozu (12.5, 25, 50 ve 100 µl/plak) mutajenite deneylerinde kullanılmıştır. TA 98 ve TA 100 suşları üzerine her iki örnek ekstraktının en yüksek dozları ile TA 100 suşu üzerinde denenen *T. citrina* ekstraktının 50 µl/plak dozları sitotoksik olarak tespit edilmiştir. *T. chebula* ve *T. citrina* ekstraktlarının *Salmonella typhimurium* TA 98 suşu üzerine etkisi her iki örneğin 50 µl/plak dozlarında çözücü kontrole göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Fenolik, Flavanoid, Halile, Mutajenite, *Terminalia*

Antiradical, Antibacterial and Mutagenic Activity Analysis of Dried Fruits of Terminalia Chebula and Terminalia Citrina Plants Used for Medical Purposes

Abstract: The members of the genus *Terminalia* belong to the Combretaceae family. There are about 250 species belonging to the genus. Among these species, *Terminalia chebula* and *Terminalia citrina* have traditionally been used in folk medicine to prevent certain diseases. Dried fruits of this plant is called Turkey black and yellow halile respectively. In this study, some bioactive components, antioxidant capacity, antibacterial and mutagenic activities were analyzed in dried fruits of *T. chebula* and *T. citrina* plants which are sold intensively in herbal and used for various purposes by the public. Total phenolic content was found to be 108.3 in *T. citrina*, 226.3 mg GAE / g in *T. chebula*, total flavanoid substance content was 40.7 in *T. chebula* and 55.9 mg QE / g in *T. citrina*. Antioxidant activity analysis according to three different methods (ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and FRAP (Ferric ion-reducing antioxidant power)). According to all three methods, *T. chebula* samples had higher antioxidant activity than *T. citrina* samples. *T. citrina* and *T. chebula* showed that the methanol extracts had a very good antibacterial effect against the test bacteria, while the most sensitive bacteria against both extracts were *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633. Four different doses of dried fruit extracts (12.5, 25, 50 and 100 µl / plate) were used in mutagenicity experiments. The highest doses of both sample extracts on TA 98 and TA 100 strains and 50 µl / plaque doses of *T. citrina* extract tested on TA 100 strains were found to be cytotoxic. The effect of *T. chebula* and *T. citrina* extracts on *Salmonella typhimurium* TA 98 strain was found to be statistically significant in 50 µl / plate doses of both samples compared to solvent control.

Keywords: Phenolic, Flavanoid, Halile, Mutagenity, *Terminalia*

GİRİŞ

İnsan vücudunda çevresel kirlilik, UV ışınları, toksik kimyasallar, sigara, alkol kullanımı gibi nedenlerle serbest radikaller üretilmektedir. Serbest radikallerin organizmada aşırı artışı oksidatif stres adı verilen durumu ortaya çıkarmaktadır. Bu radikaller hücrelerin membran lipidlerini, DNA’sını ve proteinlerini potansiyel hedef olarak görmekte ve bu moleküllere zarar vererek kanser, damar sertleşmesi,

iltihabi hastalıklar, yaşlanma, kalp hastalıkları, cilt hastalıkları, diyabet, parkinson, alzheimer gibi birçok hastalığı ortaya çıkarmaktadır (Halliwell, 2000; Finkel ve

***Sorumlu Yazar:** zehra.murathan@ozal.edu.tr.

Geliş Tarihi: 20 Şubat 2020

Kabul Tarihi: 14 Ekim 2020

Holbrook, 2000; Mensor ve ark., 2001; Valko ve ark., 2007). Dünya sağlık örgütü (WHO), oksidatif stresin neden olduğu zararlı etkileri ortadan kaldırmak amacıyla doğal ürünlerin tüketimini önermektedir (Murthy ve ark., 2004). Doğal ürünlerin başında organik olarak üretilmiş bitkisel ve hayvansal ürünler, özellikle meyveler gelmektedir. Bitkiler serbest radikallere karşı etkili olan ve biyoaktif bileşenler olarak adlandırılan fenolikler, flavanoidler gibi antioksidan özellikteki bileşenlere sahiptirler. Bu bileşenler serbest radikallerin zararlı etkisini azaltmakta ve radikal kaynaklı birçok hastalığın oluşumunu engellemektedir (Cai ve ark., 2003; Yanai ve ark., 2008; Jin ve ark., 2010).

Terminalia, Combretaceae familyasına ait, herdem yeşil ve içerisinde yaklaşık olarak 250 tür barındıran bir genustur (Pfundstein ve ark., 2010). Bu genusa ait olan *T.chebula* ve *T.citrina* türleri dünya genelinde çok farklı isimler almaktadır. Myrobalan, haritaki, harad, harada, karkchettu, kadukkaya, king of medicine, halile, harde, harar, sa mao tchet bunlardan bazılarıdır (Aneja and Joshi, 2009; Sharma ve ark., 2011). Bitki daha çok Hindistan, Himalayalar, Bangladeş, Tayvan ve Tibet'te yetişmektedir (Muhammad ve ark., 2012).

T.chebula bitkisi elipsoid, drupa tipinde, sarıdan kahverengiye kadar değişen renklerde, sert kabuklu meyvelere sahiptir, *T.citrina* ise dünya genelinde sarı myrobalan olarak bilinmektedir. Bitki Kuzey Doğu Hindistan ve Car Nicobar adalarına endemiktir (Chattopadhyay ve Bhattacharyya, 2007; Hajra ve ark., 1999). Meyvelerin organik asitler, flavanoid maddeler, askorbik asit, protein, aminoasitler ve minerallerce zengin olduğu bildirilmiştir (Kim ve ark., 2006; Mahesh ve ark., 2007). Özellikle Uzak Doğuda meyvelerin ayurvedik olarak kullanıldığı bilinmektedir.

Bu çalışmada Türkiye'de aktarlarda satılan, halk tarafından özellikle bağırsak hareketlerini düzenlemek amacıyla kullanılan, *T. chebula* ve *T. citrina* bitkilerinin kurutulmuş meyvelerinin bazı biyoaktif bileşenleri, antioksidan, antibakteriyel ve mutajenik özellikleri araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Materyali ve Ekstraksiyon

Çalışmada kullanılan *T. chebula* ve *T. citrina* bitkilerinin kurutulmuş meyveleri İstanbul ilindeki aktarlardan temin edilmiştir. Toz haline getirilmiş olan örneklerin her birinden 15 g tartılmış ve 300 ml metanol ile Soxhlet sistemi aracılığıyla 8 saat ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar daha sonra rotary evaporatörde (Scilogex RE100-Pro) konsantre edilmiş ve analizler yapıncaya kadar -20°C'de bekletilmiştir.

Toplam Fenolik Madde İçeriği

Toplam fenolik madde içeriği Singleton ve ark. (1999)'nın kullandığı folin-ciocalteu yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. 765 nm'de okuma yapılmış ve elde edilen sonuçlar Gallik asit standart grafiğinde yerine konularak mg/g GAE (Gallik asit eşdeğeri) cinsinden hesaplanmıştır.

Toplam Flavanoid Madde İçeriği

Toplam flavanoid madde tayini Quettier ve ark. (2000)'nın geliştirmiş oldukları yöntemle göre belirlenmiştir. 415 nm dalga boyunda spektrofotometre ile okunmuştur. Quersetin ile hazırlanmış olan kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak mg/g QE (Quersetin eşdeğeri) cinsinden hesaplanmıştır.

Toplam Antioksidan İçeriği

Serbest radikallerin indirgenme kapasitesi ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ve DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) metotları ile belirlenmiştir. DPPH metodunda örneklerin absorbansı 515 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuştur. Antioksidan kapasite %DPPH=(Akontrol-Aörnek)/Akontrol x 100)) formülüyle hesaplanmıştır (Bakhshi ve Arakawa, 2006). ABTS yöntemi Re ve ark. (1999)'a göre yapılmıştır. Örneklerin absorbansı 734 nm'de ölçülmüştür. Antioksidan kapasite %ABTS=(Akontrol-Aörnek)/Akontrol x 100)) formülüyle hesaplanmıştır. FRAP (Demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü) yöntemi Benzie ve Strain (1996)'e göre yapılmıştır. Absorbans 593 nm'de ölçülmüştür. Standart eğri FeSO₄ solüsyonu kullanılarak hazırlanmıştır (100-1000 µl). Sonuçlar µmol Fe (II)/g cinsinden hesaplanmıştır.

Antibakteriyel Aktivite Analizleri

T. chebula ve *T. citrina* örneklerinden elde edilen metanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi agar kuyu difüzyon metoduna göre test edilmiştir (Rauha ve ark., 2000). Test bakterisi olarak *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633, *Bacillus licheniformis* ATCC 14580, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495; pozitif kontrol olarak ise Gentamisin standart antibiyotik kullanılmıştır. Analizler esnasında test maddesi olarak, her bir metanol ekstraktından 150 µl kullanılmıştır. Analiz sonucunda petripler 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiş ve oluşan inhibisyon zonları dijital kumpas yardımıyla mm olarak ölçülmüştür. Analizler üç tekrarlı yapılmıştır.

Mutajen Aktivite Analizleri

T. chebula ve *T. citrina* bitki örneklerinden elde edilen ekstraktların mutajenik aktivitesinin tespitine yönelik analizler, Maron ve Ames (1983) tarafından geliştirilen plak inkorporasyon yöntemine göre yapılmıştır. Mutajen aktivite analizleri *Salmonella typhimurium* TA 98 ve *Salmonella typhimurium* TA 100 suşları üzerinde çalışılmıştır. Plaklar 37°C'de 48-72 saat inkübe edilmiş, bu

süre sonunda plaklardaki his+ revertant bakteri kolonileri sayılmıştır.

İstatistiksel Analizler

Çalışmada her analiz 3 tekrarlı olarak yapılmış ve ortalama değerler alınmıştır. Veri analizlerinde SPSS 20 paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar t testi ile $p<0.05$ önem düzeyinde belirlenmiştir. Mutajenite testlerinde *T. chebula* ve *T. citrina* meyve örneklerinden elde edilen ekstraktların etkisiyle geri dönen koloni sayıları saptanmıştır. Kontrol plakları ile *T. chebula* ve *T. citrina* bitki örneklerinin farklı konsantrasyonlarının denendiği plaklar arasında istatistiksel ayırım olup olmadığı tek yönlü varyans analizini (OneWay ANOVA) takiben Dunnett test metoduna göre araştırılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Sekonder metabolitler olarak da adlandırılan fenolik bileşikler, bitkiler tarafından üretilen en önemli ve fonksiyonel bileşenlerdendir. Bitkilerde renk oluşumu, tat oluşumu, aroma oluşumu, bitki savunma sistemlerinin oluşumu gibi faaliyetlerde görev yapmaktadırlar (Çağlar ve Demirci, 2017). Meyvelerdeki fenolik bileşik içeriği bitki türü, çeşidi, kültürel uygulamalar, iklimsel faktörler, hasat zamanı, depolama koşulları gibi çeşitli faktörlere göre değişiklik göstermektedir (Castrejon ve ark., 2008). Çalışmamızda kullanılan örneklerinin toplam fenolik ve toplam flavanoid madde içerikleri Çizelge 1’de gösterilmiştir ve örnekler arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Örneklerin toplam fenolik madde içerikleri *T. citrina*’da 108.3, *T. chebula*’da 226.3 mg GAE/g değerlerinde, toplam flavanoid madde içerikleri ise *T. chebula*’da 40.7, *T. citrina*’da 55.9 mg QE/g değerlerinde tespit edilmiştir. Saha ve Verma (2016) *T. chebula* kuru meyve ekstraktlarında toplam fenolik madde içeriğinin 134.5 mg GAE/g, toplam flavanoid madde içeriğinin ise 7.934 mg QE/g olduğunu bildirmişlerdir. Wetwitayaklung ve ark. (2012) ise *T. chebula* kuru meyve ekstraktının toplam fenolik madde içeriğinin 6.96 g/100 g olduğunu

bildirmişlerdir. Das ve ark. (2016) *T. citrina*’nın metanolik yaprak ekstraktlarında toplam fenolik ve toplam flavanoid madde içeriklerinin sırasıyla 190.23 mg GAE/g ve 99.5 mg QE/g olduğunu tespit etmişlerdir. Daha önce yapılan çalışmalarda farklı araştırmacılar *T. chebula*’da gallik asit, ellajik asit, tannik asit, etil gallat, chebulajik asit, chebulinik asit, corilagin, beta sitosterol, kafeik asit, terpinen, terpinenol, mannitol, askorbik asit gibi bileşenlerin bulunduğunu tespit etmişlerdir (Kim et al., 2006; Saleem et al., 2002; Xie et al., 2006). *T. citrina* meyve ekstraktlarında ise punicalagin, corilagin, 1,3,6-tri-O-galloyl- β -D-glucopyranose, chebulagic acid, ve 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -Dglucopyranose olmak üzere 5 farklı tanen bulunduğu bildirilmiştir (Burapadaja ve Bunchoo, 1995). Örneklerin antioksidan aktivite sonuçları Çizelge 1’de verilmiştir. Çalışmada antioksidan aktiviteler üç farklı metotla (ABTS, FRAP ve DPPH) belirlenmiştir. Antioksidan parametre değerlerinde bitkiler arasında istatistiksel olarak önemli varyasyonlar tespit edilmiştir ($p<0.05$). Her üç metoda göre de *T. chebula* örneklerinin *T. citrina* örneklerine göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Örneklerin ABTS radikali süpürücü aktivitelerinin *T. citrina*’da %40.5, *T. chebula*’da %59.7, DPPH radikali süpürücü aktivitelerinin *T. citrina*’da %55.6, *T. chebula*’da %67.8, FRAP aktivitesinin ise *T. citrina*’da 61.7 μ mol FeII/g, *T. chebula*’da 107.8 μ mol FeII/g değerlerinde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan meyve ekstraktlarının antiradikal aktiviteye sahip olduğu daha önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Cheng ve ark., 2003; Suchalatha ve ark., 2005; Walia ve ark., 2007; Hazra ve ark., 2010). Srivastava ve ark. (2012) *T. chebula* meyvelerinin DPPH radikali süpürücü aktivitesinin çalışmamızdakine benzer şekilde %55 olduğunu bildirmişlerdir. *T. citrina* ve *T. chebula*’dan elde edilen metanol ekstraktlarının ve pozitif kontrol olarak kullanılan gentamisin antibiyotikliğinin antibakteriyel aktivitesi Çizelge 2’de sunulmuş olup, elde edilen sonuçlar neticesinde

Çizelge 1. Örneklerin bazı biyoaktif bileşen içerikleri ve antioksidan kapasite analizleri

	Toplam fenolik madde miktarı (mg/g)	Toplam flavanoid madde miktarı (mg/g)	ABTS (%)	DPPH (%)	FRAP (μ mol Fe II/g)
<i>T. chebula</i>	226.3 \pm 10.5 a	40.7 \pm 1.6 b	59.7 \pm 3.1 a	67.8 \pm 5.6 a	107.8 \pm 12.6 a
<i>T. citrina</i>	108.3 \pm 9.6 b	55.9 \pm 1.2 a	40.5 \pm 2.7 b	55.6 \pm 0.4 b	61.7 \pm 5.1 b

Aynı sütunda gösterilen farklı harfler (a-b) t testine göre istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$).

Çizelge 2. Örneklerin antibakteriyel aktivite sonuçları

Bakteri	Gentamisin (mm)	<i>T. citrina</i> (mm)	<i>T. chebula</i> (mm)
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> ATCC 6633	31.94 \pm 2.62	36.41 \pm 0.48	36.37 \pm 0.38
<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580	24.57 \pm 0.70	32.65 \pm 1.95	34.60 \pm 2.56
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	19.02 \pm 1.85	22.52 \pm 2.33	23.27 \pm 0.50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	27.53 \pm 0.77	34.33 \pm 3.13	30.41 \pm 0.32
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495	17.87 \pm 0.24	24.35 \pm 1.72	27.00 \pm 2.93

T.citrina ve *T.chebula*'nın metanol ekstraktlarının test bakterilerine karşı oldukça iyi seviyede antibakteriyel etki gösterdiği görülmektedir. Her iki ekstrakta karşı en duyarlı bakterinin *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633 olduğu; oluşan inhibisyon zonu çapının *T. citrina* için 36.41 mm, *T. chebula* için ise 36.37 mm olduğu belirlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda *T.chebula* meyvelerinin *Salmonella typhi*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Malekzadeh ve ark., 2001; Khan and Jain, 2009; Khan, 2009; Khan ve ark., 2009; Manoj kumar ve ark., 2009). Shaider Raza Naqvi ve ark. (2010) *Terminalia* meyve ekstraktlarının gram pozitif bakterilerde gram negatiflere oranla daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Yine Malekzadeh ve ark. (2001) bitkinin ekstraktlarının ülser ve gastrit gibi hastalıklara neden olan *Helicobacter pylori*'ye karşı, Kim ve ark. (2006) *Clostridium perfringens* ve *Escherichia coli*'ye karşı etkili olduğunu bildirmiştir. Bitki ekstraktlarının *Candida albicans*, *Epidermophyton*, *Floccosum*, *Microsporum gypseum* ve *Trichophyton rubrum*'a karşı antifungal aktivite gösterdiği bilinmektedir (Barazani ve ark., 2003; Vonshak ve ark., 2003). Kumar ve ark. (2009) *T. chebula* meyve ekstraktının *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus flexinaria* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Yine Aneja ve Joshi (2009) bu meyve ekstraktının dental bakterilere karşı oldukça iyi bir antibakteriyel olduğunu tespit etmişlerdir. Çoğu bitkinin çeşitli bileşenleri yoğun olarak kullanıldığında toksik ve genotoksik etki göstermekte, hatta mutajeniteye sebep olabilmektedirler (Wan-Ibrahim ve ark., 2010). Kimyasal bileşiklerin mutajenik aktivitelerinin araştırılmasına yönelik en yaygın kullanılan testlerden bir tanesi Ames testidir. Bu testte histidin operonunun değişik bölgelerinde çeşitli mutasyonlar içeren *Salmonella typhimurium*'un mutant suşları kullanılmaktadır (Choy, 2001). Çalışmamızda kullanılan örneklerin mutajenite denemeleri *S. typhimurium* TA 98 ve TA 100 suşları üzerinde araştırılmıştır (Çizelge 3, 4). Yapılan mutajenite deneylerinde kuru meyve ekstraktlarının farklı dört dozu kullanılmıştır (12.5, 25, 50 ve 100 µl/plak). TA 98 ve TA 100 suşları üzerine denenen her iki örnek ekstraktının en yüksek dozları 100 µl/plak ile TA 100 suşu üzerinde denenen *T. citrina* ekstraktının 50 µl/plak dozları sitotoksik olarak tespit edilmiştir. Bir dozun sitotoksik olduğunun anlaşılması LD50 dozunun altında olmasıyla anlaşılmaktadır. Deneme plaklarındaki koloni sayısının, kontrol plağındaki koloni

sayısının yarısının altında olması durumunda doz sitotoksik olarak kabul edilmektedir.

Çizelge 3. Örneklerin *Salmonella typhimurium* TA 98 suşuna karşı mutajenite sonuçları

	Konsantrasyon	Revertant koloniler Ort±Sd**
<i>T. chebula</i>	Kontrol	24.00±2.52
	Pozitif Kontrol (4-NPD)*	1375±162
	***ÇK (Metanol)	16.33±1.86
	12.5 µl/ plak	17.00±3.46
	25 µl/ plak	17.67±5.17
	50 µl/ plak	183.0±68.7 b
<i>T. citrina</i>	100 µl/ plak	Toksik
	Kontrol	24.00±2.52
	Pozitif Kontrol (4-NPD)*	1375±162
	ÇK (Metanol)	16.33±1.86
	12.5 µl/ plak	16.67±1.45
	25 µl/ plak	21.67±3.84
50 µl/ plak	80.7±11.8 b	
100 µl/ plak	Toksik	

*4-NPD: 4-nitro-o-phenylenediamine; **Sd: Standart hata, ***ÇK:Çözücü kontrol

a: Kontrolle örnek arasında önemli farklılık var

b: Çözücü ile örnek arasında önemli farklılık var ab : P<0.05

Çizelge 4. Örneklerin *Salmonella typhimurium* TA 100 suşuna karşı mutajenite sonuçları

	Konsantrasyon	Revertant koloniler Ort±Sd**
<i>T. chebula</i>	Kontrol	124.00±9.29
	Pozitif Kontrol (SA)*	5226±520
	***ÇK (Metanol)	107.3±20.7
	12.5 µl/ plak	105.0±19.7
	25 µl/ plak	69.67±5.93
	50 µl/ plak	63.67±8.82
<i>T. citrina</i>	100 µl/ plak	Toksik
	Kontrol	124.00±9.29
	Pozitif Kontrol (SA)*	5226±520
	ÇK (Metanol)	107.3±20.7
	12.5 µl/ plak	102.3±10.7
	25 µl/ plak	88.33±9.94
50 µl/ plak	Toksik	
100 µl/ plak	Toksik	

*SA:Sodyum azide; **Sd: Standart hata, ***ÇK:Çözücü kontrol

T. chebula ve *T. citrina* ekstraktlarının *Salmonella typhimurium* TA 98 suşu üzerine etkisi üzerine yapılan çalışmalarda her iki örneğin 50 µl/plak dozları çözücü

kontrole göre istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve revertant koloni sayısı her iki ekstrakta da doz artışına bağlı olarak artmıştır (Çizelge 3). *T. chebula* ve *T. citrina* ekstraktlarının TA 98 suşu üzerinde denenen diğer dozlarında (12.5 µl/ plak, 25 µl/ plak) ve *Salmonella typhimurium* TA 100 suşu üzerinde yapılan çalışmaların denenen tüm dozlarında kontrol ve çözücü kontrole göre istatistiksel olarak önem tespit edilememiştir. *T. chebula* ve *T. citrina* meyve ekstraktlarının mutajenik aktivitesi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Akhtar ve ark. (2016) *T. citrina* ekstraktlarının önemli mutajenite gösterdiğini belirtmişlerdir. Etanolik ekstrakt, TA 100 suşu üzerinde daha yüksek mutajenite gösterirken, *T. citrina*'nın sulu ekstraktı, TA 102 suşu üzerine TA 100'den daha yüksek mutajenite göstermiştir. Her iki *T. citrina* özütü doza bağlı mutajenite göstermiştir. Bu çalışmada, *T. citrina*'nın etanolik ve sulu meyve özütlerinin, mutajenik ve sitotoksik kimyasalları nedeniyle güvenli olamayacağı sonucuna varılmıştır. Bizim yaptığımız çalışmada her iki örneğin yüksek dozları toksik olarak tespit edilirken, TA98 suşu üzerinde her iki örneğin 50 µl/plak dozları çözücü kontrole göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Ayrıca TA98 suşu üzerinde revertant koloni sayısı her iki ekstrakta da doz artışına bağlı olarak artmıştır. Görüldüğü gibi bizim çalışmamızla Akhtar ve ark. (2016) yaptığı çalışma arasında benzer sonuçlar mevcuttur.

SONUÇ

Sonuç olarak *T. chebula* ve *T. citrina* meyveleri iyi birer biyoaktif bileşen ve dolaylı olarak da antioksidan kaynağıdır. Aynı zamanda kullanılan test mikroorganizmalarına karşı oldukça iyi düzeyde antimikrobiyal aktiviteye de sahiptirler. Bitkiler antioksidan ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirler. Bununla birlikte bu bitkiler yüksek dozda alındıklarında toksik etki göstermektedirler. Bu nedenle tıbbi amaçlı kullanımlarının kontrollü şekilde yapılması önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

Aneja KR, Joshi R (2009) Evaluation of antimicrobial properties of fruit extracts of *Terminalia chebula* against dental caries pathogens. Jundishapur Journal of Microbiology 2(3): 105-111.

Bakhshi D, Arakawa O (2006) Effects of UV-b irradiation on phenolic compound accumulation and antioxidant activity in 'Jonathan' apple influenced by bagging, temperature and maturation. Journal of Food, Agriculture & Environment 4 (1): 75-79.

Barazani VO, Sathiyamoorthy P, Shalev R, Vardy D, Golan GA (2003) Screening of South-Indian medicinal plants for anti-fungal activity. Phytotherapy Research 17(9): 1123-1125.

Benzie IFF, Strain JJ (1996) The ferric reducing Ability of plasma (FRAB) as a measure of "Antioxidant power": The FRAB assay. Analytical Biochemistry 239: 70-76.

Burapadaja S, Bunchoo A (1995) Antimicrobial activity of tannins from *Terminalia citrina*. Planta Medica 61(4): 365-366.

Cai YZ, Sun M, Corke H (2003) Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 2288-2294.

Castrejón ADR, Eichholz I, Rohn S, Kroh LW, Huyskens-Keil S (2008) Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. Food Chemistry 109: 564-572.

Chattopadhyay RR, Bhattacharyya SK (2007) Plant Review *Terminalia chebula*. Pharmacognosy Review 23: 145-150.

Cheng HW, Lin TC, Yu KH, Yang CM, Lin CC (2003) Antioxidant and free radical Scavenging activities of *Terminalia chebula*. Biological and Pharmaceutical Bulletin 26(9): 1331-1335.

Choy WN (2001) Genetic toxicology and cancer risk assessment. Marcel Dekker, New York, 29-187.

Çağlar MY, Demirci M (2017) Üzümü Meyvelerde Bulunan Fenolik Bileşikler ve Beslenmedeki Önemi. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(11): 18-26.

Das N, Goshwami D, Hasan MS, Al Mahmud Z, Raihan SZ (2016) Evaluation of antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Terminalia citrina* Leaves. Journal of Pharmaceutical Research 10: 8-15.

Duncan DB (1955) Multipurpose and multiple F Tests. Biometrics 11: 1-14.

Finkel T, Holbrook NJ (2000) Oxidants, Oxidative stress and biology of ageing. Nature 239-247.

Hajra PK, Rao PSN, Mudgal V (1999) Flora of Andaman-Nicobar Islands, Vol-I, Ranunculaceae to Combretaceae, Botanical Survey of India, 480.

Halliwell B (2000) A super way to kill cancer cells? Nature Medicine 6(10): 1105-1106.

Tachakittirungrod S, Okonogi S, Chowwanapoonpohn S (2007) Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. Food Chemistry 103(2): 381-388.

Hazra B, Sarkar R, Biswas S, Mandal N (2010) Comparative study of the antioxidant and reactive oxygen species scavenging properties in the extracts of the fruits of *Terminalia chebula*, *Terminalia bellerica* and *Embilica officinalis*. BMC Complementary and Alternative Medicine 10: 20.

Jin Y, Cui X, Singh UP, Chumanovich AA, Harmon B, Cavicchia P, Hofseth AB, Kotakadi V, Stroud B, Volate SR, Hurley TG, Hebert JR, Hofseth LJ (2010) Systemic inflammatory load in human suppressed by consumption of two formulations of dried, encapsulated juice concentrate. Molecular Nutrition & Food Research 54(10): 1506-1514.

Khan KH, Jain SK (2009) Regular intake of *Terminalia chebula* can reduce the risk of getting typhoid fever. Advanced Biotech 8(9): 10-15.

Khan KH (2009) The effect of regular intake of *Terminalia chebula* on oxidative stress in mice originated from *Salmonella typhimurium*. EurAsia Journal of BioScience 3: 113-121.

- Kim HG, Cho HG, Jeong EY, Lim JH, Lee SH, Lee HS (2006) Growth inhibiting activity of active component isolated from *Terminalia chebula* fruits against intestinal bacteria. *Journal of Food Protection* 69(9): 2205-2209.
- Mahesh R, Ramesh T, Nagulendran KR, Velavan S, Hazeena BV (2007) Effect of *Terminalia chebula* on Monoamine Oxidase and Antioxidant enzyme activities in aged rat brain. *Pharmacognosy Magazine* 3: 12-16.
- Malekzadeh F, Ehsanifar H, Shahamat M, Levin M, Colwell RR (2001) Antibacterial activity of black myrobalan (*Terminalia chebula* Retz) against *Helicobacter pylori*. *Journal of Antimicrobial Agents* 18: 85-88.
- Kumar M, Agarwal RC, Dey S, Rai VK, Johnson B (2009) Antimicrobial Activity of Aqueous Extract Of *Terminalia Chebula* Retz. on Gram positive and Gram negative Microorganisms. *International Journal of Current Pharmaceutical Research* 1(1): 56-60.
- Maron DM, Ames BN (1983) Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research* 113: 173-215.
- Mensor LL, Menezes FS, Leitao GG (2001) Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research* 15: 127-130.
- Murthy KB, Nammi S, Kota MK, Krishna Rao RV, Koteswara Rao N, Annapurna A (2004) Evaluation of hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Datura metel* (Linn.) seeds in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 9(1): 95-98.
- Muhammad S, Khan BA, Akhtar N, Mahmood T, Rasul A, Hussain I, Khan H, Badshah A (2012) The morphology, extractions, chemical constituents and uses of *Terminalia chebula*: A review. *Journal of Medicinal Plants Research* 6(33): 4772-4775.
- Pfundstein B, El Desouky SK, Hull WE, Haubner R, Erben G, Owen RW (2010) Polyphenolic compounds in the fruits of Egyptian medicinal plants (*Terminalia bellerica*, *Terminalia chebula* and *Terminalia horrida*): characterization, quantitation and determination of antioxidant capacities. *Phytochemistry* 71: 1132-1148.
- Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet J, Luyck M, Cazin M, Cazin JC, Bailleul F, Trotin F (2000) Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology* 72: 35-40.
- Rauha JP, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kahkonen M, Kujala T, Pihlaja K, Vuorela P (2000) Antimicrobial Effects of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoids and Other Phenolic Compounds. *International Journal of Food Microbiology* 56: 3-12.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9/10): 1231-1237.
- Saha S, Verma RJ (2016) Antioxidant activity of polyphenolic extract of *Terminalia chebula* Retz fruits. *Journal of Taibah University for Science* 10(6): 805-812.
- Saleem A, Husheem M, Harkonen P, Pihlaja K (2002) Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of *Terminalia chebula* retz fruit. *Journal of Ethnopharmacology* 81(3): 327-336.
- Naqvi HR, Asif M, Rehman AB, Ahmad M (2010) Evaluation of antimicrobial properties of *Terminalia chebula* Retz. *Pakistan journal of Pharmacology* 27(1): 29-35.
- Sharma K, Thakur S, Sharma S, Sharma SD (2012) A New Record on Flowering in Harar (*Terminalia chebula* Retz.) Seedling. *American Journal of Plant Sciences* 3: 693-695.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
- Srivastava P, Raut HN, Wagh RS, Puntambekar HM, Kulkarni MJ (2012) Purification and characterization of an antioxidant protein (~ 16 kDa) from *Terminalia chebula* fruit. *Food Chemistry* 131(1): 141-148.
- Suchalatha S, Srinivasalu C, Devi S (2005) Antioxidant activity of ethanolic extracts of *Terminalia chebula* fruit against isoproterenol-induced oxidative stress in rats. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 42: 246- 49.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 39: 44-84.
- Vonshak O, Barazani P, Sathiyamoorthy R, Shalev D, Vardy D, Golan GA (2003) Screening of South-Indian medicinal plants for antifungal activity. *Phytotherapy Research* 17(9): 1123-1125.
- Walia H, Kumar S, Arora S (2007) Analysis of antioxidant activity of methanol extract / fraction of *T. chebula* Ritz. *Journal of Chinese Clinical Medicine* 7(2): 1-12.
- Wan-Ibrahim WI, Sidik K, Kuppusamy UR (2010) A high antioxidant level in edible plants is associated with genotoxic properties. *Food Chemistry* 122(4): 1139-1144.
- Wetwitayaklung P, Charoenteeraboon J, Limmatvapirat C, Phaechamud T (2012) Antioxidant activities of some Thai and exotic fruits cultivated in Thailand. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 3(1): 12-21.
- Xie P, Chen S, Liang Y, Wang X, Tian R, Upton R (2006) Chromatographic fingerprinting analysis-a rational approach for quality assessment of traditional Chinese herbal medicine. *Journal of Chromatography A* 1112(1-2): 171-180.

Yanai N, Shiotani S, Hagiwara S, Nabetani H, Nakajima M
(2008) Antioxidant combination inhibits reactive

MURATHAN ZT, ERBIL N, ARSLAN M
oxygen species mediated damage. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 72(12): 3100-3106.

