

ÖZET

ROSMARINUS OFFICINALIS UÇUCU YAĞINDAN MİKROEMÜLSİYON FORMÜLASYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ ve BU FORMÜLASYONLARIN ANTİFUNGAL ETKİSİ

5

Buluş, antimikrobiyal ve antifungal özelliğine sahip, Rosmarinus officinalis uçucu yağını içeren bir farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan ile ilgilidir. Yenilik olarak bahsedilen farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan mikroemülsiyon formunda sağlanmaktadır.

10

Şekil 1

İSTEMLER

1. Buluş, antimikrobiyal ve antifungal özelliğine sahip, Rosmarinus officinalis uçucu yağını içeren bir farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan olup **özelligi**; bahsedilen farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajanın, mikroemülsiyon formunda olmasıdır.

2. Buluş, Rosmarinus officinalis yapraklarının,

- Kurutulması,
- Toz edilmesi

işlem adımlarını içeren antimikrobiyal ve antifungal özelliğine sahip bir farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan üretimi ile ilgili olup **özelligi**; mikroemülsiyon formunda elde edilmesini sağlamak üzere aşağıdaki;

- Ağırlıkça %0,1- 5 aralığındaki oranda uçucu yağ maddesinin, ağırlıkça %5-45 aralığındaki oranlarda bir yağ olan isopropil mirisrat ile karıştırılması,
- Üzerine ağırlıkça %5-50 aralığındaki oranlarda sürfaktan madde olarak; Span 60 ve Kromofor EL maddelerinden seçilen bir maddenin veya ikisinin kombinasyonunun ilave edilmesi,
- kosürfaktan olarak ağırlıkça %25-50 aralığında bir oranda etanol ve su olarak distile su maddelerinden biri veya her ikisinin kombinasyonunun ilave edilmesi
- hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonunun karıştırılması

işlem adımları ile istenilen mikroemülsiyon formülasyonunun elde edilmesi ile karakterize edilmesidir.

3. Buluş, Rosmarinus officinalis bitkisinden elde edilen uçucu yağın mikroemülsiyon formülasyonunun antimikrobiyal ve antifungal preparat/ ajan olarak kullanılmasıdır.

TARİFNAME

ROSMARINUS OFFICINALIS UÇUCU YAĞINDAN MİKROEMÜLSİYON FORMULASYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ ve BU FORMÜLASYONLARIN ANTİFUNGAL ETKİSİ

TEKNİK ALAN

Buluş, antimikrobiyal ve antifungal özelliğine sahip Rosmarinus officinalis uçucu yağını içeren bir farmasötik veya nutrasötik ajan elde edilmesi ile ilgilidir.

ÖNCEKİ TEKNİK

Günümüzde bitkisel ürünler gibi doğal kaynaklar hastalıkların tedavisinde oldukça popüler hale gelmiştir. Bitkilerden elde edilen ürünler ve fitokimyasallar geçmişten günümüze farmasötik alanda kullanılan preparatların içeriğinde yer almaktadır. Bitkisel ekstraktlar ve doğal maddelerden hastalıklara karşı etken madde elde etme alanında çok sayıda çalışma gerçekleştirilmekte ve Rosmarinus officinalis bitkisel ürünlerinin konvansiyonel olarak antibakteriyel, antiviral ve antifungal özellikleri açısından tercih edildiği bilinmektedir. Ancak hastalıklara karşı antimikrobiyal etkileri artırılmış ve daha etkili yeni preparat/ajanların geliştirilmesi gerekmektedir.

Kandidiyazis maya benzeri bir fungus tarafından oluşturulan bir enfeksiyondur. Bütün dünyada görülme prevalansı artmaktadır. Candida türleri mukokutanöz tutulumdan herhangi bir organı etkileyebilecek invaziv hastalığa kadar değişen geniş spektrumda enfeksiyonlara yol açmaktadır. Bu enfeksiyonlar orofaringeal ve özofagal gibi mukozal tutulumdan, sıklıkla immünsüpresif hastalarda gözlenen daha yaygın ve derin yerleşimli internal organ tutulumlarına kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Bu kadar geniş spektrumdaki hastalıklarda geniş tedavi yöntemleri gereklidir. Bu enfeksiyonlar için topikal ve sistemik tedavi yöntemleri ve profilaktik tedavi rejimleri bulunmaktadır. Candida albicans insan patojeni olan önemli bir fungustur. Bununla birlikte bitki hastalıkları da tarımsal alanda son derece önemli bir faktördür ve farklı genoslara ait fitopatogenik funguslar sayısız mahsulü enfekte ederek tarımda ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Son yıllarda tüm dünyada çiftçiler, bitki hastalıklarını kontrol etmekte geleneksel olarak kullanılan fungusitlerin etkinliğinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda fungusitlerin uygun olmayan kullanımları da fungal dirençliliğinin artmasına neden olmuş ve güncel olarak kullanılan fungusitler, benzimidazol ve dikarbomozitler gibi konvensiyonel antifungallere karşı dirençlilik geliştirmiştir. Bu dirençliliğin üstesinden gelmek için güncel kontrol stratejilerinin yerine geçebilecek yeni antifungal ajanların keşfedilmesi son derece önem arz etmektedir. Bu nedenlerle önemli bitki patojenleri olan *Fusarium moniliforme*, *Fusarium culmorum*, *Botrytis cinerea* gibi funguslar ve *Candida albicans* başta olmak üzere mikrobiyal patojenlere karşı yeni aktif ajan geliştirilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, yukarıda bahsedilen tüm sorunlar, ilgili teknik alanda bir yenilik yapmayı zorunlu hale getirmiştir.

BULUŞUN KISA AÇIKLAMASI

Mevcut buluş yukarıda bahsedilen dezavantajları ortadan kaldırmak ve ilgili teknik alana yeni avantajlar getirmek üzere, bir farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan üretimi ile ilgilidir.

Buluşun bir amacı antimikrobiyal ve antifungal özelliğine sahip bir farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan ortaya koymaktır.

Buluşun bir amacı antimikrobiyal ve antifungal özelliğine sahip bir mikroemülsiyon formda farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan üretimi ortaya koymaktır.

Yukarıda bahsedilen ve aşağıdaki detaylı anlatımdan ortaya çıkacak tüm amaçları gerçekleştirmek üzere mevcut buluş, bir farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan üretimi ile ilgilidir. Buna göre bahsedilen farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan, *Rosmarinus officinalis* uçucu yağını içermektedir. Bu sayede antimikrobiyal ve antifungal özelliğine sahip bir farmasötik veya nutrasötik ajan elde edilebilmektedir.

Buluşun mümkün yapılanmasında, *Rosmarinus officinalis* uçucu yağına sahip farmasötik veya nutrasötik ajan, mikroemülsiyon formunda olmaktadır. Bu sayede uçucu yağın mikrobiyal inhibisyonunun arttırılması sağlanmaktadır.

5 Buluş, ayrıca *Rosmarinus officinalis* uçucu yağını içeren bitkilerin,

- Kurutulması,
- Toz edilmesi
- Distilasyonla uçucu yağının elde edilmesi

10 işlem adımlarını içeren bir mikroemülsiyon formda farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan üretimi ile ilgilidir. Bahsedilen mikroemülsiyon formunda farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan üretimi aşağıdaki;

- 15 • Ağırlıkça %0,1-5 aralığındaki oranda uçucu yağ maddesinin, ağırlıkça %25-45 aralığındaki oranlarda bir yağ olan isopropil mirisrat ile karıştırılması,
- Üzerine ağırlıkça %5-30 aralığındaki oranlarda sürfaktan madde olarak; Span 60 ve Kromofor EL maddelerinden seçilen bir maddenin veya ikisinin kombinasyonunun ilave edilmesi,
- 20 • kosürfaktan olarak ağırlıkça %35-50 aralığında bir oranda etanol ve su olarak distile su maddelerinden biri veya her ikisinin kombinasyonunun ilave edilmesi
- hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonunun karıştırılması

25 işlem adımları ile istenilen mikroemülsiyon formülasyonunun elde edilmesi ile karakterize edilmektedir. Böylece antimikrobiyal ve antifungal özelliğine sahip mikroemülsiyon formunda farmasötik veya nutrasötik ajanın üretim metodu sağlanmaktadır.

30 Buluşun mümkün yapılanmasında, *Rosmarinus officinalis* bitkisinden elde edilen uçucu yağın mikroemülsiyon formülasyonu antimikrobiyal ve antifungal preparat/ ajan olarak kullanılmaktadır.

ŞEKİLİN KISA AÇIKLAMASI

Şekil 1' de uçucu yağ ve mikroemülsiyon formülasyonunun karşılaştırmalı % miselyal büyüme oranlarına dair Poisoned PDA tekniği ile gerçekleştirilen test sonuçlarına ilişkin grafik verilmiştir.

5

Şekil 2' de saf uçucu yağın, *Fusarium culmorum* patojenine karşı poisoned PDA tekniği ile fungusun miselyal büyümesi ölçülerek gerçekleştirilen antifungal aktivite deney sonucu verilmiştir.

10 Şekil 3' de mikroemülsiyon formülasyonunun, *Fusarium culmorum* patojenine karşı poisoned PDA tekniği ile fungusun miselyal büyümesi ölçülerek gerçekleştirilen antifungal aktivite deney sonucu verilmiştir.

15 Şekil 4' de saf uçucu yağın, *Botrytis cinerea* patojenine karşı poisoned PDA tekniği ile fungusun miselyal büyümesi ölçülerek gerçekleştirilen antifungal aktivite deney sonucu verilmiştir.

20 Şekil 5' de mikroemülsiyon formülasyonunun, *Botrytis cinerea* patojenine karşı poisoned PDA tekniği ile fungusun miselyal büyümesi ölçülerek gerçekleştirilen antifungal aktivite deney sonucu verilmiştir.

25 Şekil 6' da saf uçucu yağın, *Fusarium moniliforme* patojenine karşı poisoned PDA tekniği ile fungusun miselyal büyümesi ölçülerek gerçekleştirilen antifungal aktivite deney sonucu verilmiştir.

Şekil 7' de mikroemülsiyon formülasyonunun, *Fusarium moniliforme* patojenine karşı poisoned PDA tekniği ile fungusun miselyal büyümesi ölçülerek gerçekleştirilen antifungal aktivite deney sonucu verilmiştir.

30 BULUŞUN DETAYLI AÇIKLAMASI

Bu detaylı açıklamada buluş konusu antimikrobiyal ve antifungal özelliklere sahip bir farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan ile ilgili olup özelliği; sadece konunun daha

iyi anlaşılmasına yönelik hiçbir sınırlayıcı etki oluşturmayacak örneklerle açıklanmaktadır.

5 Bahsedilen farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan bünyesinde *Rosmarinus officinalis* bitkisinden elde edilen uçucu yağı bulunmaktadır. Buluş konusu uçucu yağ tercihen *Rosmarinus officinalis* yapraklarından elde edilmektedir.

10 Buluşta elde edilen farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan mikroemülsiyon formundadır. Bu sayede mikroemülsiyon formunda elde edilen ajanın vücutta hızlı ve yüksek verimde Emilimi sağlanmaktadır. Mikroemülsiyon formülasyonu kontrollü ilaç salınımı sağlaması, ilaçların sistemik ve topikal emilimlerini arttırması gibi çeşitli avantajlarından dolayı geliştirilmektedir. Mikroemülsiyonlar, diğer ilaç şekillerine göre oldukça avantajlı sistemlerdir. Mikroemülsiyon formülasyonu ile ilacın Emilimi tablet, kapsül gibi diğer ilaç şekillerine göre çok daha yüksek ve hızlı olmaktadır. Ayrıca, 15 yapısında bulunan yüzey etkin madde sayesinde membran akışkanlığını, dolayısıyla permeabiliteyi arttırmakta, böylece ilaç Emilimi artmaktadır.

20 Buluşta yer alan farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan, *Rosmarinus officinalis* bitkilerinden elde edilen yaprakların kurutulması ve toz haline getirilmesi işlemleri sonrasında, uçucu yağın mikroemülsiyon formülasyonu haline getirilmektedir. Bahsedilen mikroemülsiyon form bir yağlı faz içeren bileşen, bir sulu faz içeren bileşen, bir veya iki surfaktan ve bir kosurfaktan bileşen içermektedir. Mikroemülsiyon formda farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan üretimi aşağıdaki;

- 25
- i. Toz haline getirilen bitkiden uçucu yağın elde edilmesi,
 - ii. (i) adımıyla elde edilen uçucu yağın, başka bir yağ ile karıştırılması,
 - iii. Kosurfaktan, surfaktan ve suyun ilave edilmesi

işlem adımlarını içermesi ile karakterize edilmektedir.

30

(ii) adımıyla bahsedilen yağ olarak belli ağırlıkça oranlarda bitkisel yağlar, sentetik yağlar, trigliseritler, yağ asitlerinin esterlerinden en az bir veya belli oranlarda karışımları olabilmektedir. Buluşun mümkün bir yapılanmasında yağ fazı olarak

isopropil miristat tercih edilmiştir. Böylece, toksik olmayan, biyolojik olarak kullanımı uygun olan bir yağ kullanılmıştır.

(iii) adımıında bahsedilen sulu faz olarak belli ağırlıkça oranlarda su, sodyum klorür çözeltisi, tamponlar, propilenglikol, polietilen glikoller veya bunların kombinasyonları kullanılabilir. Buluşun mümkün bir yapılmasında sulu faz olarak *Rosmarinus officinalis* hidrosolü kullanılmıştır.

(iii) adımıında bahsedilen kosurfaktan madde olarak belli ağırlıkça oranlarda alkoller, glikollerin türevleri, poligliseroller ve propilen glikollerden en az birinin kullanılmasıdır. Buluşun mümkün bir yapılmasında kosurfaktan olarak etanol kullanılmıştır. Böylece formülasyonda hem çözücü, hem koruyucu özellik sağlanmıştır.

(iii) adımıında bahsedilen surfaktan madde olarak belli ağırlıkça oranlarda non-iyonik ve iyonik surfaktanlar, lesitin, poligliserol, yağ asidi esterleri kullanılabilir. Buluşun mümkün bir yapılmasında, surfaktan madde olarak span 60 ve kromofor EL kullanılmıştır. Span 60 ve Kromofor-EL toksik olmayan maddelerden olup formülasyonda tercih edilmiştir.

Buluşun mümkün bir yapılmasında bahsedilen *Rosmarinus officinalis* uçucu yağı içeren mikroemülsiyon formunda farmasötik veya nutrasötik preparat/ ajan üretimi aşağıdaki;

- Ağırlıkça %0,1- 5 aralığındaki oranda uçucu yağ maddesinin, ağırlıkça %5-45 aralığındaki oranlarda bir yağ olan isopropil mirisrat ile karıştırılması,
- üzerine ağırlıkça %5-50 aralığındaki oranlarda surfaktan madde olarak; Span 60 ve Kromofor EL maddelerinden seçilen bir maddenin veya ikisinin kombinasyonunun ilave edilmesi,
- kosurfaktan olarak ağırlıkça %25-50 aralığında bir oranda etanol ve su olarak distile su maddelerinden biri veya her ikisinin kombinasyonunun ilave edilmesi
- hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonunun karıştırılması

işlem adımları ile istenilen mikroemülsiyon formülasyonunun elde edilmesi prosesi ile sağlanmaktadır.

Buluşun mümkün bir yapılanmasında Rosmarinus officinalis mikroemülsiyon formülasyonunda; 100 gr mikroemülsiyon formülasyonunda Rosmarinus officinalis uçucu yağı ağırlıkça %0,1-%5 aralığında, isopropil miristat 5 gr- 45 gr aralığında, Span 60 5 gr- 25 gr aralığında, Kromofor EL 1 gr- 15 gr aralığında, etanol 25 gr- 50 gr aralığında, distile su 0.5 gr- 20 gr aralığında bir değerde kullanılarak mikroemülsiyon hazırlanmıştır.

10 Örnek

R. officinalis toprak üstü kısımları 2018 yılında Beykoz/İstanbul'dan toplanmış ve gölgede uygun şartlar altında kurutulmuştur. Herbaryum örnekleri İstanbul Medipol Üniversitesi Herbaryumunda saklanmaktadır. Kurutulan örnekler toz haline getirilerek, Clevenger cihazında R. officinalis uçucu yağı elde edilmiştir.

Rosmarinus officinalis uçucu yağı içeren mikroemülsiyon formülasyonu; başka bir yağ ve Rosmarinus officinalis uçucu yağı tartılıp üzerine sürfaktan ve cosurfaktan ilave edilip en son su ilavesi ile karıştırılıp hazırlanması ile elde edilmiştir.

20

Mikroemülsiyon formülasyonunu oluşturabilmek için titrasyon metodu kullanılmıştır. Yağ, sürfaktan ve kosürfaktan karışımları 25°C'de 750 rpm'de hidrosol kullanılarak titre edilmiştir. Faz diyagramı oluşturmak için Triangle Phase Diagram Analysis Software kullanılmıştır. Mikroemülsiyon yağ fazı olarak isopropil miristat kullanılarak formüle edilmiş ve sürfaktan olarak span 60 ve kromofor EL kullanılırken kosürfaktan olarak etanol tercih edilmiş ve su olarak distile su tercih edilmiştir. R. officinalis uçucu

25

yağı formülasyon içerisindeki yağ ile karıştırılarak çözünmüş ve karıştırılarak eklenmiştir.

Çalışmada *Rosmarinus officinalis* yapraklarından elde edilen uçucu yağların mikroemülsiyon formülasyonlarının *C. albicans*, *B. Cinerea* ve farklı *Fusarium* türlerine karşı antifungal etkinliği tespit edilmiştir.

R. officinalis uçucu yağı ve *R. officinalis* mikroemülsiyon formülasyonunun karşılaştırmalı olarak önemli bitki patojenleri olan *Fusarium moniliforme* NRRL 2374, *Fusarium culmorum* NRRL 3288 ve *Botrytis cinerea* AHU 9424 suşlarına karşı miselyal büyümeyi inhibe edici aktivitesi incelenmiştir.

Candida albicans ATCC 64548 suşu RPMI broth içerisinde çoğaltılmış ve antifungal aktivite deneyleri mikrodilüsyon yöntemiyle yapılmıştır. Bitki patojeni fungusların antifungal aktivitesi ise miselyal büyümeleri ölçülerek gerçekleştirilmiştir. Bunun için Poisoned PDA tekniği kullanılmıştır.

Tablo 1’de *R. officinalis* uçucu yağının maddedeki farklı bileşiklerin tespit edilmesi amacıyla bir analitik kimya yöntemi olan Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile gerçekleştirilen analiz sonuçları verilmiştir. *R. officinalis* uçucu yağının ana bileşenleri kafur (19.5%), verbenon (11.1%), borneol (8.3%), α -pinen (6.5%), ve linalool (5.5%) olarak tespit edilmiştir.

RRI	Compound	%
1014	Tricyclene	0.1
1032	α -Pinene	6.5
1072	α -Fenchene	tr
1076	Camphene	1.5
1118	β -Pinene	0.4
1135	Thuja-2,4(10)-diene	0.6
1159	δ -3-Carene	1.1
1174	Myrcene	0.9
1176	α -Phellandrene	0.1
1183	p-Mentha-1,7(8)-diene (=Pseudolimonene)	tr
1187	o-Cymene	0.1
1188	α -Terpinene	0.2

1203	Limonene	2.7
1213	1,8-Cineole	12.0
1225	(Z)-3-Hexenal	tr
1244	2-Pentyl furan	tr
1246	(Z)- β -Ocimene	tr
1255	γ -Terpinene	0.1
1265	3-Octanone	0.1
1266	(E)- β -Ocimene	tr
1280	p-Cymene	1.5
1290	Terpinolene	0.2
1391	(Z)-3-Hexenol	0.1
1400	Nonanal	0.1
1445	Filifolone	0.2
1450	trans-Linalool oxide (Furanoid)	0.1
1452	α ,p-Dimethylstyrene	0.1
1452	1-Octen-3-ol	0.4
1478	cis-Linalool oxide (Furanoid)	tr
1493	α -Ylangene	0.1
1497	α -Copaene	0.1
1499	α -Campholene aldehyde	0.1
1532	Camphor	19.5
1536	Pinocamphone	3.7
1541	Benzaldehyde	tr
1553	Linalool	5.5
1571	trans-p-Menth-2-en-1-ol	0.1
1586	Pinocarvone	0.4
1591	Bornyl acetate	0.4
1611	Terpinen-4-ol	1.3
1612	β -Caryophyllene	0.7
1638	cis-p-Menth-2-en-1-ol	0.1
1663	cis-Verbenol	0.2
1670	trans-Pinocarveol	0.2
1683	trans-Verbenol	0.8
1687	α -Humulene	0.2
1700	p-Mentha-1,8-dien-4-ol (=Limonen-4-ol)	0.1
1704	γ -Muurolene	0.1
1706	α -Terpineol	4.5
1719	Borneol	8.3
1725	Verbenone	11.1
1751	Carvone	0.2
1773	δ -Cadinene	0.1
1805	α -Campholene alcohol	2.2
1823	p-Mentha-1(7),5-dien-2-ol	tr
1838	(E)- β -Damascenone	tr
1845	trans-Carveol	0.2
1864	p-Cymen-8-ol	0.4
1865	Isopiperitenone	0.1
1868	(E)-Geranyl acetone	0.3
1872	cis-Myrtanol	0.1
1879	trans-Myrtanol	0.1
1941	α -Calacorene	tr

1949	Piperitenone	0.2
2008	Caryophyllene oxide	0.6
2029	Perilla alcohol	0.1
2030	Methyl eugenol	0.2
2045	Humulene epoxide-I	tr
2071	Humulene epoxide-II	0.2
2073	β -Caryophyllene alcohol	tr
2088	1-epi-Cubenol	0.1
2161	Muurolo-4,10(14)-dien-1-ol	tr
2186	Eugenol	0.1
2187	T-Cadinol	0.1
2209	T-Muurolol	tr
2211	Clovenol	0.1
2239	Carvacrol	0.1
2232	α -Bisabolol	0.1
2255	α -Cadinol	0.1
2324	Caryophylla-2(12),6(13)-dien-5 α -ol (=Caryophylladienol II)	0.2
2365	(Z)-Methyl jasmonate	0.1
2384	Farnesyl acetone	tr
2389	Caryophylla-2(12),6-dien-5 α -ol (=Caryophyllenol I)	0.5
2392	Caryophylla-2(12),6-dien-5 β -ol (=Caryophyllenol II)	0.2
2931	Hexadecanoic acid	tr
Monoterpene Hydrocarbones		28.0
Oxygenated Monoterpenes		49.2
Sesquiterpene Hydrocarbones		12.4
Oxygenated Sesquiterpenes		2.3
Fatty acids		tr
Others		1.4
Total		93.3

RRI Relative retention indices calculated against n-alkanes

% calculated from FID data

tr Trace (< 0.1 %)

Tablo 1. R. Officinalis uçucu yağının GC-MS analiz sonuçları

5

Aşağıda verilen Tablo 2’de ise R. officinalis uçucu yağının ve mikroemülsiyon formülasyonunun eşeyli çoğalan, diploit, maya tipi bir mantar türü olan ve insanlarda oral ve vajinal fırsatçı enfeksiyonların etmeni olan C. albicans mantarı üzerinde antimikrobiyal özellikleri belirtilmiştir.

10

Madde	C. albicans ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
Uçucu Yağ	62.5
Mikroemülsiyon Formülasyonu	15.6
Ketokonazol	15.6

Tablo 2. R. officinalis uçucu yağının ve mikroemülsiyon formülasyonunun antimikrobiyal aktivitesi (MİK değerleri)

- 5 Sonuçlar karşılaştırmalı olarak incelendiğinde mikroemülsiyon formülasyonunun C. albicans'a karşı antimikrobiyal etkinliği MİK değeri olarak verilmiştir. MİK değeri; minimal inhibitör konsantrasyonu olup hücre sayısının artışını engelleyen en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonu olarak değerlendirilmektedir. Tablo 2'de verilen R. officinalis uçucu yağının ve mikroemülsiyon formülasyonunun
- 10 antimikrobiyal aktivite sonuçları incelendiğinde MİK olarak mikroemülsiyon formülasyonunun saf uçucu yağa göre C. albicans'a karşı oldukça anlamlı şekilde artmış olduğu görülmektedir. Saf uçucu yağın C. albicans'a karşı MİK değeri 62.5 $\mu\text{g} / \text{mL}$ iken mikroemülsiyon formilasyonu haline getirildiğinde 15.6 $\mu\text{g} / \text{mL}$ olarak bulunduğu görülmektedir. Dolayısı ile mikroemülsiyon formülasyonu haline getirilmiş
- 15 Rosmarinus officinalis maddesi ile uçucu yağa göre çok daha etkili bir antimikrobiyal antifungal ajan sağlanmaktadır. Saf R. officinalis uçucu yağının antikandidal aktivitesi çalışılmış olmasına rağmen bu örnekte görüldüğü üzere mevcut buluş ile uçucu yağ mikroemülsiyon formülasyonu haline getirilerek MİK değeri 4 kat arttırılmıştır ve antikandidal bir preparat/ ajan olarak kullanım için daha etkili bir
- 20 formülasyon haline getirilmiştir.

Buluşun mümkün bir yapılanmasında R. officinalis uçucu yağının ve mikroemülsiyon formülasyonunun bitki patojenlerine karşı miselyal büyüme inhibisyonu da

karşılaştırmalı olarak tespit edilmiştir. Şekil 1'de verildiği üzere yaklaşık %50 oranında bir seçici inhibisyon sağlandığı görülmektedir. *F. culmorum*, *B. cinerea*, ve *F. moniliforme* patojenlerinin saf uçucu yağ kullanıldığında miselyal büyümeleri sırasıyla 50%, 33%, ve 42% iken mikroemülsiyon şeklinde formüle edilmiş uçucu yağ kullanıldığında bu oranın sırasıyla 12%, 15%, ve 33% e gerilediği görülmüştür. Sonuçlarda tespit edildiği üzere *R. officinalis* uçucu yağının mikroemülsiyon formülasyonu uçucu yağa göre çok daha etkili antimikrobiyal ve antifungal özelliklere sahip bir farmasötik, nutrasötik preparat/ ajan veya pestisit olarak kullanılabilecektir.

- 10 Bitki patojeni funguslara karşı mikroemülsiyon formülasyonunun ve saf uçucu yağın antifungal aktivitesi poisoned PDA tekniği ile fungusların miselyal büyümeleri ölçülerek araştırılmıştır. Bunun için besiyeri ile madde karıştırılarak petrilere dökülmüştür. Ardından donmuş ve ilaçla muamele edilmiş besiyerine taze gelişmiş fungus ortamından 4 mm çapında alınarak petri kabının ortasına yerleştirilmiştir. Bir
- 15 hafta boyu inkübasyona bırakılarak bir hafta sonunda fungusların miselyal büyüme çapları ölçülmüştür. Miselyal büyümeyi en çok inhibe eden maddenin bitki patojenlerine karşı antifungal ajan olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Miselyal büyüme inhibisyonu söz konusu fungusun yayılmasının önlenmesi anlamı taşımaktadır. Pozitif kontrol olarak ketokonazol kullanılırken negatif kontrol olarak
- 20 DMSO (Dimetil sülfoksit) kullanılmıştır. Ketokonazol da miselyal büyüme hiç olmazken DMSO da miselyal büyüme %100 olarak belirlenmiştir.

- Şekil 2 ve Şekil 3'te görüldüğü üzere *R. officinalis* mikroemülsiyon formülasyonunun, *R. officinalis* saf uçucu yağına göre, *Fusarium culmorum* patojenine karşı daha etkili antifungal aktivite gösterdiği ve *R. officinalis* mikroemülsiyon formülasyonunun, saf *R. officinalis* uçucu yağına göre fungus miselyal büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiği tespit edilmiştir.

Şekil 4 ve Şekil 5’de görülebileceği üzere *R. officinalis* mikroemülsiyon formülasyonunun, *R. officinalis* saf uçucu yağına göre, *Botrytis cinerea* patojenine karşı daha etkili antifungal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

5

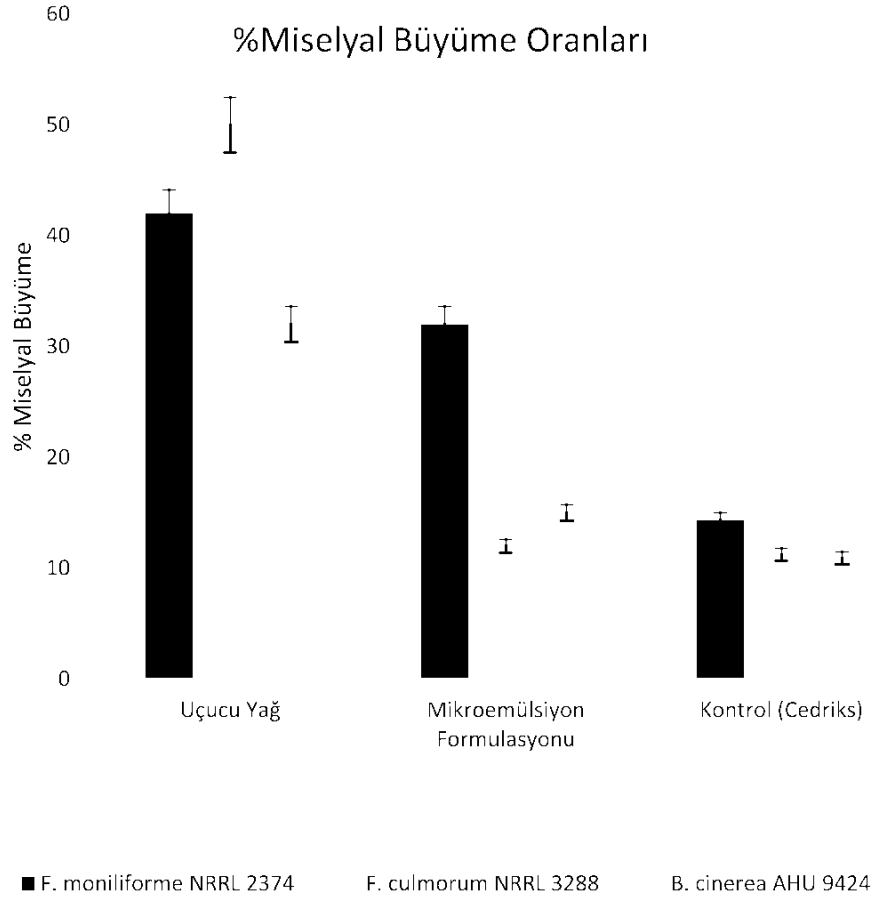
Şekil 6 ve Şekil 7’de verildiği üzere *R. officinalis* mikroemülsiyon formülasyonunun, *R. officinalis* saf uçucu yağına göre, *Fusarium moniliforme* patojenine karşı aynı şekilde daha etkili antifungal aktivite gösterdiği ve fungusun miselyal büyümesini saf uçucu yağa göre daha fazla inhibe ettiği tespit edilmiştir.

10

Buluşun koruma kapsamı ekte verilen istemlerde belirtilmiş olup kesinlikle bu detaylı anlatımda örnekleme amacıyla anlatılanlarla sınırlı tutulamaz. Zira teknikte uzman bir kişinin, buluşun ana temasından ayrılmadan yukarıda anlatılanlar ışığında benzer yapılanmalar ortaya koyabileceği açıktır.

15

1/4

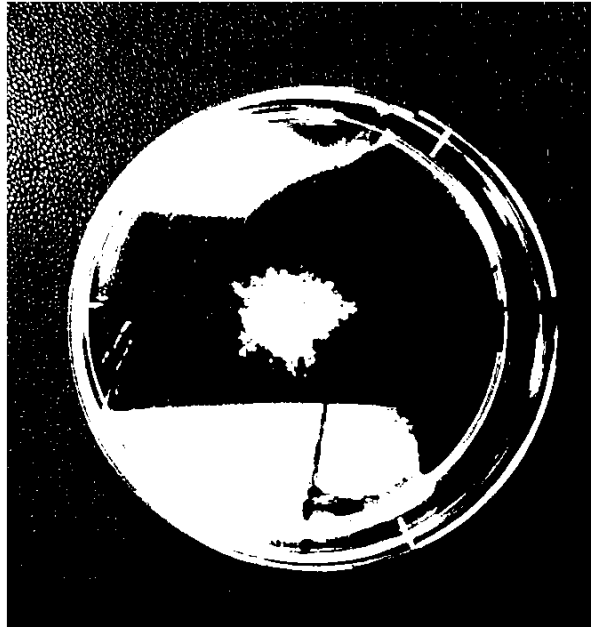


Şekil 1

2/4



Şekil 2

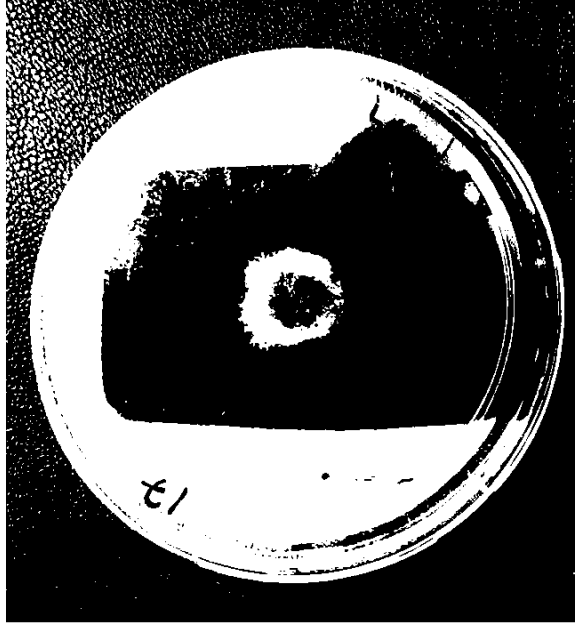


Şekil 3

3/4



Şekil 4

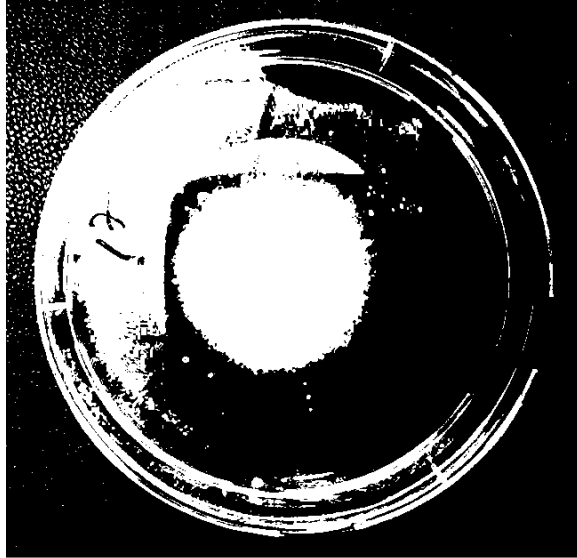


Şekil 5

4/4



Şekil 6



Şekil 7