

T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI



**DOĞU BALLIBABASI (*Wiedemannia orientalis*) BİTKİSİNİN SU
EKSTRAKTLARININ *İN VİTRO* SİTOTOKSİK
POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ**

GAMZE BURCU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROF. DR. MEHMET CENGİZ BALOĞLU

TEMMUZ - 2022

KASTAMONU

TEZ ONAYI

Gamze BURCU tarafından hazırlanan “**Doğu Ballıbabası (*Wiedemannia orientalis*) Bitkisinin Su Ekstraktlarının *İn Vitro* Sitotoksik Potansiyelinin İncelenmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **04.07.2022** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU Kastamonu Üniversitesi
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU Kastamonu Üniversitesi
Jüri Üyesi	Dr. Öğrt. Üyesi Abdulhamit BATTAL Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü V. Prof. Dr. İzzet ŞENER

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

GAMZE BURCU

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOĞU BALLIBABASI (*Wiedemannia orientalis*) BİTKİSİNİN SU EKSTRAKTLARININ *İN VİTRO* SİTOTOKSİK POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ

GAMZE BURCU

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF. DR. MEHMET CENGİZ BALOĞLU
EŞ DANIŞMAN: DR. ÖĞR. ÜYESİ ENİS FUAT TÜFEKÇİ

Günümüzde bitkilerin biyolojik aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalar giderek hız kazanmaktadır. Literatürde Lamiaceae familyasında bulunan *Wiedemannia orientalis* (Doğu ballıbabası) Fisch. & Mey. türünün biyolojik aktivitelerini irdeleyen detaylı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında Doğu ballıbabası'nın kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından hazırlanan su ekstraktlarının meme kanseri hücre hatlarına karşı sitotoksik, insan patojenlerini temsil eden bakterilere karşı antibakteriyel ve bir takım biyoindikatör suşlara karşı quorum sensing inhibitör etkinliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda ekstraktların MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları üzerine sitotoksik etkileri MTT yöntemi ile araştırılmıştır. Antibakteriyel aktivite testleri on Gram-negatif ve üç Gram-pozitif bakteri suşuna karşı sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Ekstraktların anti-QS aktiviteleri ise *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 suşuna karşı yumuşak agar yöntemi kullanılarak viyolasin pigment inhibisyonu üzerine ve *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 suşuna karşı kristal viyole yöntemi kullanılarak biyofilm oluşumunun inhibisyonu üzerine araştırılmıştır. Ekstraktların MDA-MB-231 hücre hattına karşı önemli seviyede sitotoksik aktivite sergilemediği ancak MCF-7 hücre hattına karşı değişen oranlarda sitotoksik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Özellikle kök ekstraktının en etkili sitotoksik aktiviteye sahip ekstrakt olduğu gözlenmiştir ($IC_{50}=589,3 \mu\text{g/mL}$). Buna karşın tüm ekstraktların çalışılan konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivite sergilemediği ($MİK>500 \mu\text{g/mL}$) ve viyolasin pigment üretimini inhibe etmedikleri saptanmıştır. Tüm ekstraktların değişen oranlarda biyofilm oluşumunu inhibe ettikleri özellikle de çiçek ekstraktının biyofilm oluşumunu (%44,5 oranında) en fazla inhibe eden ekstrakt olduğu gözlenmiştir. Bu tez çalışmasından elde edilen bulgular Doğu ballıbabası türünün özellikle kök ve çiçek ekstraktlarının sırasıyla antikanser ve anti-biyofilm ajanlarının geliştirilmesine katkıda bulunacağını göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Anti-biyofilm, ekstrakt, sitotoksik, *Wiedemannia orientalis* Fisch. & Mey.

Temmuz 2022, 50 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

INVESTIGATION OF *IN VITRO* CYTOTOXIC POTENTIAL OF WATER EXTRACT OF *WIEDEMANNIA ORIENTALIS*

GAMZE BURCU

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF GENETICS AND BIOENGINEERING

SUPERVISOR: PROF. DR. MEHMET CENGİZ BALOĞLU
CO-SUPERVISOR: DR. ÖĞR. ÜYESİ ENİS FUAT TÜFEKÇİ

Studies on the biological activities of plants are gaining momentum nowadays. There is no detailed study in the literature examining the biological activities of *Wiedemannia orientalis* Fisch. & Mey. species in the Lamiaceae family. This thesis aimed to determine the cytotoxic effects of water extracts of the root, stem, leaf, and flower parts of *W. orientalis* against breast cancer cell lines, antibacterial activities against bacteria representing human pathogens, and quorum sensing inhibitory effects against some bioindicator strains. For this purpose, the cytotoxic effects of the extracts on MCF-7 and MDA-MB-231 cell lines were investigated by the MTT method. The antibacterial activity was investigated against ten Gram-negative and three Gram-positive bacteria using the broth microdilution method. The anti-QS activities of the extracts were studied using the soft agar method and the crystal violet method on violacein pigment inhibition in *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 and on biofilm formation inhibition in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, respectively. The extracts did not exhibit significant cytotoxic activity against the MDA-MB-231 cell line. However, the extracts showed varying degrees of cytotoxic activity against the MCF-7 cell line. In particular, the root extract showed the most potent cytotoxic activity ($IC_{50}=589,3$ $\mu\text{g/mL}$). In contrast, the extracts did not exhibit antibacterial activity ($MIC>500$ $\mu\text{g/mL}$) at the concentrations studied, and violacein did not inhibit pigment production. All extracts inhibited biofilm formation at varying rates. In particular, the flower extract inhibited biofilm formation at the highest rate (44.5%). The results showed that especially the root and flower extracts of the *W. orientalis* might contribute to the development of anticancer and anti-biofilm agents, respectively.

KEYWORDS: Anti-biofilm, cytotoxic, extract, *Wiedemannia orientalis* Fisch. & Mey.

July 2022, 50 Page

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam süresi boyunca bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, çalışmamın tüm deneysel aşamalarında öneri ve yönlendirmeleri ile bana yol gösteren danışman hocalarım Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Enis Fuat TÜFEKCI'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Aynı zamanda deneysel çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Aslı UĞURLU ve Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU hocalarıma, çalışmalarda kullandığım ekstraktların temin edilmesini sağlayan Doç. Dr. Gökhan ZENGİN'e ve çalışmaları beraber sürdürdüğüm arkadaşım Ebrar ÇAĞLIYAN'a teşekkür ederim.

Hayatım ve eğitimim boyunca her zaman yanımda olup bana her türlü desteği veren manevi desteğini esirgemeyen ve her daim yanımda olan canım annem Nurhayat DÖŞDEMİR'e en içten duygularıyla sonsuz teşekkür ederim.

Gamze BURCU

Kastamonu, 2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI	ii
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1 Lamiaceae Ailesi Hakkında Genel Bilgiler	3
1.2 Doğu Ballıbabası Türü	3
1.2.1 Doğu Ballıbabası Türünün Fiziksel Özellikleri	4
1.2.2 Doğu Ballıbabası Türünün Fitokimyasal İçeriği	4
1.3 Kanser.....	5
1.3.1 Meme Kanseri	6
1.3.1.1 MDA-MB-231 hücre hattı	7
1.3.1.2 MCF-7 hücre hattı	8
1.4 Viyolasin İnhibisyon Mekanizması	8
1.5 Biyofilm İnhibisyon Mekanizması	10
1.6 Çalışmanın Amacı	11
2. MATERYAL VE METOD	12
2.1 Materyaller	12
2.1.1 Bitki Materyali	12
2.1.2 Kanser Hücre Hatları	12
2.1.3 Bakteri Suşları.....	12
2.1.4 Kimyasallar, Cihazlar ve Sarf Malzemeler.....	13
2.2 Metotlar	15
2.2.1 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması	15
2.2.2 Hücre Kültürü	15
2.2.2.1 Hücre kültürünün devamlılığı.....	16
2.2.2.2 Hücre canlılık testi (MTT) ve IC ₅₀ değerlerinin tespit edilmesi..	16
2.2.3 Antibakteriyal Aktivite Deneyleri	17
2.2.4 Viyolasin İnhibisyon Deneyi	18
2.2.5 Biyofilm İnhibisyon Deneyi	20
3. BULGULAR	23
3.1 Doğu Ballıbabası Bitkisi Su Ekstraktlarının Meme Kanseri Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik Etkisi	23
3.2 Doğu Ballıbabası Bitkisi Su Ekstraktlarının Bakteri Suşları Üzerine Antibakteriyal Etkinliği.....	34
3.3 Doğu Ballıbabası Bitkisi Su Ekstraktlarının Viyolasin Pigment Üretimi Üzerine Etkileri.....	35

3.4 Doğu Ballıbabası Bitkisinin Su Ekstraktlarının Anti-biyofilm Aktivitesi.....	35
4. TARTIŞMA	37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ.....	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 Doğu ballıbabası bitkisinin görseli	4
Şekil 1.2 Anthony van Leeuwenhoek'un bildirdiği animalkül şekilleri	10
Şekil 3.1 Doğu ballıbabası kök ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine etkileri	24
Şekil 3.2 Doğu ballıbabası gövde ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine etkileri	25
Şekil 3.3 Doğu ballıbabası yaprak ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine etkileri	26
Şekil 3.4 Doğu ballıbabası çiçek ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine etkileri	28
Şekil 3.5 Doğu ballıbabası kök ekstraktının MCF-7 hücre hattı üzerine üzerine 24. ve 48. saat sonunda hesaplanan IC ₅₀ değerleri ve çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde hücre hattı üzerine etkisi	29
Şekil 3.6 Doğu ballıbabası gövde ekstraktının MCF-7 hücre hattı üzerine 48. saat sonunda hesaplanan IC ₅₀ değerleri ve çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde hücre hattı üzerine etkileri	31
Şekil 3.7 Doğu ballıbabası yaprak ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine etkileri	32
Şekil 3.8 Doğu ballıbabası çiçek ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine etkileri	33
Şekil 3.9 Doğu ballıbabası bitkisinin <i>C. violaceum</i> ATCC 12472 suşunda viyolasin pigment üretimi üzerine etkisi	35

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1 Çalışmada kullanılan bakteriler 13	13
Tablo 2.2 Çalışmada kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler 13	13
Tablo 2.3 Çalışmada kullanılan kimyasallar 14	14
Tablo 3.1 Doğu ballıbabasının kök, gövde, yaprak ve su ekstraktlarının referans bakterilerle karşı MİK değerleri 34	34

GRAFİKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Grafik 3.1 Doğu ballıbabası kök ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi.	23
Grafik 3.2 Doğu ballıbabası gövde ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi.	25
Grafik 3.3 Doğu ballıbabası yaprak ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi.	27
Grafik 3.4 Doğu ballıbabası çiçek ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi.	27
Grafik 3.5 Doğu ballıbabası kök ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi	30
Grafik 3.6 Doğu ballıbabası gövde ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi	30
Grafik 3.7 Doğu ballıbabası yaprak ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi	32
Grafik 3.8 Doğu ballıbabası çiçek ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi	34
Grafik 3.9 Doğu ballıbabası ekstraktlarının <i>P. aeruginosa</i> PAO1 suşunda anti-biyofilm aktiviteleri.....	36

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

cm	: Santimetre
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
gr	: Gram
mL	: Mililitre
µL	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
°C	: Santigrad Derece
%	: Yüzde
~	: Yaklaşık olarak
α	: Alfa
β	: Beta
&	: Ve

Kısaltmalar

AHL	: N- açıl homoserin lakton
CO₂	: Karbondioksit
dH₂O	: Distile su
H₂O	: Su
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EACC	: Avrupa kimliği doğrulanmış hücre kültürleri koleksiyonu
ER	: Östrojen Reseptörü
FBS	: Fetal bovin serum
HER2	: İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
IC₅₀	: Yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu
MeOH	: Metanol
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MTT	: Metiltiazol difeniltetrazolyum bromür
NEAA	: Esansiyal Olmayan Amino Asit
PBS	: Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PR	: Progesteron Reseptörü
QS	: Quorum Sensing
TNBC	: Üçlü negatif meme kanseri

1. GİRİŞ

Çok eski tarihlerden beri insanlar besin ihtiyaçları ve çeşitli hastalıkların tedavisi için doğadan yararlanmaktadır. Bitkilerin kullanımını gösteren en eski kayıtlar MÖ 2600 yıllarında Mezopotamya’da yaklaşık olarak 1000 bitkisel ürünün tespit edildiği belgelerde geçmektedir (Cragg ve Newman, 2013). Günümüzde mevcut hastalıkların tedavisinde kullanılan sentetik ilaçlara ek olarak ilaç üretimi araştırmalarında tıbbi bitkilerin kullanımı yaygınlaşmaktadır (Bayramoğlu vd., 2009). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’nün verilerine göre yeryüzünde yaklaşık 20.000 bitki türü tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır (Bayram vd., 2010). Bitkiler tedavi amaçlı kullanılmalarının yanısıra baharat, gıda sanayi, kozmetik ve temizlik gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Tan, 1992). Bitkilerin tedavi amacıyla kullanımı ülkelerin gelişmişlik düzeylerine göre farklılık göstermektedir. Gelişmekte olan ülkelere nüfusun %80’i tedavi amaçlı bitkisel ürünlerden yararlanırken, Asya, Afrika ve Ortadoğu bölgelerindeki birçok ülkede bu oran %95’e kadar yükselmektedir (Özkan vd., 2013). DSÖ’ye göre gelecek yıllarda tüm dünyada bitkilerin tedavide kullanımının artacağı öngörülmektedir. Günümüzde kullanılan farmasötik ilaçların %25’inin tıbbi bitkilerden temel aldığı bildirilmektedir (Acıbuca ve Budak, 2018). Bitkilerin ilaç olarak kullanılabilmesi 19. yüzyılın başlarında afyon bitkisinden morfin izole edilmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu keşif bitkiler üzerinde yapılan araştırmaların giderek yaygınlaşmasına neden olmuş ve kodein, atropin ve kinin benzeri birçok biyoaktif molekülün bulunmasını sağlamıştır (Atanasov vd., 2015).

Türkiye, bitki çeşitliliği ile dünyadaki en zengin floraya sahip ülkeler arasındadır. Ülkemiz tıbbi bitkiler için önemli bir kaynaktır. Türkiye’de yetişen yaklaşık 10.000 bitki türü tanımlanmış, bu bitkilerin 1/3’ünü tıbbi bitkilerin oluşturduğu ve 3000 türün de endemik olduğu bildirilmiştir. İlave olarak ülkemizde tıbbi amaçlarla kullanılan bitki sayısı kesin olmamakla birlikte aktarlarda satılan bitki sayısının yaklaşık 300 olduğu düşünülmekte ve bunun da yaklaşık 100’nün ihracatının yapıldığı bilinmektedir (Temel vd., 2018).

Geleneksel olarak ve modern tıp uygulamalarında tedavi amaçlı kullanılan bitkilere ‘‘Tıbbi Bitki’’ denilmektedir (Baydar, 2007). Tıbbi bitkiler içeriklerinde buldukları doğal antioksidan bileşikler sebebiyle geçmişte ve günümüzde ilaç olarak kullanılmıştır. Fenolik bileşikler doğal antioksidanların başlıca grubunu oluşturmaktadır (Deveci vd., 2016). Fenolik bileşikler içerisinde basit fenolik bileşikler, flavonoid bileşikler ve tanenleri bulundurmakta ve en az on farklı gruba ayrılmaktadır (Sorucu, 2015). Fenolik bileşikler, bir benzen ya da başka bir aren halkasına bağlı bir ve birden fazla hidroksil grubuyla karakterize edilir (Berdowska vd., 2013). Fenolik bileşiklerin gösterdiği antikanser özellikler, kanserin yayılmasını önlemek için çoklu mekanizmaların çalışıldığı birçok makalede incelenmiştir (Huang vd., 2010; Neergheen vd., 2010).

Ayrıca flavonoidlerin, insan vücudunda toksik etkiye neden olmadığı aksine yararlı etkilerinin bulunduğu bilinmektedir. Flavonoidler, gösterdikleri antioksidan özellik ile vücutta hücresel süreçleri etkileyerek anti-inflamatuar, antimikrobiyal, antikarsinojenik ve daha birçok biyolojik aktiviteler sergileyebilir (Salehi vd., 2019). Ayrıca flavonoidler süperoksitleri, hidroksilleri ve vekil radikalleri temizleyerek lipid peroksit zincir reaksiyonlarını da kırabilirler. Ek olarak flavonoidler hücreleri X ışınlarından koruyabilir, hücre döngüsü gelişimini engelleyebilir ve çok aşamalı karsinogenezi inhibe edebilirler (Yalameha, 2018). Tıbbi bitkilerin fenolik içeriklerinden yararlanılarak doğal antibiyotiklerin elde edilmesi ve yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi mümkündür. Doğal antibiyotikler, bitkilerden türetilen ve antibakteriyel aktivite gösteren maddeler olarak ifade edilir ve tıbbi bitkilerden geliştirilen antibiyotiklerin bakteriyostatik veya bakterisidal etkiye neden olduğu bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Oses vd., 2016; Salehi vd., 2019).

Dünya florasında birçok tıbbi bitki olmasına rağmen tüm bitkiler biyolojik aktivite özelliğine sahip değildir. Bitkilerin biyolojik etkilere sahip olup olmadıklarının anlaşılması için *in vitro* çalışmalar gerçekleştirilir. Bu çalışmada Lamiaceae familyasına ait *Wiedemannia orientalis* (Doğu ballıbabası) Fisch. & Mey. bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından hazırlanan su ekstraktlarının MCF-7 ve MDA-MB-231 kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitelerinin, insan patojenlerini temsil eden referans bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktivitelerinin

ve biyoindikatör bakteri suşlarına karşı anti-quorum sensing (anti-QS) aktivitelerinin araştırılması ve ilaç hammaddesi olma potansiyelinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

1.1 Lamiaceae Ailesi Hakkında Genel Bilgiler

Lamiaceae, çok geniş bir aile olmakla birlikte ailenin birçok türü çalılık ve ottur (Heywood, 1978). Lamiaceae ailesi dünyada 250 cins 7000 tür ile temsil edilirken, Türkiye'de 48 cins, 782 taksonla temsil edilir (Akkoyunlu ve Dülger, 2019). Bu aile biyolojik ve tıbbi uygulamalar açısından önemli bir bitki familyasıdır. Lamiaceae ailesi sahip oldukları hoş koku ile birçok türü Türkiye'de bitki çayı olarak tüketilmektedir. Bazı türleri geleneksel olarak şifalı bitki olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Aileye ait birçok türün Verbenaceae ailesi ile ilişkili olduğu düşünülmüş fakat yapılan filogenetik çalışmaların sonucunda Lamiaceae ailesine ait oldukları belirlenmiştir (Raja, 2012).

Lamiaceae ailesi büyük miktarlarda fenolik bileşikler ve flavonoidler içerir. İçerdikleri fenolik bileşikler ve flavonoidler sayesinde geçmişten günümüze eczacılık, tıp ve kozmetik sektörlerinde kullanılmıştır (Ziaková vd., 2003). Geçmişte *Lamium* türlerinin idrar söktücü, prostat, menoraji ve felce karşı ve yatıştırıcı olarak kullanıldığı düşünülmektedir (Dulger, 2009; Raja, 2012). Ek olarak ailenin içerdiği bileşikler sayesinde yüksek oranda antioksidan ve antimikrobiyal özellik sergiledikleri bildirilmektedir (Salman vd., 2014).

1.2 Doğu Ballıbabası Türü

Wiedemannia orientalis Fisch. & Mey., Lamiaceae familyasının bir türü olup *Lamium orientalis* Fisch. & Mey. olarak da adlandırılmaktadır (Çali, 2017). *W. orientalis* Türkiye'de Doğu ballıbabası yada güzelce adıyla bilinir ve endemik tek yıllık, otsu bir türdür. Doğu ballıbabası ülkemizde Nisan-Mayıs-Haziran aylarında çiçeklenmeye başlar ve yaygın olarak eflatun renginde çiçek açar (URL-1, 2020). Yayılım olarak çok iyi güneş alan yol kenarı, tarla, kayalık kenarlar ve bozkır gibi alanlarda yetişirler (URL-2, 2020). Şekil 1.1' de Doğu ballıbabası bitkisinin görseline yer verilmiştir.



Şekil 1.1 Doğu ballıbabası bitkisinin görseli (URL-3, 2022)

1.2.1 Doğu Ballıbabası Türünün Fiziksel Özellikleri

Doğu ballıbabası 7 ile 35 cm arasında boylanır. Gövdesi tüylü, yaprakları alt kısımlarda saplı üst kısımlarda sapsızdır ve yaprak genişliği 16-50 x 5-30 mm boyutlarındadır. Yaprak kenarları dikdörtgen yapıda tırtıklı ve tüylü özelliktedir. Çanak kısımları olgun bir bitkide 8-14 mm ve taç kısımları 9-20 mm boyutlarındadır. Genellikle eflatun, açık mor ve pembe renklerde çiçek açar (URL-4, 2022).

1.2.2 Doğu Ballıbabası Türünün Fitokimyasal İçeriği

Literatürde Doğu ballıbabası'nın kimyasal içeriği hakkında kapsamlı bir veri bulunmamaktadır. Lamiaceae ailesine ait birkaç bitki türü üzerine yapılan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) çalışmalarına göre en baskın fenolik içeriğin rosmanirik asit olduğu bildirilmiştir (Ziaková vd., 2003). Doğu ballıbabasının toprak üstü kısımlarının beş flavanoid glikozit (apigenin 7-O- β -glukopiranosid, luteolin 5-O- β -glukopiranosid, isorhamnetin 3-O-rutinoside, quercetin 3-O-rutinoside ve apigenin 7-O-(600-O-trans-p-kumaroil) p-glukopiranosid), beş iridoid glikozit (lamiid, ipolamiid, ipolamiidoside, 6 β -hydroxyipolamiide ve 5-hydroxy-8-epi-loganin) ve feniletanoid glikozit adıyla bilinen aktesoid içerdiği bilinmektedir (Güvenalp vd., 2006).

Doğu ballıbabasının metanol ekstraktları ile yapılan başka bir HPLC uygulamasına göre bitkinin kimyasal içeriğinde 3-4 dihidroksi benzoik asit, ferulik asit, gallik asit, hesperidin, naringenin, 4-Hidroksi benzoik asit, kaempferol ile rutin + ellagic asit olduğu saptanmıştır. Fakat metanol ekstraktlarının ana bileşenlerinin yüksek oranda

rutin + ellagik asit içermesinin yanı sıra ikincil olarak kaempferol ve ferulik asitin de ana bileşen olduğu belirtilmiştir (Albayrak ve Aksoy,2013).

1.3 Kanser

Kanser, dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Kanser, ülkemizdeki ölüm nedenlerinin en yaygın ikinci sebebidir (Yılmaz vd., 2011). Kanselerin %10 ila %15'inin genetik kökenli olduğu, geriye kalan %85 ila %90'ının insanların hayatı boyunca canlı hücrelerdeki DNA'larının mutajenlere maruz kalarak değişikliğe uğraması ve replikasyon hatalarından oluştuğu düşünülmektedir. Kalıtım yolu ile ortaya çıkan kanser, çevresel etkilerle ortaya çıkan kansere göre çok daha az oranlarda görülür (Yokuş ve Çakır, 2012). Kanser oluşumuna neden olarak kalıtım ve çevresel faktörlerin yanısıra daha birçok faktör sayılabilir. Bunlar bakteriler, virüsler, radyasyon, beslenme alışkanlıkları ve kimyasallara maruz kalma şeklindedir (William GM, 2001).

Kanser oluşumu genellikle uzun süreli ve çok aşamalı bir süreç olup, bu süreçlerde genetik ve epigenetik değişikliklerin normal hücrelerin, kötü huylu, kontrolsüz gelişen, programlı hücre ölümü mekanizmaları bozulmuş hücrelere dönüşmesi ile gerçekleşir (Srancikova vd., 2013). Normal hücreler döngülerinde belirli bir büyüklüğe ulaştıklarında büyümeyi sonlandırarak homeostaziyi sağlarlar, fakat kanser hücrelerinde bu mekanizmanın çalışması için gerekli olan büyüme reseptörleri bozulur ve büyümeyi engelleyici faktörler reseptörlere bağlanamaz ve hücreler kontrolsüz olarak büyümeye devam eder. Sürekli büyüyen ve çoğalan kanser hücreleri vücutta ilerleyerek metastaz yapabilir (Dongre vd., 2021). Sürekli büyüme ve çoğalma gösteren kanser hücreleri çok fazla enerjiye ihtiyaç duyarlar. Bu sebeple kanser hücreleri glikozu aerobik ortamda laktata dönüştürmektedir. Kanser hücrelerinin glikozu laktata çevirmesi ise "Warburg Etkisi" olarak adlandırılır (Kısaçam ve Ozan, 2017). Warburg etkisi vücutta kontrolsüz enerji ve oksijen kaybına neden olduğundan sağlıklı hücreler apoptoza yönelir (Hannahan ve Weinberg, 2011). Kanser hücreleri birincil ve ikincil olarak veya iyi huylu (benign) ve kötü huylu (malign) olarak sınıflandırılabilir. Birincil kanser hücresi bulunduğu dokudan kaynaklanırken ikincil kanser hücresi bulunduğu dokudan farklı bir dokuda

ortaya çıkar. İyi huylu kanser hücresi bulunduğu doku dışına taşmazken kötü huylu kanser hücresi ise bulunduğu doku dışına yayılım gösterir. Kötü huylu kanser hücreleri genellikle öldürücüdür. Bu durum istisnalar dışında iyi huylu kanser hücreleri için geçerli değildir (Suat Alpaslan ve Gözlük Kırmızıoğlu, 2020). İyi huylu kanser hücrelerinin tedavisi cerrahi uygulamalar ve hedefe yönelik tedaviler ile gerçekleştirilirken, kötü huylu kanser hücrelerinin tedavisi kemoterapi, immünoterapi, hormon tedavisi ve biyolojik terapi gibi yöntemlerle gerçekleştirilir (Yalameha, 2018).

Dünyada her yıl yaklaşık olarak 14 milyon kişi için kanser tanısı konulmakta ve bu tanıların yaklaşık 8,2 milyonu ölümlerle sonuçlanmaktadır (Toğaçar ve Ergen, 2018). En yaygın görülen kanser çeşitleri sırasıyla meme kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri ve mide kanseridir (Sung vd., 2021). Türkiye'de ise bu sıralama 100 binde insidansla akciğer %30,1; prostat %24,3; deri %18,9; meme %18,0 ve mide %9,9 kanseri şeklindedir (Yılmaz vd., 2011). Dünyada yaşamı boyunca kanser hastalığına yakalanan insanların oranı şu şekildedir. Her beş erkekten biri ve her altı kadından biri kansere yakalanmakta bunlardan sekiz erkekte biri ve on bir kadından biri hayatını kaybetmektedir. Kanser nedeni ölümlerin sıklıkla erkeklerde akciğer, prostat ve kolon kanseri; kadınlarda ise akciğer, meme ve kolon kanseri olduğu bildirilmektedir (Siegel vd., 2016). Kansere tedavi olarak çeşitli kemoterapik ajanlar geliştirilmiştir. Bu ajanlardan bazıları hücre içi sinyal yolağını inhibe ederek veya DNA sentez ve tamir mekanizmasını inhibe ederek ya da mikrotübül oluşumunu engelleyip mitozu durdurarak etkinliğini gösterir (Horwitz., 1975).

1.3.1 Meme Kanseri

Meme kanseri dünyada en sık görülen ikinci, kadınlarda ise en yaygın görülen birinci kanser türüdür (Kothari vd., 2002; Mintzer vd., 2002). Bunun yanı sıra nadiren de olsa erkek bireylerde de görülebilmektedir (Aydıntuğ, 2004). Her on kadından birinin yaşamı boyunca meme kanserine yakalanma ve yakalananların da üçte birinin meme kanseri nedeni ile hayatını kaybetme risklerinin olduğu bildirilmektedir (Gölbaşı vd., 2010). Meme kanserine yakalanan ve uzak organ metastazı olmayan hastaların %70-

%80'i tedavi edilebilmektedir (Harbeck vd., 2019). Meme kanserinin gelişiminde birçok faktör rol oynamaktadır bunlar arasında çevresel faktör olarak sigara ve alkol kullanımı, genetik faktör olarak aile meme kanseri öyküsü ve fiziksel faktör olarak aşırı kilo ve yaş örneklendirilebilir (URL-5, 2021). Meme kanserine neden olan risk faktörlerinin bilinmesi ve kontrol altında tutulması, hastalığın önlenmesine ve hastalıktan korunmaya katkı sağlamaktadır (Feruzza, 2021).

Meme, yapısal olarak kadınlarda süt üretimini sağlayan farklılaşmış bir tez bezi olup dokusu yaş, ırk, genetik etkenler, gebelik ve menopoz gibi faktörlere bağlı olarak kişiden kişiye değişiklik göstermektedir (Sun vd., 2017). Meme kanseri, memenin içerisinde bulunan süt bezleri ve kanallarını oluşturan hücrelerin kontrolsüz biçimde çoğalıp çevresindeki dokulara yayılması ile ortaya çıkan bir hastalık olup, %70-%80 oranında süt kanallarında ve %20-%30 oranında ise aksiller lenf nodlarında ve lobüllerde görülmektedir (URL-6, 2021). Süt kanallarını kullanarak kanser hücreleri zamanla bağ doku içerisine geçebilir ve bu durumda diğer organlara metastaz yapabilirler, metastaz yapan kanser hücreleri tedavi edilmez ise süreç hastanın ölümü ile sonuçlanabilir (Aydıntuğ, 2004). Meme kanserinin farklı biyolojik tavırlar sergileyen temel alt tipleri vardır. Bunlar HER2, luminal A, luminal B, bazal benzeri ve normal benzeri olarak adlandırılır (Barnard vd. 2015; Eroğlu ve Çiçek, 2014). Bu alt tiplere göre kanser hücreleri farklılık gösterebilmekle birlikte farklı kanser hücreleri de aynı kansere sebep olabilmektedir. Meme kanseri ve tedavisine yönelik kemoterapik ilaçların geliştirilmesi için MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları sıklıkla tercih edilmektedir.

1.3.1.1 MDA-MB-231 hücre hattı

Meme kanseri MDA-MB-231 hücre hattı 17 Ekim 1973 tarihinde M. D. Anderson Cancer Center'da metastatik meme kanseri olan 51 yaşındaki bir hastanın plevral efüzyonundan izole edilerek büyütülmüştür (Cailleau vd., 1974). MDA-MB-231 hücre hattı meme kanserinin bazal alt tipinden olup, östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve E-kaderin yönünden negatif olup mutasyona uğramış p53 tümör proteinini eksprese eder. Ayrıca insan epidermal büyüme faktörü reseptörü (HER2) içermediğinden üçlü negatif meme kanseri (TNBC) modelini çok

iyi temsil etmektedir (Welsh, 2013). MDA-MB-231 hücre hattı *in vitro* ortam şartlarında yapışma özelliği gösterdiği için yeni ilaç denemelerinde sıklıkla tercih edilmektedir (Özkan ve ark., 2019).

1.3.1.2 MCF-7 hücre hattı

Meme kanseri MCF-7 hücre hattı 1970 tarihinde Dr. Soule ve arkadaşları tarafından metastatik kanseri olan 69 yaşındaki bir hastanın plevral efüzyonundan izole edilmiş ve hattın isimlendirilmesi, 1973 yılında Dr. Soule ve meslektaşları tarafından kurulan Michigan Kanser Vakfı (Michigan Cancer Foundation)'nın baş harflerinden türetilerek yapılmıştır (Soule vd., 1973). MCF-7 hücre hattı sahip oldukları östrojen reseptörleri ile östradiol formundaki östrojeni işleyebilirler bu özellikleri ile östrojen reseptörü (ER) pozitif hücre hattı olurlar ayrıca progesteron reseptörü pozitif ve HER2 negatiftir (Shirazi vd., 2011). Östrojen reseptörü pozitif olması MCF-7 hücre hattının hormonal tedaviye duyarlı hale getirmektedir (Young vd., 2018). MCF-7, MDA-MB-231 gibi diğer meme kanseri hücre hatlarına oranla daha az oranda metastaz yapma potansiyeline sahiptir ve az oranda invazivliği nedeniyle zayıf agresif yapıdadır (Gest vd., 2013). Meme kanseri üzerine yapılan *in vitro* çalışmalarda MCF-7 sıklıkla tercih edilen bir hücre hattıdır.

1.4 Viyolasin İnhibisyon Mekanizması

Quorum sensing (QS) bakterilerin bir takım sinyal moleküllerini kullanarak birbirleriyle haberleştiği ve popülasyon yoğunluğuna bağlı olarak toplu fenotipik ve fizyolojik davranışlar sergilediği bir iletişim mekanizmasıdır (Zhou vd., 2020). Hücreler sinyal-yanıt sistemlerini kullanarak, popülasyon düzeyinde kendi davranışlarını düzenleyip çok hücreli organizma gibi davranabilirler (Yavuz, 2019). Bakteriler sinyal molekülleri ile bulunduğu popülasyondaki hücre sayısını algılayabilir, bu algıya göre kendi gen ekspresyonunu düzenleyebilir ve popülasyon düzeyinde türe özgü davranışlar sergileyebilirler (Henke ve Bassler, 2004). Her hücre için bu sinyal moleküllerinin farklı kimyasal molekülleri vardır. Gram negatif bakteriler *N*-açıl-homoserin lakton (AHL veya HSL) sinyal moleküllerini kullanırken Gram pozitifler genelde oligopeptidleri kullanırlar (Schauder ve Bassler, 2001;

Bassler, 1999). AHL sinyal molekülleri LuxI protein ailesine sahip olan bakterilerde sentezlenir ve hücre dışına salınır. Reseptöre bağlanan sinyal molekülü pigment, enzim, toksin, biyofilm vs. üretiminden veya oluşumundan sorumlu genlerin ekspresyonunu düzenler (McClellan vd., 1997).

Antibiyotikler 20. yüzyılın ortalarından itibaren bakteriyel hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. Ne yazık ki artan antibiyotik direnci günümüzde dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde tıp dünyasını zora sokmuştur. Antibiyotikler bakteriler üzerinde seçici baskıya neden olur. Antibiyotik kullanımından sonra duyarlı bakterilerin ortadan kalkması ile dirençli bakteriler popülasyona hakim olur. Bundan dolayı yeni antibiyotiklerin keşfedilmesi uzun vadeli bir çözüm üretmeyecektir. Bakteriyel enfeksiyonlar ile mücadelede antibiyotiklere ek olarak veya onlara alternatif yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bakterilerde QS mekanizmasının inhibisyonunun enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede bilim dünyasının kozunu güçlendireceği öngörülmektedir. İdeal bir QS inhibitörünün bakteri üreme ve gelişimini baskılamadan bakteriler arası iletişimi kesmesi ve neticesinde bakteriyel patogenezi inhibe etmesi beklenir (Williams 2007). Literatürde QS inhibitor özelliği bulunan birçok molekülün insan kullanımına uygun olmadığı bilinmektedir. Bundan dolayı güvenilir ve etkili QS inhibitörlerinin keşfedilmesi ve literatüre kazandırılması önem arz etmektedir (Tüfekci vd., 2020).

Chromobacterium violaceum ATCC 12472 ve *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 suşları test maddelerinin QS inhibitor etkinliğinin araştırılmasında yaygın olarak kullanılan biyoreportör suşlardır. *C. violaceum* doğada yaygın olarak bulunan bir Gram negatif bakteri türüdür. *C. violaceum* ATCC 12472 suşu uzun zincirli (C10-16)-AHL moleküllerini kullanarak viyolasin adı verilen mavi-mor bir pigment üretir. *P. aeruginosa* PAO1 suşu ise C4-AHL ve 3-oxo-C12-AHL sinyal moleküllerini kullanarak pigment, enzim, toksin üretirken biyofilm oluşumunu regüle eder (Kalia vd., 2015).

aeruginosa suşları uygun bir ortam olduğu takdirde canlı ve cansız yüzeylerde biyofilm tabakası oluşturabilir (Sauer vd., 2002; Stoodley vd., 2002).

Biyofilm, bakteri hücrelerinin canlı veya cansız yüzeylerde ekstraselüler bir polimerik matriks (EPS) yapısının içine gömülerek oluşturduğu mikrobiyal toplulukları ifade eder (Abee vd., 2011). Biyofilmlerin genellikle %10'u bakteri hücrelerinden, %90'nı matriksten oluşmaktadır (Flemming ve Wingender, 2010). Ayrıca biyofilm matriksi çok yüksek oranda su içerir çünkü çoğu EPS ortamdaki suyu tutar böylece sulu bir ortam oluşur (Or vd., 2007; Sutherland, 2001). Çoğu bakteri için EPS biyofilm oluşumunda çok önemli ve vazgeçilmezdir. Bunun nedeni mutant bakterilerin yani ekzopolisakkarit sentezlemeyen bakterilerin olgun biyofilmler oluşturamamasıdır (Danase vd., 2000; Watnik ve Kolter 1999). EPS'ler ekstraselüler polisakkaritler, biyofilm ile ilişkili proteinler-BAP, eDNA, lipitler ve amiloid yapılar gibi çeşitli biyopolimer maddeler içermektedirler. İçeriklerindeki bu yapılar nedeni ile DNaz, proteaz ve ekstraselüler polisakkariti parçalayan enzimler biyofilm oluşumunu engeller ve aynı zamanda çoktan oluşmuş olan biyofilm tabakalarını da dağıtır. Biyofilm oluşumu ve dağılımı oto-indükleyici 2 (AL-2) gibi QS sinyal molekülleri, D-aminoasitler ve *cis*-2-dekanoik asit gibi moleküllerin yardımıyla gerçekleştirilir (Abee vd., 2011). Biyofilm çalışmalarında sıklıkla tercih edilen *P. aeruginosa* PAO1 (Shih ve Huang, 2002) suşu için biyofilm oluşumu en az iki farklı AHL sinyal molekülünü kodlayan ve LasI ile RhII olarak tanımlanan QS sistemleri ile gerçekleşmektedir (De Kievit vd., 2001).

1.6 Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada Lamiaceae familyasına ait Doğu ballıbabası'nın kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından hazırlanan su ekstraktlarının MCF-7 ve MDA-MB-231 kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitelerinin, insan patojenlerini temsil eden referans bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktivitelerinin ve biyoreportör bakteri suşlarına karşı anti-quorum sensing (anti-QS) aktivitelerinin araştırılması ve ilaç hammaddesi olma potansiyelinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1 Materyaller

2.1.1 Bitki Materyali

Tez çalışmasında kullanılacak olan ekstraktların bitki örnekleri, 2019 yılında Konya arazisinde gerçekleştirilen çalışmalar ile toplanmıştır (Konya, Yazır Mahallesi, 1100 m). Toplanan bitki örneklerinin taksonomik tanımlanması, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY tarafından yapılmıştır.

Doğu ballıbabası bitkisinin örnekleri kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımları birbirlerinden ayrılarak gölgede kurumaya bırakılmış ve kuruduktan sonra örnekler değirmende toz haline getirilmiştir. Her bir kısım için su özütleri maserasyon tekniği kullanılarak çıkarılmıştır. Bu işlem için bitki örnekleri (5g), oda sıcaklığında (yaklaşık 25°C) 24 saat süresince 100 su ile ekstrakte edilmiştir. Daha sonra çözücüler rotary evaporatör kullanılarak buharlaştırıldı. Tüm ekstraktlar analize kadar +4°C’de saklanmıştır.

2.1.2 Kanser Hücre Hatları

Ekstraktlarının kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkinlikleri iki farklı meme kanseri hücre hattına karşı araştırılmıştır. Kullanılan hücre hatları, östrojen reseptörü pozitif olan ve alfa (ER α) özellik taşıyan MCF-7 ile östrojen reseptörü negatif olan ve invazif özelliği yüksek olan MDA-MB-231’dir. Bu hücre hatlarından MCF-7 Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü’nden, MDA-MB-231 Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü’nden temin edilmiştir.

2.1.3 Bakteri Suşları

Ekstraktların antibakteriyel etkinliği on adet Gram-negatif ve üç adet Gram-pozitif olmak üzere 13 referans bakteri suşuna karşı araştırılmıştır. Suşlar Kastamonu

Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Kullanılan bakteri suşları Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1 Çalışmada kullanılan bakteriyel suşları

Suş	Gram reaksiyonu
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gram-negatif basil
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13846	Gram-negatif basil
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Gram-negatif basil
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	Gram-negatif basil
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13440	Gram-negatif basil
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	Gram-negatif basil
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Gram-negatif basil
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Gram-negatif basil
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	Gram-negatif basil
<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472	Gram-negatif basil
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ATCC 19002	Gram-negatif kokobasil
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Gram-pozitif kok
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Gram-pozitif kok
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Gram-pozitif basil

2.1.4 Kimyasallar, Cihazlar ve Sarf Malzemeler

Çalışmada kullanılan cihazlar, kimyasallar ve sarf malzemeler Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü’nde bulunan Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı ile Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde bulunan Kanser Genetiği ve Biyoinformatik Laboratuvarı’nın alt yapısı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler Tablo 2.2’de, kimyasallar Tablo 2.3’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2 Çalışmada kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler

Numara	Ekipman Adı	Marka/Model
1	-20/4°C Buzdolabı	Arçelik/4552
2	-80 °C Derin dondurucu	Nuaire/Glacier-Nu 9668E
3	Buz makinası	Hoshizaki/Scotsman
4	Hassas terazi	Precise/XP220A
5	Saf su cihazı	Human Corporation Zeneer Power
6	Ultra saf su cihazı	Mpminipure/Dest-up
7	Vortex	Wise-Mix/VM-10
8	Çalkalamalı Kuru Blok Isıtıcı	Biosan/TSH-100
9	Çekerocak	Tezsan

Tablo 2.2' nin devamı

10	Sınıf II Biyogüvenlik Kabini	Tezsan/ClassII
11	Test Kabini	Nüve/TK-252
12	CO ₂ İnkübatörü	Nüve/EC160
13	Isı Kontrollü İnkübatör	Thermo
14	Otoklav	Nüve/Steam Art
15	Masaüstü Santrifüj	Nüve/NF 800
16	Mikrosantrifüj	Starlab
17	Soğutmalı Mikrosantrifüj	Hettich/MICRO 220R
18	Faz Kontrast Görüntüleme Sistemli Kameralı Ters Mikroskop	Leica/DMi1
19	Spektrofotometre Nano Drop	Thermo Scientific/MulskanGO UV/Vis
20	Mcfarland Densitometer Cihazı	Biosan/DEN-1B
21	Kimyasal Saklama Dolabı	Tezsan
22	96 Kuyucuklu Mikropleytlar	Techno Plastic Products
23	Steril Besiyeri Kapları (90mm çaplı)	Isolab
24	Falkon Tüpler	Isolab, Kırgen, CAPP
25	Hücre Sıyrıcı	Techno Plastic Products
26	Eppendorf Tüpler (Cryotüp)	Isolab
27	Serolojik Pipetler	Biologix
28	Mikropipetler (tek ve çok kanallı)	Eppendorf, Thermo, CAPP, Topscien
29	Tek kullanımlık plastik özeler	Isolab
30	pH gösterge sribi	Isolab
31	Thoma Lamı	Marienfeld-Neubauer-improved
32	Pamuklu eküvyon	Cultiplast/LP Italiana spa

Tablo 2.3 Çalışmada kullanılan kimyasallar

Numara	Kimyasal Adı	Üretici Firma
1	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid (MTT)	Thermo Fisher Scientific
2	Penisilin/Streptomisin karışımı (%0,1)	Thermo Fisher
3	İnsülin (0.01 mg/ml)	Pan Biotech
4	Dimetilsülfoksit (DMSO)	Rjedel-de Haen
5	Fosfat Tampolu Tuz Çözeltisi (PBS)	Gibco, Thermo Fisher Scientific

Tablo 2.3 'ün devamı

6	Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM)	Gibco, Thermo Fisher Scientific
7	Non-Esansiyel Amino Asit (NEAA)	Pan Biotech
8	Tripsin-EDTA	Gibco, Thermo Fisher Scientific
9	Fetal Bovine Serum (FBS)	Gibco, Thermo Fisher Scientific
11	Levofloksasin	Tokyo Chemical Industry
12	Kristal viyole	Merck/ Germany
13	Etanol (EtOH)	-
14	Serum Fizyolojik (Sodyum klorür)	-
15	Mueller Hinton agar (MHA)	Merck
16	Mueller Hinton broth (MHB)	Merck
17	Luria Bertani broth (LB)	NZYTEch, Lisbon, Portugal
19	Nutrient agar (NA)	Merck
20	Bakteriyolojik Agar (%0,5)	-

2.2 Metotlar

2.2.1 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Öncelikle ekstraktların ultra saf su içerisinde 10 mg/mL konsantrasyonunda ana stokları hazırlanmıştır. Hazırlanan stoklardan seri sulandırmalar yapılarak 5 mg/mL, 2,5 mg/mL, 1,25 mg/mL, 0,625 mg/mL, 0,312 mg/mL çalışma stokları elde edilmiştir. Hazırlanan konsantrasyonlar ve ana stoklar kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.2 Hücre Kültürü

Ekstraktların sitotoksik aktiviteleri MDA-MB-231 ve MCF-7 meme hücre hatları üzerine araştırılmıştır. Sitotoksik aktivitenin tespiti için MTT metodu (Mitokondriyal Dehidrojenaz Enzim Aktivitesi) uygulanmıştır.

2.2.2.1 Hücre kültürünün devamlılığı

MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatlarının kültürü için %10 FBS, %1 penisilin/streptomisin, %1 NEAA (Non-essential aminoasit), %0,01 mg/mL human insülin içeren 1X DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) besiyeri hazırlanmış ve 4°C'de muhafaza edilmiştir. MDA-MB-231 ve MCF-7 hücreleri 90 mm çaplı hücre kültür plakasında 37°C ve %5 CO₂'de koşullarını sağlayan bir etüvde inkübe edilmiştir. Logaritmik faza ulaşan hücreler (petri kabının %70-80'lik yüzeyini kaplayınca) pasajlanıp yeni kültür kaplarına aktarılmıştır. Pasajlama işleminde petrilere besiyeri dökülmüş ve hücreler 1 mL hacminde 1X konsantrasyonundaki PBS ile yıkandıktan sonra 1 mL 1X tripsin-EDTA solüsyonu ile etüv içerisinde 5 dk muamele edilmiştir. İnkübasyon sonrası tripsin-EDTA'nın aktivitesini durdurmak için hücrelerin üzerine 1 mL DMEM besiyeri eklenmiş ve hücre sıyracı yardımıyla hücreler petri kabından toplanmıştır. Toplanan hücreler 15 mL'lik falkon tüp içerisine alınmış ve 5 dk süresince 2000 rpm'de çöktürülmüştür. Santrifüj sonrası çıkan üst faz aspire edilerek uzaklaştırılmıştır. Pelet taze DMEM besiyeri ile süspansiyon edildikten sonra hücreler 8 mL DMEM besiyeri içeren yeni petrilere ve/veya MTT deneyleri için sayım gerçekleştirmek üzere bir hemasitometreye aktarılmıştır. Hemasitometre ile mililitredeki hücre sayısı hesaplandıktan sonra süspansiyondan 100'er µL alınarak 10.000 hücre/kuyucuk olacak şekilde 96-kuyucuklu plakaya aktarılmıştır. Hücre pasajı yukarıda anlatıldığı gibi periyodik olarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.2 Hücre canlılık testi (MTT) ve IC₅₀ değerlerinin tespit edilmesi

Hemositometri ile sayımı gerçekleştirilip 96-kuyucuklu plakanın kuyucuklarına aktarılan hücreler logaritmik faza ulaşana kadar (~24 saat) inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası hücreler son konsantrasyonları 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL ve 31,25 µg/mL olacak şekilde ekstraktlar ile muamele edilmiştir. Bu konsantrasyonları sağlamak için ekstraktların yukarıda bahsedilen çalışma stoklarından 10'ar µL alınmış ve kuyucuklara inoküle edilmiştir. Kontrol

kuyucuklarına ise 10 µL hacminde ekstraktların çözücüsü olarak steril ultra distile su konulmuştur. Herbir konsantrasyon aynı plaka üzerinde üç kuyucukta test edilmiştir. Plakalar 24 ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Hücre canlılık tespiti için MTT solüsyonu (final hacmi 50 mL olacak şekilde 1X'lik DMEM içerisinde 2,5 mg MTT tozu tartılmış ve üzerine 250 µL FBS eklenmiştir) hazırlanmıştır. Yirmi dört ve 48 saat inkübasyon sonrası petriyerler inkübatörden çıkarılmış ve her konsantrasyon ve kontrol kuyucuğu için hücrelerin invert mikroskop (Leica, DMI1) altında (100x) fotoğraf çekimi yapıp ekstraktların hücreler üzerine etkisi incelenmiştir. Fotoğraf çekiminden sonra kuyucuklardaki besiyeri aspire edilmiş ve her kuyucuğa 100 µL MTT solüsyonu eklenmiştir. Ardından petriyerler ışık almayacak şekilde dört saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki MTT solüsyonu aspire edilmiş ve her kuyucuğa 100 µL saf DMSO konularak petriyerler oda sıcaklığında (~24°C) 300 rpm'de 15 dk çalkalamalı kuru blok ısıtıcı (BIOSAN)'da karıştırılmıştır. Bu şekilde kuyucuklardaki formazan kristallerinin çözünmesi sağlanmıştır. Ardından kuyucuklardaki absorbans değerleri blank (DMSO) kuyucuğuna karşı 570 nm'de okutulmuştur. Ekstraktlar ile muamele edilmiş kuyucuklardaki hücre canlılık değeri şu şekilde hesaplanmıştır: Ekstrakt ile muamele edilmiş absorbans değeri kontrol kuyucuğunun absorbans değerine bölünmüş ardından 100 ile çarpılmıştır. Bu şekilde hücrelerdeki canlılık oranı % olarak hesaplanmıştır. Hesaplama işleminin ardından GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) programı kullanılarak ekstraktların IC₅₀ değerleri (hücrelerin %50'sini öldüren ekstrakt konsantrasyonu) hesaplanmıştır.

2.2.3 Antibakteriyel Aktivite Deneyleri

Doğu ballıbabası bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek organlarından elde edilmiş su ekstraktlarının minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir (Wiegand vd., 2008). Deneyde referans antibiyotik olarak Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı etkili ve geniş spektrumlu bir antibiyotik olan levofloksasin kullanılmıştır. Bu deney için ekstraktların 5 mg/mL konsantrasyonundaki çalışma stokları kullanılmıştır. Deneyde 96-kuyucuklu plakanın ilk kuyucuklarına 180 µL, diğer kuyucuklara ise 100 µL hacminde Mueller Hinton Broth (MHB) konulmuştur. Ardından plakanın ilk kuyucuklarına ekstraktların

çalışma stoklarından 20 µL konularak 500 µg/mL nihai konsantrasyon sağlanmıştır. Sonra bu kuyucuktan 100 µL alınarak ardından gelen kuyucuğa aktarılmış ve bu şekilde 31,25 µg/mL son konsantrasyona ulaşana kadar iki katlı seri sulandırım işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Bakterilerin taze kültürlerinden bir dansitometre yardımı ile serum fizyolojik içerisinde McFarland 0,5 yoğunluğunda ($\sim 1,0 \times 10^8$ bakteri/mL) süspansiyonlar hazırlanmıştır. Ardından bu süspansiyon 10 kat sulandırılmış ($\sim 1,0 \times 10^7$ bakteri/mL) ve bu sulandırmadan ekstrakt içeren kuyucuklara 5 µL inoküle edilmiştir. Bu şekilde kuyucuklardaki bakteri konsantrasyonu $5,0 \times 10^5$ bakteri/mL'e ulaşmıştır.

plakada test edilen her bir ekstrakt için bir kuyucuk üreme kontrolü (ekstrakt içermeyen), bir kuyucuk sterilite kontrolü (bakteri içermeyen) olarak kullanılmıştır. Plaka steril bir kapak ile kapatıldıktan sonra atmosferik koşullarda ve 37°C'de 20 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından kuyucuklardaki üreme siyah zemin üzerinde çıplak göz ile değerlendirilmiştir. Bakteri üremesi olmayan ilk kuyucuktaki ekstrakt konsantrasyonu MİK değerini vermiştir.

2.2.4 Viyolasin İnhibisyon Deneyi

Ekstraktların viyolasin pigment üretimi üzerine inhibitor etkinlikleri *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 suşu üzerine yumuşak agar yöntemi ile araştırılmıştır (McClellan vd., 1997). *C. violaceum* Luria Bertani (LB, NZYTech, Lizbon, Portekiz) broth içerisinde 30°C ve 150 rpm'de 16 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından kültürden 50 µL alınarak 5 mL hacmindeki önceden eritilmiş LB agara (agar konsantrasyonu %0,5) inoküle edilmiş ve karıştırılmıştır. Ardından agar-kültür karışımı önceden hazırlanmış olan LB agar plaklarının üzerine dökülmüştür. Dökülen agar-kültür karışımı donduktan sonra besiyeri üzerine 6 mm çapında boş diskler yerleştirilmiştir. Yerleştirilen disklerden herbirine 5 mg/mL çalışma stoklarından 20 µL hacminde ekstrakt emdirilmiştir. Pozitif kontrol olarak aynı hacimde *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 suşunun taze kültür süpernatantı emdirilmiştir. Diskler kurduktan sonra kültür 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında disklerin çevresinde renksiz, opak bir zon

apının varlığı (viyolasin inhibisyonu) araştırılmıştır.

2.2.5 Biyofilm İnhibisyon Deneyi

Ekstraktların biyofilm inhibitör etkinlikleri *P. aeruginosa* PAO1 suşu üzerine kristal viyole yöntemi ile araştırılmıştır (O'Toole, 2011). Bu amaçla *P. aeruginosa* PAO1 suşu LB broth'da 37°C ve 150 rpm'de 16 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından kültür taze LB broth'da 100 kat sulandırılmıştır. Deney 96-kuyucuklu plakada gerçekleştirilmiş ve bir kuyucuk blank, üç kuyucuk kontrol kuyucuğu, üçer kuyucukta her bir ekstraktın tekrarı için kullanılmıştır. Blank kuyucuğuna bakteri içermeyen taze LB broth'dan 180 µL konulmuş ve üzerine 20 µL ultra saf su eklenmiştir. Kontrol kuyucuklarına ise 180 µL sulandırılmış kültürden konulmuş ve üzerine 20 µL ultra saf su eklenmiştir. Test kuyucuklarına ise 180 µL sulandırılmış kültürden konulmuş ve üzerine 5 mg/mL ve 10 mg/mL stok konsantrasyonlarından 20 µL (son konsantrasyon 500 µg/mL ve 1000 µg/mL) ekstrakt eklenmiştir. Plaka, steril kapağı ile kapatıldıktan sonra 37°C'de 24 saat stabil olarak inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında ekstraktların bakteri üreme ve gelişmesini baskılayıp baskılamadığını belirlemek için kuyucuklardaki bakteri konsantrasyonu spektrofotometre (Multiskan Go, Thermo Scientific, ABD) kullanılarak 600 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Ardından tüm kuyucuklardaki içerik tek hamlede ve dikkatli bir şekilde dökülerek uzaklaştırılmıştır. Ardışık üç kap içerisinde distile su (dH₂O) hazırlanmış ve plaka bu kaplara sırasıyla daldırılıp çıkartılarak yıkanmıştır. Bu işlem kuyucuklardaki planktonik hücrelerin uzaklaştırılması için yapılmıştır. Ardından plakanın tüm kuyucuklarına 200 µL hacminde %0,1'lik kristal viyole (Teknika, Kimyevi Madde ve Laboratuvar Malzemeleri, Ankara, Türkiye) solüsyonundan 200 µL konulmuş ve 5 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda fazla boyayı uzaklaştırmak için plaka yukarıda anlatıldığı gibi yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Kuyucukların tamamı kurutulduktan sonra her kuyucuğa 100 µL hacminde saf etanol eklenmiş ve kristal viyole boyası dikkatli bir şekilde çözülmüştür. Ardından kuyucuklardaki absorbans değeri blank kuyucuğu olan etanole karşı 570 nm dalga boyunda okutulmuştur. Ekstraktlar ile muamele edilmiş kuyucuklardaki biyofilm değeri şu şekilde hesaplanmıştır: Ekstrakt ile muamele edilmiş absorbans değeri, kontrol kuyucuğunun absorbans değerine bölünmüş

ardından 100 ile çarpılmıştır. Bu şekilde kuyucuklardaki biyofilm oranı % cinsinden belirlenmiştir.

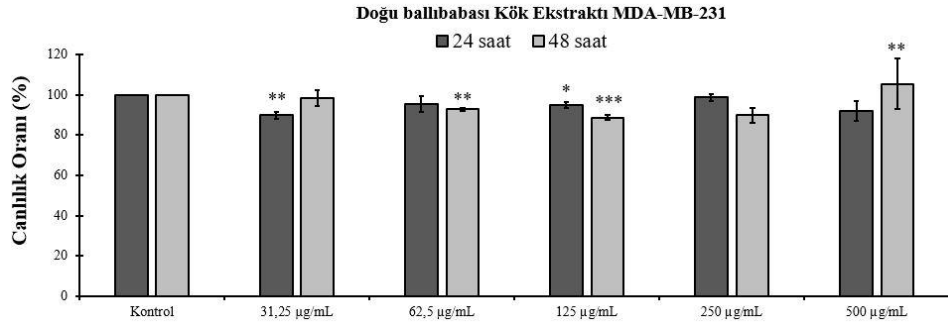
2.2.6. İstatistiksel Analiz

Deneyleer birbirinden bağımsız en az üç kez tekrarlanmıştır. Biyofilm inhibisyon testine ait veriler ortalama±standart sapma, MTT deneyine ait veriler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir. Grafiklerin oluşturulmasında Microsoft Office Excel 2016 programı kullanılmıştır. Verilerin istatistiksel analizi Windows tabanlı IBM SPSS 23. paket (IBM, Armonk, NY, ABD) ve Excel 2016 kullanılarak bağımsız grup t-testi ile yapılmış ve istatistiksel anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

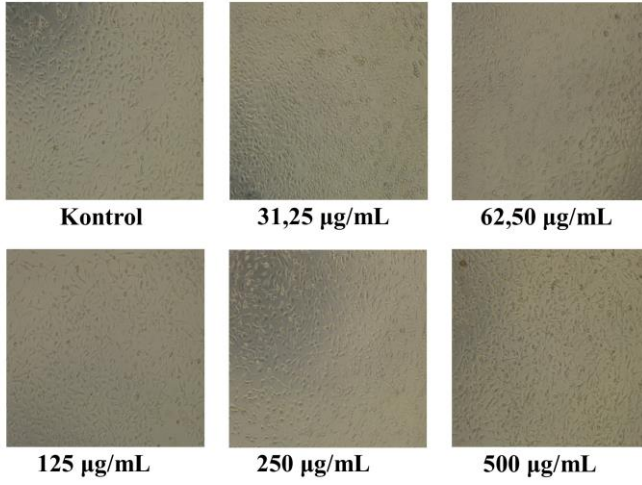
3.1 Doğu Ballıbabası Bitkisi Su Ekstraktlarının Meme Kanseri Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik Etkisi

Doğu ballıbabası bitkisinin kök ekstraktının MDA-MB-231 hücre hattına karşı 24. ve 48. saatteki etkisi incelendiğinde, 24 saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL’da %91,8 olduğu, 31,25 µg/mL konsantrasyonunda ise %89,9 olduğu saptanmıştır. Kırk sekiz saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL konsantrasyonunda %105,5, 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %98,4 olduğu belirlenmiştir. Yirmi dört saatlik muamele sonrasında en düşük canlılık oranı %89,9 (31,25 µg/mL), 48 saatlik muamele sonrasında %88,7 (125 µg/mL) olarak tespit edilmiştir. Kök ekstraktının çalışılan konsantrasyonlarında IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. Hücre canlılık oranları Grafik 3.1’de, hücre görselleri Şekil 3.1’de gösterilmiştir.

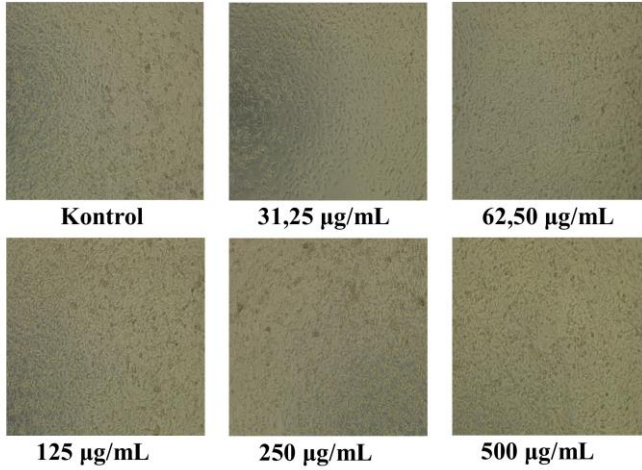


Grafik 3.1 Doğu ballıbabası kök ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir (* p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001)

Doğu ballıbabası Kök su ekstraktı 24. saat MDA-MB-231

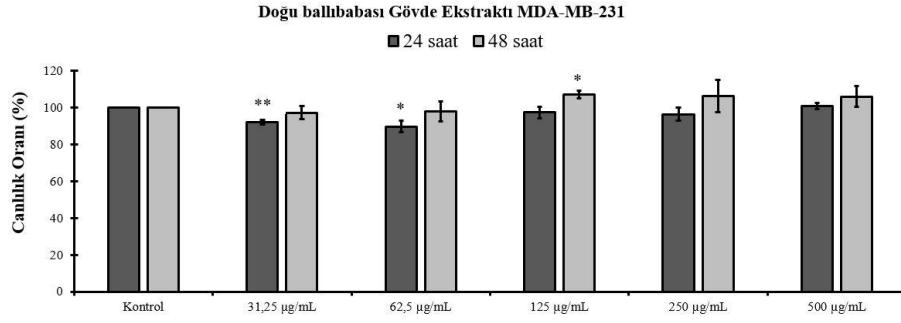


Doğu ballıbabası Kök su ekstraktı 48. saat MDA-MB-231



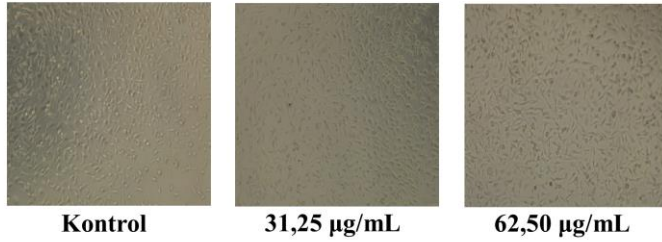
Şekil 3.1 Doğu ballıbabası kök ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine etkileri

Gövde ekstraktının MDA-MB-231 hücre hattına karşı 24 ve 48 saatteki etkisi incelendiğinde, 24 saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL’da %100,8; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %92,2 olduğu saptanmıştır. Kırk sekiz saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL konsantrasyonunda %106,1; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %97,3 olduğu belirlenmiştir. Yirmi dört saatlik muamele sonrasında en düşük canlılık oranı %89,9 (62,5 µg/mL), kırk sekiz saatlik muamele sonrasında %97,3 (31,25 µg/mL) olarak tespit edilmiştir. Gövde ekstraktının çalışılan konsantrasyonlarda IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. Hücre canlılık oranları Grafik 3.2’de, hücre görselleri Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

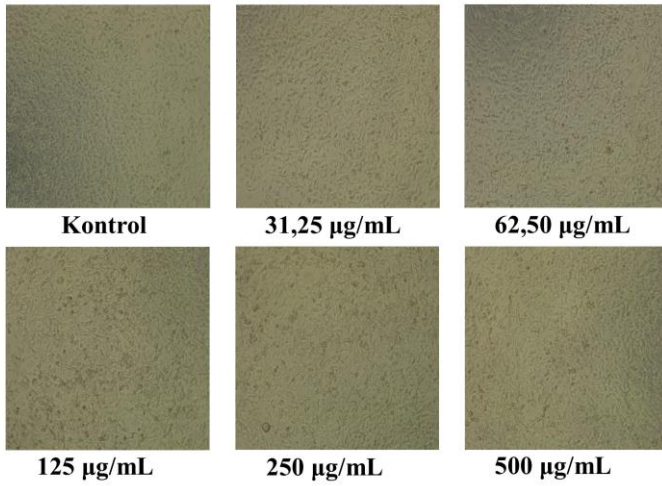


Grafik 3.2 Doğu ballıbabası gövde ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (*p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001)

Doğu ballıbabası Gövde su ekstraktı 24. saat MDA-MB-231

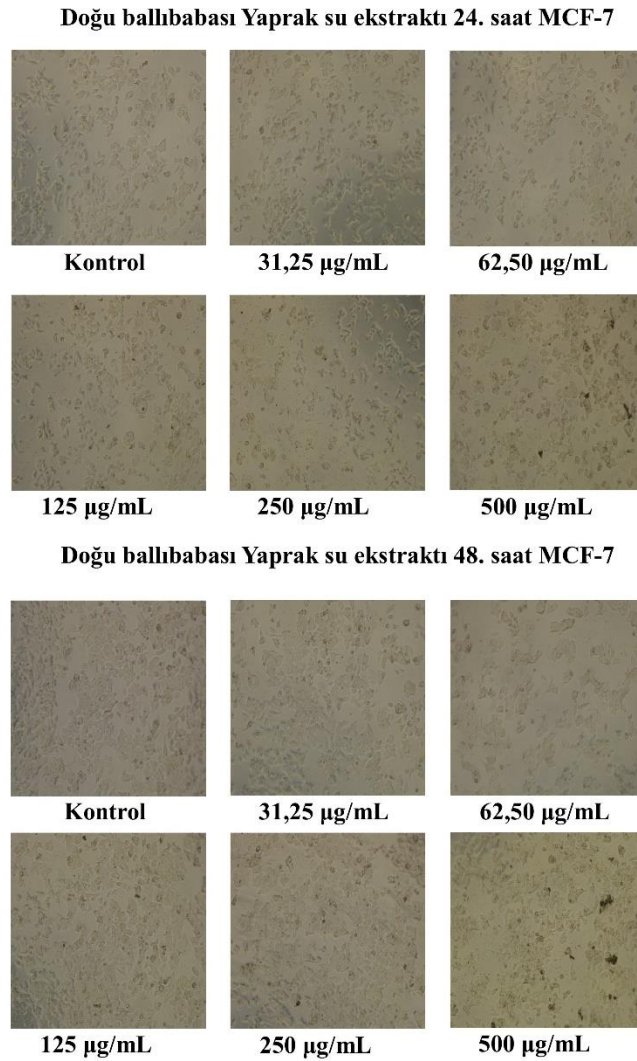


Doğu ballıbabası Gövde su ekstraktı 48. saat MDA-MB-231

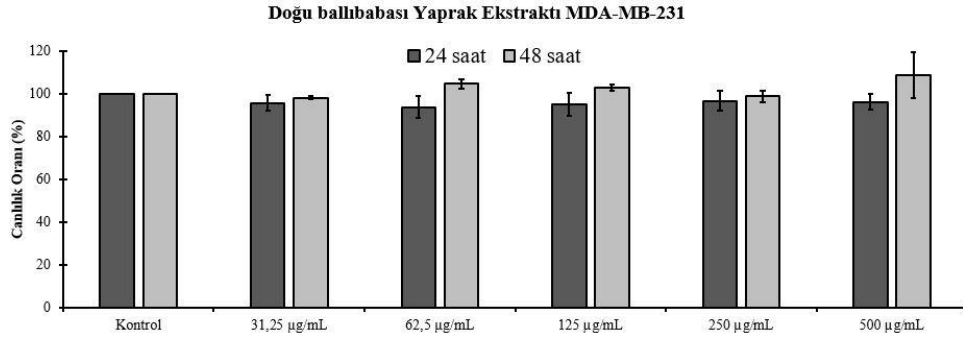


Şekil 3.2 Doğu ballıbabası gövde ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine etkileri

Yaprak ekstraktının MDA-MB-231 hücre hattına karşı 24 ve 48 saatteki etkisi incelendiğinde, 24 saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL’da %96,2; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %95,6 olduğu saptanmıştır. Kırk sekiz saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL konsantrasyonunda %108,7; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %98,1 olduğu belirlenmiştir. Yirmi dört saatlik muamele sonrasında en düşük canlılık oranı %93,8 (62,5 µg/mL), kırk sekiz saatlik muamele sonrasında %98,1 (31,25 µg/mL) olarak tespit edilmiştir. Yaprak ekstraktının çalışılan konsantrasyonlarında IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. Hücre canlılık oranları Grafik 3.3’de, hücre görselleri Şekil 3.3’de gösterilmiştir.

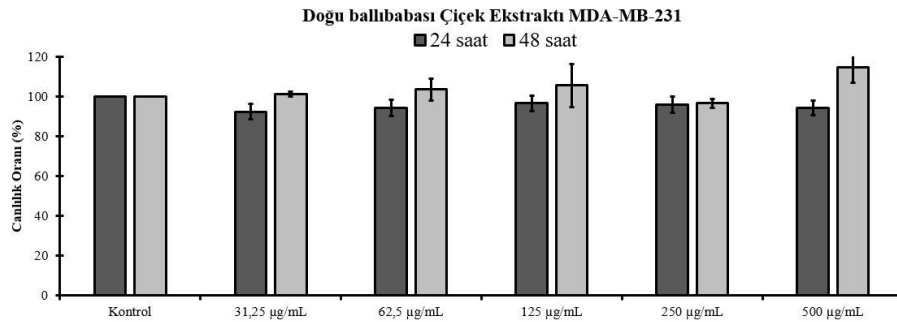


Şekil 3.3 Doğu ballıbabası yaprak ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine etkileri



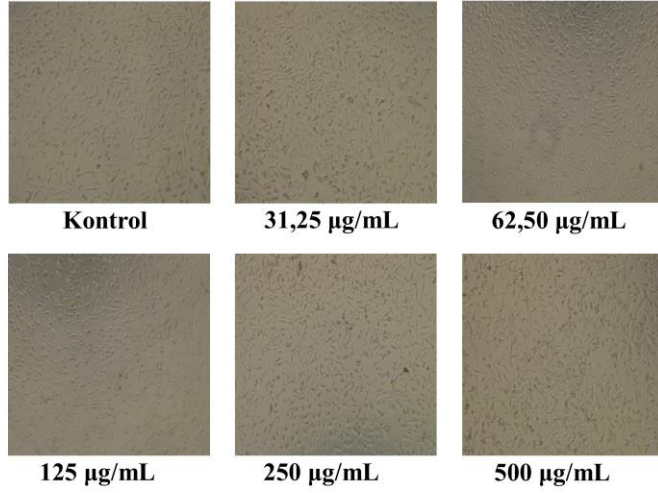
Grafik 3.3 Doğu ballıbabası yaprak ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

Çiçek ekstraktının MDA-MB-231 hücre hattına karşı 24 ve 48 saatteki etkisi incelendiğinde, 24 saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL'da %94,4; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %92,5 olduğu saptanmıştır. Kırk sekiz saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL konsantrasyonunda %114,6; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %101,3 olduğu belirlenmiştir. Yirmi dört saatlik muamele sonrasında en düşük canlılık oranı %92,5 (31,25 µg/mL), kırk sekiz saatlik muamele sonrasında %96,6 (250 µg/mL) olarak tespit edilmiştir. Çiçek ekstraktının çalışılan konsantrasyonlarında IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. Hücre canlılık oranları Grafik 3.4'de, hücre görselleri Şekil 3.4'de gösterilmiştir.

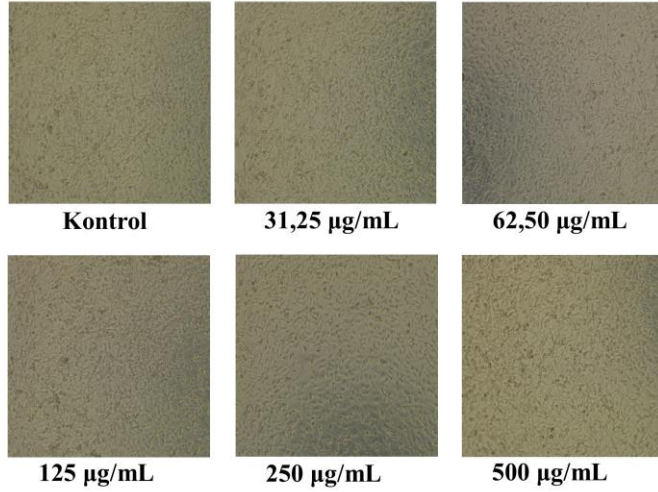


Grafik 3.4 Doğu ballıbabası çiçek ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

Doğu ballıbabası Çiçek su ekstraktı 24. saat MDA-MB-231



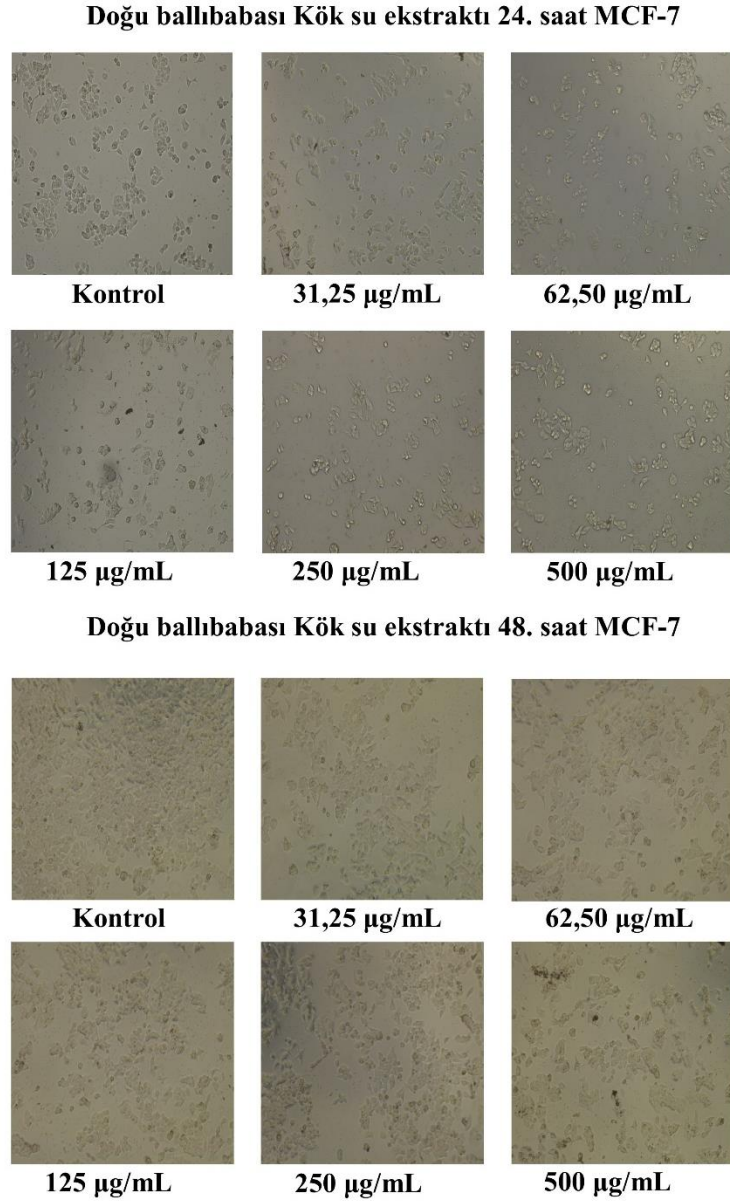
Doğu ballıbabası Çiçek su ekstraktı 48. saat MDA-MB-231



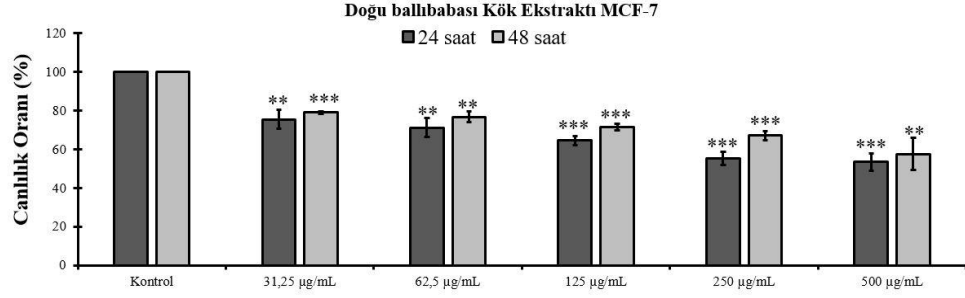
Şekil 3.4 Doğu ballıbabası çiçek ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MDA-MB-231 hücre hattı üzerine etkileri

Doğu ballıbabası bitkisinin kök ekstraktının MCF-7 hücre hattına karşı 24 ve 48 saatteki etkisi incelendiğinde, Yirmi dört saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL'da %53,4; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %75,6 olduğu saptanmıştır. Kırk sekiz saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL konsantrasyonunda %57,6; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %79,1 olduğu belirlenmiştir. Yirmi dört saatlik muamele sonrasında en düşük canlılık oranı %53,4 (500 µg/mL), kırk sekiz saatlik muamele sonrasında %57,6 (500 µg/mL) olarak tespit edilmiştir. Kök ekstraktının 24 saat sonunda IC₅₀ değeri 589,3 µg/mL, 48 saat sonunda 1325 µg/mL olarak tespit

edilmiştir. Uygulanan konsantrasyonlardaki hücre canlılık oranları Grafik 3.5’de, hücre görselleri Şekil 3.5’de gösterilmiştir.

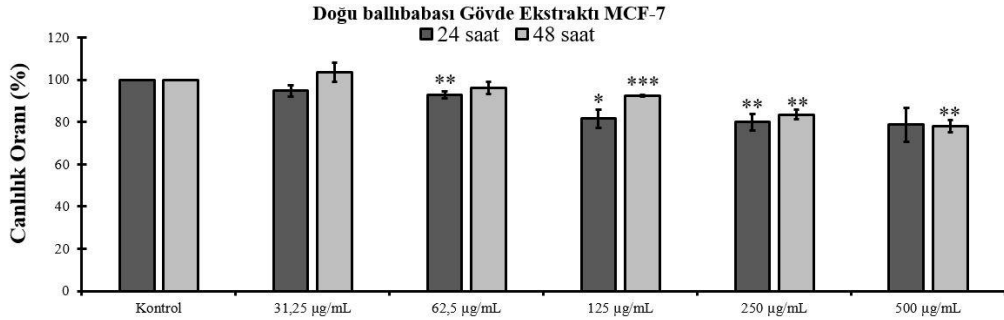


Şekil 3.5 Doğu ballıbabası kök ekstraktının MCF-7 hücre hattı üzerine üzerine 24. ve 48. saat sonunda hesaplanan IC₅₀ değerleri ve çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde hücre hattı üzerine etkisi

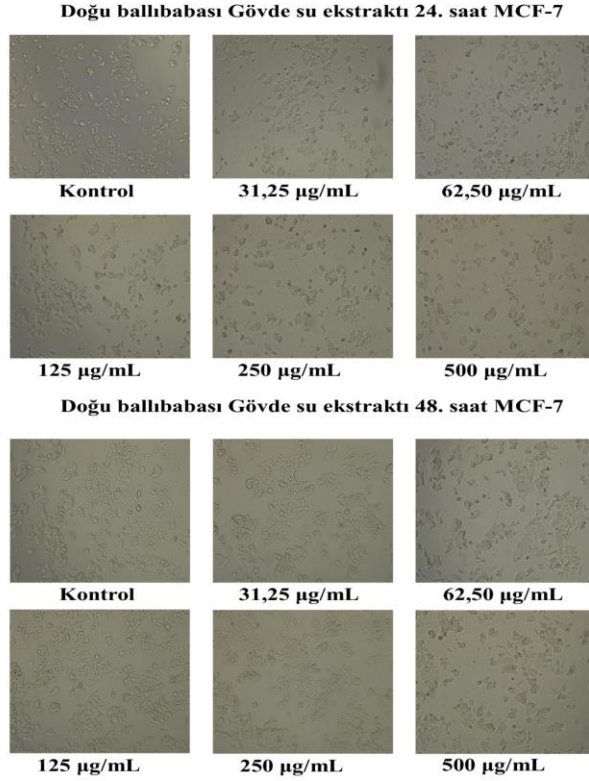
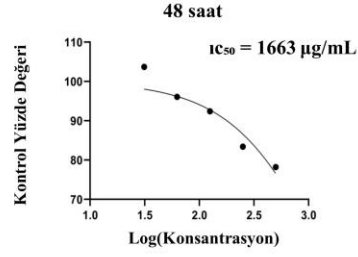


Grafik 3.5 Doğu ballıbabası kök ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

Gövde ekstraktının MCF-7 hücre hattına karşı 24 ve 48 saatteki etkisi incelendiğinde, yirmi dört saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL’da %78,8; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %94,9 olduğu saptanmıştır. Kırk sekiz saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL konsantrasyonunda %78,2; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %103,2 olduğu belirlenmiştir. Yirmi dört saatlik muamele sonrasında en düşük canlılık oranı %78,8 (500 µg/mL), kırk sekiz saatlik muamele sonrasında %78,2 (500 µg/mL) olarak tespit edilmiştir. Gövde ekstraktının 24 saat sonunda IC₅₀ değeri hesaplanamamış ancak 48 saat sonunda 1663 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Uygulanan konsantrasyonlardaki hücre canlılık oranları Grafik 3.6’de, hücre görselleri Şekil 3.6’de gösterilmiştir.



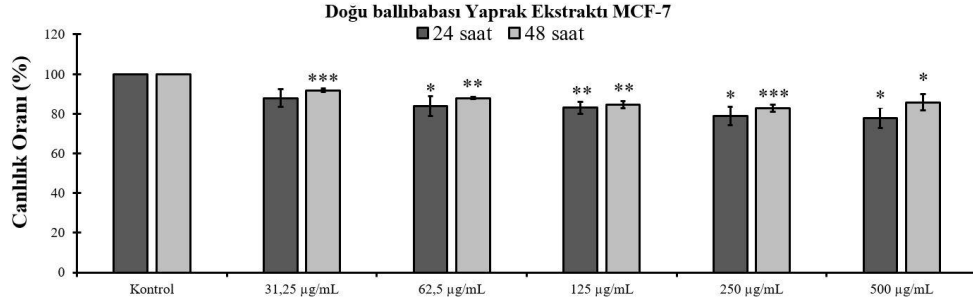
Grafik 3.6 Doğu ballıbabası gövde ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)



Şekil 3.6 Doğu ballıbabası gövde ekstraktının MCF-7 hücre hattı üzerine 48. saat sonunda hesaplanan IC₅₀ değerleri ve çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde hücre hattı üzerine etkileri

Yaprak ekstraktının MCF-7 hücre hattına karşı 24 ve 48 saatteki etkisi incelendiğinde, yirmi dört saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL'da %78,0; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %87,9 olduğu saptanmıştır. Kırk sekiz saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL konsantrasyonunda %85,7; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %95,7 olduğu belirlenmiştir. Yirmi dört saatlik muamele sonrasında en düşük canlılık oranı %78,0 (500 µg/mL), kırk sekiz saatlik muamele sonrasında %82,9 (250 µg/mL) olarak tespit edilmiştir. Yaprak ekstraktının çalışılan konsantrasyonlarında IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. Uygulanan

konsantrasyonlardaki hücre canlılık oranları Grafik 3.7’de, hücre görselleri Şekil 3.7’de gösterilmiştir.

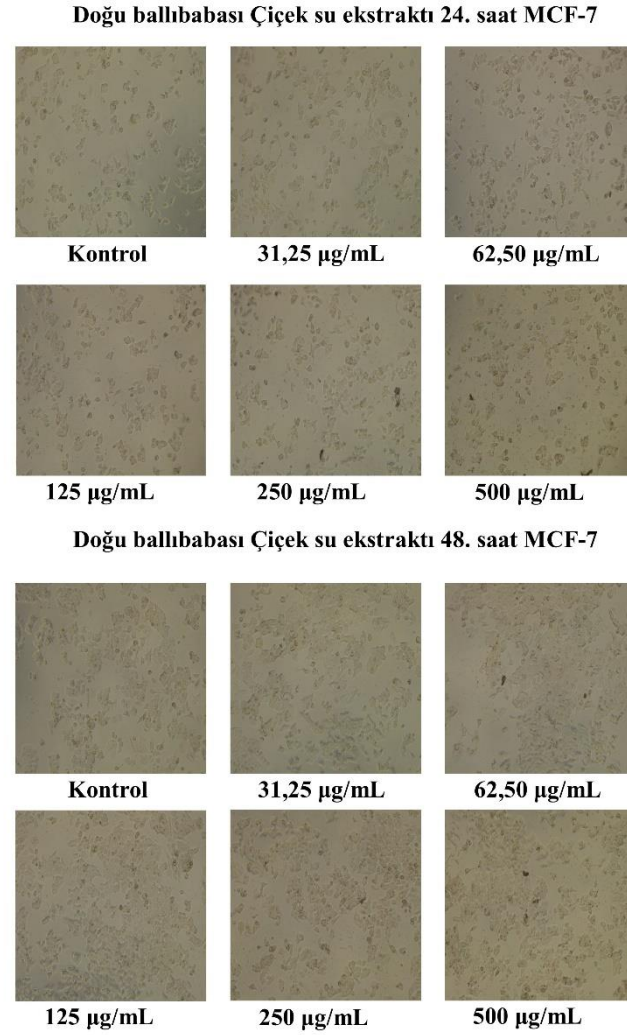


Grafik 3.7 Doğu ballıbabası yaprak ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (* $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$)

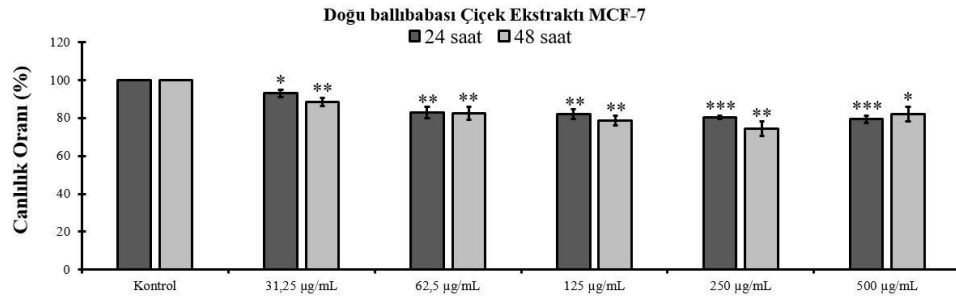


Şekil 3.7 Doğu ballıbabası yaprak ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine etkileri

Çiçek ekstraktının MCF-7 hücre hattına karşı 24 ve 48 saatteki etkisi incelendiğinde, yirmi dört saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL’da %79,3; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %92,9 olduğu saptanmıştır. Kırk sekiz saat sonunda hücre canlılık oranının 500 µg/mL konsantrasyonunda %82,1; 31,25 µg/mL konsantrasyonunda %88,5 olduğu belirlenmiştir. Yirmi dört saatlik muamele sonrasında en düşük canlılık oranı %79,3 (500 µg/mL), kırk sekiz saatlik muamele sonrasında %74,4 (250 µg/mL) olarak tespit edilmiştir. Çiçek ekstraktının çalışılan konsantrasyonlarında IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. Uygulanan konsantrasyonlardaki hücre canlılık oranları Grafik 3.8’de, hücre görselleri Şekil 3.8’de gösterilmiştir.



Şekil 3.8 Doğu ballıbabası çiçek ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine etkileri



Grafik 3.8 Doğu ballıbabası çiçek ekstraktının çeşitli konsantrasyonlarda ve zaman dilimlerinde MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

3.2 Doğu Ballıbabası Bitkisi Su Ekstraktlarının Bakteri Suşları Üzerine Antibakteriyel Etkinliği

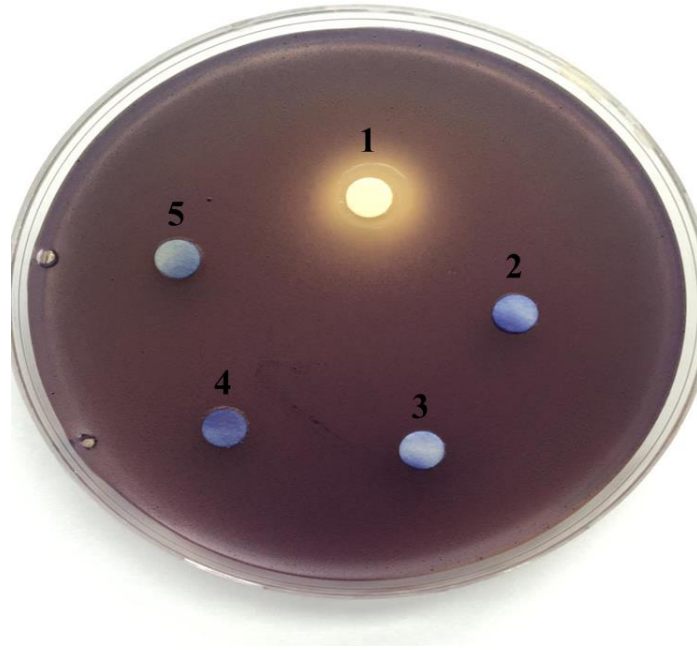
Ekstraktların antibakteriyel aktivitesi, 13 referans bakteri suşu üzerine mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Ancak ekstraktların çalışılan konsantrasyonlarda test edilen bakterilere karşı MİK değeri belirlememiştir (MİK > 500 µg/mL) (Tablo 3.1).

Tablo 3.1 Doğu ballıbabasının kök, gövde, yaprak ve su ekstraktlarının referans bakteri suşlarına karşı MİK değerleri

Bakteri Suşları	Su Ekstraktları (15,6-500 µg/mL)				Levofloksasin
	Kök	Gövde	Yaprak	Çiçek	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>500	>500	>500	>500	0,125
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13846	>500	>500	>500	>500	32
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	>500	>500	>500	>500	0,125
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	>500	>500	>500	>500	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13440	>500	>500	>500	>500	4
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 7002	>500	>500	>500	>500	1
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	>500	>500	>500	>500	1
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	>500	>500	>500	>500	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>500	>500	>500	>500	1
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ATCC 19002	>500	>500	>500	>500	0,125
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	>500	>500	>500	>500	8
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>500	>500	>500	>500	1
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	>500	>500	>500	>500	0,25

3.3 Doğu Ballıbabası Bitkisi Su Ekstraktlarının Viyolasin Pigment Üretimi Üzerine Etkileri

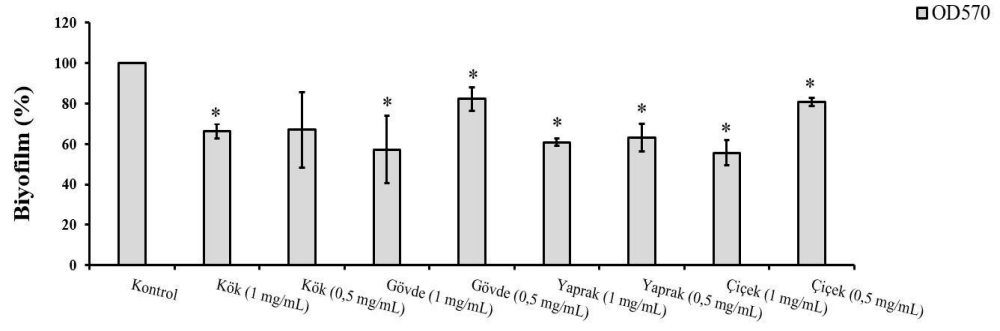
Doğu ballıbabası bitkisinden elde edilen kök, gövde, yaprak ve çiçek su ekstraktlarının QS inhibitör etkinlikleri *C. violaceum* ATCC 12472 biyoindikatör suşuna karşı yumuşak agar yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışılan konsantrasyonlarda ekstraktların viyolasin pigment üretimini inhibe etmedikleri saptanmıştır.



Şekil 3.9 Doğu ballıbabası bitkisinin *C. violaceum* ATCC 12472 suşunda viyolasin pigment üretimi üzerine etkisi (1: Pozitif kontrol, 2: Kök ekstraktı, 3: Gövde ekstraktı, 4: Yaprak ekstraktı, 5: Çiçek ekstraktı)

3.4 Doğu Ballıbabası Bitkisinin Su Ekstraktlarının Anti-biyofilm Aktivitesi

Doğu ballıbabası bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen su ekstraktlarının anti-biyofilm aktivitesi *P. aeruginosa* PAO1 suşu üzerine test edilmiştir. Ekstraktların test edilen konsantrasyonlarda (son konsantrasyon 500 µg/mL ve 1000 µg/mL) bakteri üremesi ve gelişmesini baskılamadığı tespit edilmiştir. Bunun yanısıra tüm ekstraktların biyofilm oluşumunu değişen oranlarda inhibe ettiği tespit edilmiştir (Grafik 3.9).



Grafik 3.9 Doğu ballıbabası ekstraktlarının *P. aeruginosa* PAO1 suşunda anti-biyofilm aktiviteleri. Veriler ortalama \pm SD olarak verilmiştir. * $p < 0.05$

Sonuçlar incelendiğinde kök ekstraktının 1000 $\mu\text{g/mL}$ ve 500 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında biyofilm oluşumunu sırasıyla %33,8 ve %33; gövde ekstraktının 1000 $\mu\text{g/mL}$ ve 500 $\mu\text{g/mL}$ 'de sırasıyla %42,8 ve %17,9; yaprak ekstraktının 1000 $\mu\text{g/mL}$ ve 500 $\mu\text{g/mL}$ 'de sırasıyla %39,2 ve %36,8; çiçek ekstraktının 1000 $\mu\text{g/mL}$ ve 500 $\mu\text{g/mL}$ 'de sırasıyla %44,5 ve %19,4 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir. En fazla etkinliğin çiçek ekstraktının 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda (%44,5) sağlandığı gözlenmiştir.

4. TARTIŞMA

Kanser hücrelerinin en belirgin özelliği normal hücrelerin aksine kontrolsüz olarak büyümeleri ve hücre döngülerinin normal işlevini görememesidir. Bu hücre döngülerinde yaşanan değişikliklerin genetik yatkınlık, kansorejen kimyasallara maruziyet, UV ve X ışınlarına maruziyet, tütün ürünü tüketiminin yanı sıra çevresel faktörler gibi çok geniş nedenleri vardır (Lapa vd., 2022). İmmun sistem kanserle savaşıyor. Ancak immün sistemin yetersiz kaldığı durumlarda ve semptomlar ortaya çıktığında medikal tedavi kaçınılmaz bir hal alır. Organizmada zarar gören hücreler apoptoz olarak ifade edilen programlı hücre ölüm yolu ile ortadan kaldırılır ancak kanser hücreleri apoptozu engeller (Savran vd., 2014). Bunun yanı sıra kanser tedavisinde en önemli sorun kanser hücrelerinin kemoterapötik ajanlara karşı duyarlılığını kaybedip direnç geliştirmesidir (Falasca ve Linton, 2012). Çok eski tarihlerden beri insanlar çeşitli hastalıkların tedavisinde bitkileri kullanmışlardır. Bundan dolayı bitkiler kanser ile mücadelede yeni kemoterapötik ajanların geliştirilmesine esas teşkil edebilir veya mevcut kemoterapötik ajanların etkinliğini artırabilir (Shoeb, 2006).

Sunulan bu tez çalışmasında Doğu ballıbabası bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından hazırlanan su ekstraktlarının MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları üzerine sitotoksik aktivitesi MTT yöntemi ile araştırılmıştır. MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerine en iyi sitotoksik aktivite bitkinin kök ekstraktının 500 µg/mL konsantrasyonunda ve 24 saat sonunda elde edilmiş ve canlılık oranı kontrole göre %53,4 olarak hesaplanmıştır. Yirmi dört ve kırk sekizinci saatler için hesaplanan canlılık oranları göz önüne alındığında bu çalışmada doza bağlı bir sitotoksik aktivitenin olduğu gözlenmiştir. MDA-MB-231 meme hücre hattı üzerinde ise tüm konsantrasyonlar ve zaman uygulamaları değerlendirildiğinde göze çarpan bir sitotoksik aktivite gözlenmemiş hatta canlılık oranlarının kontrole göre daha da arttığı (>%100) tespit edilmiştir.

Literatürde Lamiaceae üyelerinin kimyasal içerikleri hakkında yeterli veri bulunmamaktadır. Fakat bazı türlerin kimyasal içeriği çalışılmış ve türlerin

antioksidan özellik gösteren bileşiklere sahip olduğu gösterilmiştir. Doğu ballıbabasının kimyasal içeriğinde flavanoid, iridoid ve feniletanoid glikozitlerinin bulunduğu ve özellikle iridoid glikozitlerin antiinflamatuvar ve antiviral özellik sergilediği bildirilmektedir (Güvenalp vd., 2006). Flavonoidlerin farklı şekillerde kanser hücrelerine sitotoksik etki gösterdiği bilinmektedir. Örnek olarak flavonoidlerin ROS süpürücü enzim aktivitelerini modüle etmeleri, hücre döngüsünü durdurabilmeleri, nekroptozu uyarabilmeleri, kanser hücresi proliferasyonunu ve yayılımını baskılayabilmeleri ve apoptoz ile otofaji indüklemeleri verilebilir (Cinar vd., 2021; Kopustinskiene vd., 2020). Bilindiği kadarıyla literatürde Doğu ballıbabası türünün antikanser etkinliğini araştıran bir çalışma mevcut değildir. Bundan dolayı bu kısımda Lamiaceae ailesinin diğer üyeleri ile ilgili yapılmış sitotoksikite çalışmaları tartışılacaktır. Örneğin; *Lamium album* L. türünün metanol ve kloroform ekstraktlarının A549 akciğer kanser hücre hattı üzerine sitotoksik etki sergilediği bildirilmiştir (Moskova-Doumanova vd., 2012). Söz konusu çalışmada bitkinin hedef hücrelerin membran bütünlüğünü bozarak etkisini gösterdiği rapor edilmektedir. *L. album* ile yapılan başka bir çalışmada ise bitkinin metanol ve etil asetat ekstraktlarının sitotoksik aktivitesi insan fibroblast (HSF) hücrelerine karşı araştırılmış ve etil asetat ekstraktlarının sitotoksik aktivite sergilediği bildirilmiştir (Paduch vd., 2007). *Salvia triloba* L. ve *Salvia dominica* L. türlerinin etanol ekstraktlarının MCF-7 ve T47D meme kanseri hücre hatlarının üremesi önleyerek sitotoksik etki gösterdiği ifade edilmiştir (Abu-Dahab vd., 2014). Bir çalışmada Lamiaceae ailesine ait *S. dominica* türünün MCF-7 hücre hattı üzerine antiproliferatif etkisi araştırılmış ve potent etki sergilediği bildirilmiştir (Abu-Dahab ve Afifi, 2007). Stankovic vd.'nin (2011) yürüttüğü bir diğer çalışmada ise Lamiaceae ailesinde bulunan *Teucrium* türlerinin metanol ekstraktlarının HCT-116 kolon kanseri hücre hattı üzerine sitotoksik aktivite sergilediği rapor edilmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular Doğu ballıbabası türünün özellikle kök kısmının MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerine etkili bir sitotoksik aktivite sergilediğini göstermiştir. Gözlenen sitotoksik etkinin daha önceden belirtildiği gibi bitkinin içerdiği rutin + ellagik asit, kaempferol ve ferulik asit kimyasallarına bağlanabilir. Sitotoksik etkiyi araştıran çalışmalarda genellikle görülen etkinin bitki ana bileşenlerine ek olarak ikincil metabolit maddelerin varlığına bağlı olacağı düşünülür

(Evcimen ve Aslan, 2015). Bu yüzden Doğu ballıbabası bitkisinin tam olarak içeriğinin anlaşılması için yeni çalışmalar yapılmalı ve sitotoksik etkiye neden olan bileşenlerin neler olduğu açıklanmalıdır.

Çalışmamızda kullanılan on Gram negatif (*E. coli* ATCC 25922, *E. coli* NCTC 13846, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *K. pneumoniae* NCTC 13440, *P. mirabilis* ATCC 7002, *S. Typhimurium* ATCC 14028, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. aerogenes* ATCC 13048, *A. haemolyticus* ATCC 19002) ve üç Gram-pozitif (*E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633) referans bakteri suşu üzerine ekstraktların antimikrobiyal etkinliği araştırılmış ancak çalışılan konsantrasyonlarda MİK değeri saptanamamıştır.

Literatürde Lamiaceae ailesinde bulunan türlerin antimikrobiyal aktivite sergilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Antimikrobiyal aktivite sergileyen üyelerin daha önce de bahsedilen iridoid glikozit, flavonoid, fenolik, fenilpropanoid, polisakkarit, triterpen saponinler, taninler ve fitosterollere sahip oldukları gösterilmiştir (Berezina vd., 2000; Savchenko vd., 2001). Yalçın vd. (2007)'nin raporuna göre *Lamium* türleri bu içerikleri sayesinde yüksek düzeyde antioksidan ve antimikrobiyal özellikler göstermektedirler. Doğu ballıbabasının çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstraktı ile antibakteriyel etkinin incelendiği bir çalışmada *S. aureus* ATCC 29213 ve *K. pneumoniae* FMC 5 suşları üzerine etkinlik gösterdiği fakat *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. Typhimurium* NRRLE 4463 suşlarına karşı bir etki göstermediği bildirilmiştir (Albayrak ve Aksoy, 2013). *L. album* türünün metanol, kloroform ve su ekstraktlarının test edilen bakterilere karşı antibakteriyel aktivite sergilediği fakat mayalara karşı sadece su ekstraktlarının antifungal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Chipeva vd., 2013). Roussis vd. (1996)'nin *Lamium garganicum* ssp. *laevigatum* türü ile yaptığı bir çalışmada Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite görüldüğü raporlanmıştır. Söz konusu çalışmada bitkinin *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa*'ya karşı etkili antibakteriyel aktivite sergilediği bildirilmektedir. Lamiaceae familyası üyelerinden 23 bitki üzerinde yapılan bir çalışmaya görede tüm bitkiler için etanol ekstraktı hazırlanmış ve antibakteriyel etkiyi bazı bitkilerde yüksek, bazılarında düşük ve

bazılarında ise hiç göstermediği bildirilirken, ek olarak her bitki ekstraktının her bakteriye etkisinin olmadığı sonucunada erişilmiştir (Saraç ve Uğur, 2007). Bu bilgiler ışığında sunulan çalışmadaki negatif sonuçların literatürdeki sonuçlarla tutarlı olduğu görülmektedir.

Bitkilerin hasat zamanı, ekstraktların hazırlanış şekli, antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılan yöntem, çalışılan mikroorganizma türü ve ekstraktların test edilen konsantrasyonları antimikrobiyal aktivite sonuçlarını etkileyebilir. Bu tez çalışmasında kullanılan ekstraktların çalışılan bakteri suşlarına karşı MİK değerinin tespit edilememesi yukarıda yazılan nedenlerden birine bağlanabileceği gibi ekstraktların antibakteriyel bileşik içermemesine de bağlanabilir.

Bin dokuz yüz kırklı yıllarda başlayan antibiyotik çağı 20. yüzyılın ortalarından itibaren altın çağını yaşamıştır. Ancak özellikle 2000'li yıllardan sonra keşfedilen antibiyotik sayısının azalması ve buna paralel dirençli mikroorganizma sayısının artması enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede yeni antibakteriyellerin keşfi veya alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesini elzem kılmıştır. Bu nedenle yeni ve etkili antibakteriyel maddelerin keşfedilmesine ihtiyaç vardır. Bu maddelerin keşfedilmesi için doğal tıbbi bitkiler önemli bir kaynak olabilir. Bazı patojen bakterilerin bir takım virülans faktörlerini sentezleyebilmesi için QS mekanizmasını kullandığı keşfedildikten sonra QS inhibisyonu enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede alternatif bir antimikrobiyal hedef haline gelmiştir.

Biyofilm, bir yüzeye tutunarak ürettikleri polimerik yapılı jelsi bir tabakada yaşayan bakteri topluluğunu ifade edilmektedir (Leone vd., 2006). Enfeksiyon hastalıkları ve biyofilm oluşturan organizmalar arasında güçlü bir ilişki olup bu organizmalar özellikle kalp kapakçıklarının iltihabı ve periodontit gibi hastalıklara neden olmaktadır (Donlan ve Costerton, 2002). Antibiyotik direncinde biyofilm yapısının etkisi şu şekilde ifade edilebilir: Herhangi bir şekilde antibiyotiklere direnci olmayan bir mikroorganizmanın biyofilm oluşturması onu dirençli hale getirirken, biyofilmden ayrılması ise tekrar duyarlı hale getirir (Drenkard, 2003; Fux vd., 2005). Bu nedenle etkili ve yeni anti-biyofilm ajanlarının keşfedilmesi de enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede önem taşımaktadır (Ceylan, 2014; Kırca vd., 2007).

Doğu ballıbabası bitkisi için literatürde viyolasin ve biyofilm inhibisyonu üzerine bir çalışma bulunmamaktadır. Sunulan bu tez çalışması Doğu ballıbabası türünün kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından hazırlanan su ekstraktlarının viyolasin pigment üretiminin inhibisyonu ve anti-biyofilm özellikleri yönünden QS inhibitör etkinliğini araştıran ilk çalışmadır. Literatürde Lamiaceae ailesine ait bazı bitki türlerinin anti-biyofilm özelliğinin araştırıldığı birtakım çalışmalar bulunmaktadır. Örneğın; bir çalışmada *Marrubium vulgare* L.'nin kök kısmından hazırlanan etanol ekstraktlarının *S. auerus*'un biyofilm oluşumunu inhibe ettiği bildirilmektedir (Quave ve Smeltzer, 2009). Sunulan bu çalışmada ise ekstraktların viyolasin pigment üretimini inhibe etmediğı ancak biyofilm oluşumu üzerine inhibitör etkinliklerinin bulunduğı tespit edilmiştir. Test edilen *C. violaceum* ATCC 12472 suşu viyolasin pigment üretiminde uzun zincirli AHL moleküllerini kullanmakta idi. Bulgularımız ekstraktların bu sinyal molekülünün sentezini veya hedef reseptörüne bağlanmasını engelleyemediğini göstermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında Doğu ballıbabası türünün kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından hazırlanan su ekstraktlarının sitotoksik, antibakteriyel ve anti-QS (viyolasin pigment inhibisyonu ve anti-biyofilm) aktiviteleri araştırılmıştır. Bulgularımız bitkinin özellikle kök ekstraktının meme kanserine karşı kemoterapötik maddelerin geliştirilmesi adına önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca sonuçlar, antibakteriyel etkinlik gözlenmese de, ekstraktların iyi birer anti-biyofilm ajanı olabileceğini göstermiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulguların bu bitki türü üzerine yapılacak yeni araştırmalar için temel oluşturması beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- Abee, T., Kovács, Á. T., Kuipers, O. P., & Van der Veen, S. (2011). Biofilm formation and dispersal in Gram-positive bacteria. *Current opinion in biotechnology*, 22(2), 172-179.
- Abu-Dahab, R., Abdallah, M. R., Kasabri, V., Mhaidat, N. M., & Afifi, F. U. (2014). Mechanistic studies of antiproliferative effects of *Salvia triloba* and *Salvia dominica* (Lamiaceae) on breast cancer cell lines (MCF7 and T47D). *Zeitschrift für Naturforschung C*, 69(11-12), 443-451.
- Abu-Dahab, R., & Afifi, F. (2007). Antiproliferative activity of selected medicinal plants of Jordan against a breast adenocarcinoma cell line (MCF7). *Scientia Pharmaceutica*, 75(3), 121-146.
- Acıbuca, V., & Budak, D. B. (2018). Dünya’da ve Türkiye’de tıbbi ve aromatik bitkilerin yeri ve önemi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(1), 37-44.
- Akkoyunlu, A., & Dulger, G. (2019). Chemical composition of *Lamium purpureum* L. and determination of anticancer activity of its essential oil on melanoma. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(3), 1755-1763.
- Albayrak, S., & Aksoy, A. (2013). Biological activities of *Wiedemannia multifida* (Linnaeus) Benth and *Wiedemannia orientalis* Fisch. & Mey. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(3), 196-201.
- Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., ... & Stuppner, H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology advances*, 33(8), 1582-1614.
- Aydıntuğ, S. (2004). Meme kanserinde erken tanı. *Sted*, 13(6), 226-228.
- Barnard, M. E., Boeke, C. E., & Tamimi, R. M. (2015). Established breast cancer risk factors and risk of intrinsic tumor subtypes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1856(1), 73-85.
- Bassler, B. L. (1999). How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Current opinion in microbiology*, 2(6), 582-587.
- Baydar, H. (2007). Tıbbi, aromatik ve keyif bitkileri bilimi ve teknolojisi (Genişletilmiş II baskı). *Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi*, 51, 205-212.
- Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, İ. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları. *TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*, 11, 15.

- Bayramoğlu, M. M., Toksoy, D., & Ően, G. (2009). T¼rkiye’de Tıbbi Bitki Ticareti. Ormancılıkta Sosyo-Ekonomik Sorunlar Kongresi 19-21 Őubat 2009, S¼leyman Demirel Üniversitesi, Isparta.
- Baytop, T. (1999). T¼rkiyede bitkiler ile tedavi. *İstanbul Eczacılık Fak¼ltesi Yayınları, İstanbul, 444.*
- Berdowska I, Zieliński B, Fecka I, Kulbacka J, Saczko J, Gamian A. (2013). Cytotoxic impact of phenolics from Lamiaceae species on human breast cancer cells. *Food Chem.* 141(2): 1313–1321
- Berezina, V. S., Budantsev, A. L., & Teslov, L. S. (2000). Chemical composition of genus *Lamium* LSL species. *Rastitel’nye Resursy*, 36(3), 122-132.
- Cailleau, R., Mackay, B., Young, R. K., & Reeves Jr, W. J. (1974). Tissue culture studies on pleural effusions from breast carcinoma patients. *Cancer research*, 34(4), 801-809.
- Ceylan, O., Ugur, A., Sarac, N., & Sahin, M. D. (2014). The antimicrobial and antibiofilm activities of *Mentha x piperita* L. essential oil. *Journal of BioScience & Biotechnology.*
- Chen, X., & Stewart, P. S. (2000). Biofilm removal caused by chemical treatments. *Water research*, 34(17), 4229-4233.
- Chipeva, V. A., Petrova, D. C., Geneva, M. E., Dimitrova, M. A., Moncheva, P. A., & Kapchina-Toteva, V. M. (2013). Antimicrobial activity of extracts from in vivo and in vitro propagated *Lamium album* L. plants. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10(6), 559-562.
- Cinar, A. K., Ozal, S. A., Serttas, R., & Erdogan, S. (2021). Eupatilin attenuates TGF-β2-induced proliferation and epithelial-mesenchymal transition of retinal pigment epithelial cells. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 40(2), 103-114.
- Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2013). Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(6), 3670-3695.
- Costerton, J. W., Cheng, K. J., Geesey, G. G., Ladd, T. I., Nickel, J. C., Dasgupta, M., & Marrie, T. J. (1987). Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual Reviews in Microbiology*, 41(1), 435-464.
- Çalis, İ. Ö. (2017). Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Lamium orientale* (Lamiaceae). *Mod Phytomorphol*, 11, 15-9.
- Danese, P. N., Pratt, L. A., & Kolter, R. (2000). Exopolysaccharide production is required for development of *Escherichia coli* K-12 biofilm architecture. *Journal of bacteriology*, 182(12), 3593-3596.

- De Kievit, T. R., Gillis, R., Marx, S., Brown, C., & Iglewski, B. H. (2001). Quorum-sensing genes in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: their role and expression patterns. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(4), 1865-1873.
- Deveci, H. A., Nur, G., Kırpık, M., Harmanakaya, A., Yıldız, Y. (2016). Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1), 26-32.
- Dongre, A., Rashidian, M., Eaton, E. N., Reinhardt, F., Thiru, P., Zagorulya, M., ... & Weinberg, R. A. (2021). Direct and Indirect Regulators of Epithelial–Mesenchymal Transition–Mediated Immunosuppression in Breast Carcinomas EMT and Resistance to Checkpoint Blockade Immunotherapy. *Cancer discovery*, 11(5), 1286-1305.
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 167-193.
- Drenkard, E. (2003). Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes and infection*, 5(13), 1213-1219.
- Dulger, B. (2009). Antifungal activity of *Lamium tenuiflorum* against some medical yeast *Candida* and *Cryptococcus* species. *Pharmaceutical biology*, 47(5), 467-470.
- Eroğlu, A., & Çiçek, E. (2014). Meme kanserinde moleküler alt tiplere göre cerrahi tedavi yaklaşımları. *Yeni Tıp Dergisi*, 31(2), 83-87.
- Evcimen, M. & Aslan, R. (2015). Physiological Effects of Commonly Used Medicinal and Aromatic Plant's Antioxidant Phytochemicals. *Kocatepe Veterinary Journal*, 8 (2) , 65-78.
- Falasca, M., & Linton, K. J. (2012). Investigational ABC transporter inhibitors. *Expert opinion on investigational drugs*, 21(5), 657-666.
- Feruz, X. (2021). Current concepts of breast cancer risk factors. *International journal of philosophical studies and social sciences*, 1(3), 57-66.
- Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature reviews microbiology*, 8(9), 623-633.
- Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563-575.
- Fux, C. A., Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Stoodley, P. (2005). Survival strategies of infectious biofilms. *Trends in microbiology*, 13(1), 34-40.
- Gest, C., Joimel, U., Huang, L., Pritchard, L. L., Petit, A., Dulong, C., ... & Soria, C. (2013). Rac3 induces a molecular pathway triggering breast cancer cell

- aggressiveness: differences in MDA-MB-231 and MCF-7 breast cancer cell lines. *BMC cancer*, 13(1), 1-14.
- Gölbaşı, Z., Çetin, R., Kalkan, S., Durmuş, T. (2010). Üniversite öğrencisi kızların meme kanseri ve kendi kendine meme muayenesi ile ilgili bilgi ve davranışları. *Meme Sağlığı Dergisi*, 6(2), 69-73.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, 144(5), 646-674.
- Harbeck, N., Penault-Llorca, F., Cortes, J., Gnant, M., Houssami, N., Poortmans, P., ... & Tsang, J. F. (2019). Cardoso. *Breast cancer. Nat. Rev. Dis. Primers*, 5, 66.
- Henke, J. M., & Bassler, B. L. (2004). Bacterial social engagements. *Trends in cell biology*, 14(11), 648-656.
- Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A., Seberg, O., Heenan, P. Flowering Plant Families of the World Flowering Plant Families of the World.
- Hortaç, E., Kaleli, G., Çökeliler, D., Yavuzdemir, Ş., Mutlu, M., Ekici, M. D., Göçmen, J. S. Investigation of Biofilm Formation of ESBL Positive Uropathogenic *Escherichia coli* Isolates on (Microplate) Surfaces Modified with Plasma Polymerization Technique and Nanomaterials: An Experimental Model.
- Horwitz, K. B., Costlow, M. E., & McGuire, W. L. (1975). MCF-7: A human breast cancer cell line with estrogen, androgen, progesterone, and glucocorticoid receptors. *Steroids*, 26(6), 785-795.
- Huang, W. Y., Cai, Y. Z., & Zhang, Y. (2009). Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *Nutrition and cancer*, 62(1), 1-20.
- Kalia, M., Yadav, V. K., Singh, P. K., Sharma, D., Pandey, H., Narvi, S. S., & Agarwal, V. (2015). Effect of cinnamon oil on quorum sensing-controlled virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS one*, 10(8), e0135495.
- Kırca, A., Bilişli, A., Demirel, N. N., Turhan, H., & Arslan, E. (2007). Çanakkale florasındaki bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri. *Tübitak Proje*, (104)
- Kısaçam, M. A., & Temizer Ozan, P. S. (2019). Kanser hücrelerinin metabolik ihtiyaçları ve bağımlılıkları. *FÜ Sağ. Bil. Vet. Derg.*, 31(1), 67-72.
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*, 12(2), 457.
- Kothari, A. S., Beechey-Newman, N., D'Arrigo, C., Hanby, A. M., Ryder, K., Hamed, H., & Fentiman, I. S. (2002). Breast carcinoma in women age 25 years or less. *Cancer*, 94(3), 606-614.

- Lapa, M. R., Kırbaş, O. K., Bozkurt, B. T., Taşlı, P. N., Avcı, K., Sahin, F. (2017). *Vaccinium myrtillus* (Yaban Mersini) kaynaklı Eksozomların İnsan Akciğer Karsinomu (A549 hücre hattı) Üzerine Sitotoksik Etkilerinin MTT testi ile Araştırılması.
- Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Di Donato, A., & Parrilli, M. (2006). The biofilm matrix of *Pseudomonas* sp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides. *Carbohydrate research*, 341(14), 2456-2461.
- Martin, A. 2016. A Microbial Paradise | scienceandfooducla. Retrieved November 13, 2017, from <https://scienceandfooducla.wordpress.com/2016/04/26/gutopia-amicrobial-paradise/>
- McClellan, K. H., Winson, M. K., Fish, L., Taylor, A., Chhabra, S. R., Camara, M., ... & Williams, P. (1997). Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acylhomoserine lactones. *Microbiology*, 143(12), 3703-3711.
- Mintzer, D., Glassburn, J., Mason, B. A., & Sataloff, D. (2002). Breast cancer in the very young patient: a multidisciplinary case presentation. *The Oncologist*, 7(6), 547-554.
- Morrey, C.B. 2013. The Fundamentals of Bacteriology, by Charles Bradfield Morrey — A Project Gutenberg eBook.
- Moskova-Doumanova, V., Miteva, G., Dimitrova, M., Topouzova-Hristova, T., & Kapchina, V. (2012). Methanol and chloroform extracts from *Lamium album* L. affect cell properties of A549 cancer lung cell line. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 26(sup1), 120-125.
- Yavuz, M. (2019). Canlılık ve Canlılıkbilimi Üzerine Yeni Bir Değerlendirme. *Kutadgubilig Felsefe-Bilim Araştırmaları*, 40.
- Neergheen, V. S., Bahorun, T., Taylor, E. W., Jen, L. S., & Aruoma, O. I. (2010). Targeting specific cell signaling transduction pathways by dietary and medicinal phytochemicals in cancer chemoprevention. *Toxicology*, 278(2), 229-241.
- Or, D., Phutane, S., & Dechesne, A. (2007). Extracellular polymeric substances affecting pore-scale hydrologic conditions for bacterial activity in unsaturated soils. *Vadose Zone Journal*, 6(2), 298-305.
- Osés, S. M., Pascual-Maté, A., Fernández-Muiño, M. A., López-Díaz, T. M., & Sancho, M. T. (2016). Bioactive properties of honey with propolis. *Food chemistry*, 196, 1215-1223.
- O'Toole G. A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (47), 2437.

- Güvenalp, Z., Özbek, H., Ünsalar, T., Kazaz, C., & Demirezer, L. (2006). Iridoid, flavonoid, and phenylethanoid glycosides from *Wiedemannia orientalis*. *Turkish Journal of Chemistry*, 30(3), 391-400.
- Özkan, O., Özbey, C., Aydemir, I., Sari, İ., Dönmez, G., Kırık, F. E., ... & Tuğlu, M. İ. (2019). Kanser hücreleri üzerine *Origanum Minutiflorum*'un Sitotoksik Etkisinin Araştırılması. *Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 74-80.
- Özkan, O. E., Zengin, G., Akça, M., Baloğlu, M. C., Olgun, Ç., Altuner, E. M., ... & Vurdu, H. (2015). DNA protection, antioxidant, antibacterial and enzyme inhibition activities of heartwood and sapwood extracts from juniper and olive woods. *RSC advances*, 5(89), 72950-72958.
- Paduch, R., Wójciak-Kosior, M., & Matysik, G. (2007). Investigation of biological activity of *Lamii albi flos* extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 110(1), 69-75.
- Quave, C. L., & Smeltzer, M. (2009). Anti-biofilm activity of *Marrubium vulgare* L.(Lamiaceae) extract on MRSA. *Planta Medica*, 75(04), P-96.
- Raja, R. (2012). R. Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) Family: An overview. *Res. J. Med. Plant*, 6, 203-213.
- Roussis, V., Chinou, I., Perdetzoglou, D., & Loukis, A. (1996). Identification and bacteriostatic activity of the essential oil of *Lamium garganicum* L. ssp. *Laevigatum arcangeli*. *Journal of essential oil research*, 8(3), 291-293.
- Salehi, B., Armstrong, L., Rescigno, A., Yeskaliyeva, B., Seitimova, G., Beyatli, A., ... & Sharifi-Rad, J. (2019). *Lamium* plants-A comprehensive review on health benefits and biological activities. *Molecules*, 24(10), 1913.
- Salman, S. Y., SARITAŞ, S., Kara, N., & AY, R. (2014). Acaricidal and ovicidal effects of sage (*Salvia officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)(Lamiaceae) extracts on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Agricultural Sciences*, 20, 358-367.
- Saraç N, Uğur A. (2007) Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Muğla, Turkey. *EurAsian Journal of BioSciences (elektronik)*. (1); 28 - 34.
- Sauer, K., Camper, A. K., Ehrlich, G. D., Costerton, J. W., Davies, D. G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm.
- Savchenko, T., Blackford, M., Sarker, S. D., & Dinan, L. (2001). Phytoecdysteroids from *Lamium* spp: identification and distribution within plants. *Biochemical systematics and ecology*, 29(9), 891-900.
- Savran, B., Yerlikaya, A., Erdoğan, E., & Genc, O. (2014). Anticancer agent ukrain and bortezomib combination is synergistic in 4T1 breast cancer cells. *Anti-*

Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents), 14(3), 466-472.

- Schauder, S., & Bassler, B. L. (2001). The languages of bacteria. *Genes & development*, 15(12), 1468-1480.
- Sepandj, F., Ceri, H., Gibb, A., Read, R., & Olson, M. (2004). Minimum inhibitory concentration (MIC) versus minimum biofilm eliminating concentration (MBEC) in evaluation of antibiotic sensitivity of gram-negative bacilli causing peritonitis. *Peritoneal dialysis international*, 24(1), 65-67.
- Shih, P. C., & Huang, C. T. (2002). Effects of quorum-sensing deficiency on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(2), 309-314.
- Shirazi, F. H., Zarghi, A., Ashtarinezhad, A., Kobarfard, F., Nakhjavani, M., Anjidani, N., ... & Zebardast, T. (2011). *Remarks in successful cellular investigations for fighting breast cancer using novel synthetic compounds*. Croatia: INTECH Open Access Publisher.
- Shoeb, M. (2006). Anti-cancer agents from medicinal plants. *Bangladesh journal of pharmacology*, 1(2), 35-41.
- Siegel, R., Miller, K. D., & Jemal, A. (2014). Cancer statistics, 2012. *Ca Cancer J Clin*, 64(1), 9-29.
- Sorucu, A. (2015). *Marmara bölgesindeki propolislerde biyolojik etkisi olan fenolik madde ve miktarlarının mevsim ve rakım farkına bağlı olarak belirlenmesi* (Doktora tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi (Türkiye)).
- Soule, H. D., Vazquez, J., Long, A., Albert, S., & Brennan, M. (1973). A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *Journal of the national cancer institute*, 51(5), 1409-1416.
- Srancikova, A., Horvathova, E., & Kozics, K. (2013). Biological effects of four frequently used medicinal plants of Lamiaceae. *Neoplasma*, 60(6), 585-597.
- Stankovic, M. S., Curcic, M. G., Zizic, J. B., Topuzovic, M. D., Solujic, S. R., & Markovic, S. D. (2011). Teucrium plant species as natural sources of novel anticancer compounds: antiproliferative, proapoptotic and antioxidant properties. *International journal of molecular sciences*, 12(7), 4190-4205.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual review of microbiology*, 56(1), 187-209.
- Suata Alpaslan, F., & Gözlük Kırmızıoğlu, P. (2020). Paleoantropolojik Çalışmalarda Kanser.

- Sudağdan, M., & Aydın, A. (2013). Lizozim ve nisinin gıda kaynaklı *Staphylococcus aureus* suşlarında gelişim ve biyofilm oluşumu üzerine etkileri. *Istanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 39(2), 254-263.
- Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., ... & Zhu, H. P. (2017). Risk factors and preventions of breast cancer. *International journal of biological sciences*, 13(11), 1387.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209-249.
- Sutherland, I. W. (2001). Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*, 147(1), 3-9.
- Tan, A., (1992) Türkiye’de Bitkisel Çesitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları, *Anadolu Journal of ARI*, 2, 50-64.
- Temel, M., Tınmaz A, B., Öztürk, M., Gündüz, O. (2018). Dünyada ve Türkiye’de tıbbi-aromatik bitkilerin üretimi ve ticareti.
- Toğaçar, M., & Ergen, B. (2018, September). Deep learning approach for classification of breast cancer. In *2018 International Conference on Artificial Intelligence and Data Processing (IDAP)* (pp. 1-5). IEEE.
- Tüfekci, E. F., Alkateeb, A., Akar, S., Çorum, O., Altunoğlu, Y. Ç., Baloğlu, M. C., ... & Çöplü, N. (2020). Antimicrobial and anti-quorum sensing activities of giant fennel (*Ferula elaeochytris* Korovin) from the Hatay region. *Eurasian J Vet Sci*, 36(3), 214-220.
- URL-1 <https://tr.wikipedia.org/wiki/Ball%C4%B1baba> Erişim Tarihi:03.05.2020
- URL-2 http://sagmalcilar.meb.k12.tr/meb_iys_dosyalar/34/25/972861/dosyalar/2017_06/07170915_CANSU_GYKCAN_RAPOR.pdf Erişim Tarihi:01.03.2020
- URL-3 <http://yabanicicekler.com/flower/wiedemannia-orientalis-307> Erişim Tarihi:8.05.2022
- URL-4 <https://www.gezenadam.com/flora/AI.php?ID=481> Erişim Tarihi: 08.05.2022
- URL-5 American Cancer Society, Breast Cancer. 2018. https://cancerstatisticscenter.cancer.org/?&_ga=2.167492350.1933875385.1620202583-1284244835.1610966923#!/cancer-site/Breast Erişim Tarihi: 25.03.2021.
- URL-6 American Cancer Society (ACS), Breast Cancer Facts Figures. Atlanta: American Cancer Society. 2019. <https://www.cancer.org/content/dam/cancerorg/research/cancer-facts-and-statistics/breast-cancer-facts-and-figures/breastcancer-facts-and-figures-2019-2020.pdf> Erişim Tarihi: 05.05.2021.

- Watnick, P. I., & Kolter, R. (1999). Steps in the development of a *Vibrio cholerae* El Tor biofilm. *Molecular microbiology*, 34(3), 586-595.
- Welsh, J. (2013). Animal models for studying prevention and treatment of breast cancer. In *Animal models for the study of human disease* (pp. 997-1018). Academic Press.
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2007). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances.
- Williams, G. M. (2001). Mechanisms of chemical carcinogenesis and application to human cancer risk assessment. *Toxicology*, 166(1-2), 3-10.
- Williams, P. (2007). Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world. *Microbiology*, 153(12), 3923-3938.
- Yalameha, B. (2018). Administration of herbal antioxidant to prevent and treatment of cancers. *Annals of Research in Antioxidants*, 3.
- Yalçın, F.N., Kaya, D., Kılıç, E., Özalp, M., Ersöz, T. ve Çalıs, I. (2007). Antimicrobial and free radical scavenging activities of some *Lamium* species from Turkey. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, (1), 11-22.
- Yilmaz, H. & Yazihan, Nuray & Tunca, Dilara & Sevinç, Arzu & Olcayto, Emire & Özgül, Nejat & Tuncer, Murat. (2011). Cancer Trends and Incidence and Mortality Patterns in Turkey. *Japanese journal of clinical oncology*. 41. 10-6. 10.1093/jjco/hyq075.
- Yokuş, B. & Çakır, D. Ü. (2012). Kanser Biyokimyası. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, (1) , 7-18 .
- Young, A., Guan, J., Daemen, A., Friedman, L., & Lin, K. (2018). Abstract B36: Progesterone receptor signaling in estrogen receptor-positive breast cancer. *Molecular Cancer Research*, 16(8_Supplement), B36-B36.
- Zhou, L., Zhang, Y., Ge, Y., Zhu, X., & Pan, J. (2020). Regulatory mechanisms and promising applications of quorum sensing-inhibiting agents in control of bacterial biofilm formation. *Frontiers in microbiology*, 11, 589640.
- Ziaková, A., & Brandšteterová, E. (2003). Validation of HPLC determination of phenolic acids present in some Lamiaceae family plants. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 26(3), 443-453.