

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



***Phlomoïdes moluccelloïdes* (Bunge) Salmaki BİTKİ**
EKSTRAKTLARININ *in vitro* TERAPÖTİK POTANSİYELİNİN
ARAŞTIRILMASI

ANFAL IZALDEEN MUTAR ALKATEEB

DOKTORA TEZİ

Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU

MART- 2023
KASTAMONU

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.

Anfal Izaldeen Mutar ALKATEEB

ÖZET

DOKTORA TEZİ

Phlomoïdes moluccelloïdes (Bunge) Salmaki **BİTKİ EKSTRAKTLARININ in vitro TERAPÖTİK POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

ANFAL IZALDEEN MUTAR AL KATEEB

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU

Günümüzde modern tıpta kullanılan birçok ilacın temelini şifalı bitkiler oluşturmaktadır. Bu nedenle daha önce çalışılmamış endemik bitki türlerinin biyolojik aktivitelerinin araştırılması ve literatüre kazandırılması önemlidir. Bu tez, *Phlomoïdes moluccelloïdes* (Bunge) Salmaki'nin toprak üstü ve kök bölümlerine ait metanol (MeOH) ve infüzyon ekstraktlarının antibakteriyel, anti-quorum sensing ve antiproliferatif aktivitelerini belirlemeyi amaçlamıştır. Antiproliferatif aktivite, MTT testi kullanılarak HeLa, MCF-7 ve MDA-MB-231 kanser hücre kültürü hatlarında araştırılmıştır. Ekstraktların minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak bir takım referans bakteri suşlarına karşı değerlendirilmiştir. Ekstraktların anti-quorum sensing aktiviteleri, *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 ve *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 bioraportör suşlarında viyolasin ve piyosiyanın pigment üretiminin inhibisyonu, biyofilm formasyonunun inhibisyonu ve yayılma hareketliliğinin (swarming motilite) inhibisyonu üzerine test edilmiştir. Kullanılan tüm ekstraktlar, MCF-7 hücre hattına karşı doza bağımlı antiproliferatif aktivite gösterirken, yalnızca toprak üstü kısmının MeOH ekstraktı HeLa ve MDA-MB-231 hücre hatlarına karşı doza ve zamana bağımlı antiproliferatif aktivite göstermiş olup, toprak üstü kısmının infüzyon ekstraktı ise HeLa hücre hattına karşı doza ve zamana bağımlı antiproliferatif aktivite sergilemiştir. En etkili sonuç, 48. saatte MCF-7 hücre hattında toprak üstü kısma ait MeOH ekstraktı için ($IC_{50} = 875,7 \mu\text{g/mL}$) belirlenmiştir. Tüm ekstraktların test edilen bakterilere karşı minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri $> 2000 \mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilmiştir. Ekstraktların hepsinin *P. aeruginosa* PAO1'in swarming hareketliliğini kısmen inhibe ettiği belirlenmiştir. Ayrıca toprak üstü kısma ait MeOH ekstraktı, bakteri üremesini durdurmadan piyosiyanın üretimini %81,7 oranında engellemiştir. Biyofilm oluşumu ve viyolasin pigmentlerinin üretimi söz konusu olduğunda ise ekstraktlar önemli bir inhibe edici etki göstermemiştir. Bulgular, *P. moluccelloïdes*'in kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif bir etkiye ve iyi bir anti-quorum sensing ajanı olma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu biyolojik aktivitelere sebep olan mekanizmaların aydınlatılması için ileri analizlerin gerçekleştirilmesi önerilmektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Antiproliferatif, Anti-Quorum Sensing, Antibiyofilm, Ekstrakt, *Phlomoïdes moluccelloïdes* (Bunge) Salmaki.

Mart 2023, 106 Sayfa

ABSTRACT

PH.D THESIS

INVESTIGATION OF *in vitro* THERAPEUTIC POTENTIAL OF *Phlomooides moluccelloides* (Bunge) Salmaki PLANT EXTRACTS

ANFAL IZALDEEN MUTAR AL KATEEB

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF GENETICS AND BIOENGINEERING

SUPERVISOR: DOÇ. DR. YASEMİN ÇELİK ALTUNOĞLU

Medicinal plants form the basis of many drugs used in modern medicine today. Therefore, it is important to examine the biological activities of endemic plant species that have not been studied before and bring them to the literature. This thesis focused to define the antibacterial, anti-quorum sensing, and antiproliferative features of methanol (MeOH) and infusion extracts of the aerial and root fragments of *Phlomooides moluccelloides* (Bunge) Salmaki. The antiproliferative activity was investigated on HeLa, MCF-7, and MDA-MB-231 cancer cell lines using the MTT test. The minimal inhibitory concentration (MIC) ratios of the extracts were analysed against reference bacterial strains using the broth microdilution assay. Anti-quorum sensing effects of the extracts were examined on inhibition of violacein and pyocyanin pigments production, suppression of biofilm formation, and inhibition of swarming motility in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 bioreporter strains. All extracts had dose-dependent antiproliferative activity against the MCF-7 cells, whereas only the MeOH extract of the aerial part had dose- and time-dependent antiproliferative activity against HeLa and MDA-MB-231 cancer cells. In addition, the infusion extract of the aerial part had dose- and time-dependent antiproliferative activity against the HeLa cell line. The most potent result was determined for the MeOH extract of aerial part on the MCF-7 cells at the 48th hour of the application ($IC_{50} = 875.7 \mu\text{g/mL}$). The minimal inhibitory concentration (MIC) ratios of all extracts against the tested bacteria were $> 2000 \mu\text{g/mL}$. Every extract partially suppressed the swarming motility of *P. aeruginosa*. Besides, MeOH extract of the aerial part restricted pyocyanin production by 81.7% without affecting bacterial growth. As far as biofilm formation and production of violacein pigments were concerned, the extracts exhibited no significant inhibitory effects. The findings displayed that *P. moluccelloides* have an antiproliferative effect on cancer cells and may be a good anti-quorum sensing agent. Further analyzes are recommended to solve the mechanisms that cause these biological activities.

KEYWORDS: Antiproliferative, Anti-Quorum Sensing, Antibiofilm, Extract, *Phlomooides moluccelloides* (Bunge) Salmaki.

March 2023, 106 Page

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgisi ve tecrübesini sunan danışman hocam Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU'na değerli katkıları için Teşekkür ederim. Aynı zamanda doktora çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU hocama, çalışmalarda kullandığım ekstraktların temin edilmesini sağlayan Prof. Dr. Gökhan ZENGİN hocama Teşekkür ederim.

Dr. Öğr. Üyesi Enis Fuat TÜFEKÇİ hocama laboratuvardaki mükemmel desteği ve rehberliği için sonsuz Teşekkürlerimi Sunarım.

Doktora aşamasında bana yardımcı olan, Dr. Öğr. Üyesi Ferhat ULU, Araş. Gör. Mustafa ÖÇAL, Ebrar ÇAĞLIYAN ve Gamze BURCU'ya yardımları için teşekkür ediyorum. Kübra SEYHAN ve Sümeyra BAŞYİĞİT'e Teşekkür etmeyi unutmayacağım.

Irak hükümetine lisansüstü bursları finanse ettiği için Teşekkür ederim. Bize bu fırsatı verdikleri için başta Kastamonu Üniversitesi olmak üzere Türkiye Cumhuriyeti'ne de ayrıca TEŞEKKÜR EDİYORUM.

Gurbette bize kucak açan Hameed Almola ve ailesine Teşekkür ediyorum.

Son olarak eşime ve hayat arkadaşşıma (seninle bir yol birlikte tüketmek ne güzel) bana destekleri ve inançları için ayrıca sonsuz Teşekkür ediyorum.

Çalışmam boyunca harika ve güzel aileme bana destekleri ve inançları için sonsuz Teşekkür ediyorum, özellikle de her an yanımda olan rahmetli Riyam'a, anneme ve babama ithaf ediyorum ve onlara söyleyeyim, burada dileğinizi yerine getirdim. Bana yükseköğrenime giden yolu açan anneme ve rahmetli babama ayrıca şükranlarımı sunuyorum.

ANFAL IZALDEEN MUTAR AL KATEEB

Kastamonu, 2023

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
1.2 <i>Phlomoides moluccelloides</i> Türünün Botanik Bilgileri.....	4
1.2.1 Lamiaceae Ailesi Hakkında Genel Bilgiler	4
1.2.2 Lamiaceae Ailesi Üyelerinin Tıpta Kullanımı	5
1.2.3 <i>Phlomoides moluccelloides</i>	6
1.2.3.1 <i>Phlomoides moluccelloides</i> 'in fitokimyasal bileşikleri	8
1.3 Antibakteriyel Aktivite	9
1.4 Quorum Sensing Sistemi	10
1.4.1 Quorum Sensing Sinyal Molekülleri	11
1.4.2 Quorum Sensing Mekanizması	12
1.4.3 Quorum sensing sisteminin inhibisyonu.....	13
1.4.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	15
1.4.4.1 Biyofilm oluşumu	17
1.4.4.2 Piyosiyanın üretimi	18
1.4.4.3 Swarming hareketi (yayılma hareketi).....	18
1.4.5 <i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472	19
1.5 Kanser	20
1.5.1 Kanser Tedavisi	22
1.5.2 Kanser Çoklu İlaç Direnci	23
1.5.3 Meme Kanseri	24
1.5.3.1 MDA-MB-231 hücre hattı	25
1.5.3.2 MCF-7 hücre hattı.....	25
1.5.4 Servikal Kanser ve Tedavisi	26
1.5.4.1 Servikal kanser hücreleri (HeLa hücreleri).....	27
1.6 Çalışma Amacı.....	27
2. KAYNAK ÖZETLERİ	28
2.1 <i>Phlomoides</i> ve <i>Eremostachys</i> Cinslerine Ait Antibakteriyel Çalışmalar	28
2.2 <i>Phlomoides</i> ve <i>Eremostachys</i> Cinslerine Ait Antikanser Etki Çalışmaları.....	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM	33
3.1 Materyal.....	33
3.1.1 Bitki Materyali	33
3.1.2 Çalışmada Kullanılan Bakteri Suşları	33

3.1.3 Antibakteriyel Testlerde Kullanılan Cihaz, Kimyasal ve Sarf malzemeler.....	34
3.1.4 Kullanılan Hücre Hatları.....	36
3.1.5 Sitotoksosite Testlerinde Kullanılan Cihaz, Kimyasal ve Sarf malzemeler.....	36
3.2 Kullanılan Yöntemler.....	38
3.2.1 Bitki Ekstraktlarının Temini.....	38
3.2.2 Antibakteriyel Aktivitenin Saptanması.....	38
3.2.2.1 Bakteri besiyerlerinin hazırlanması.....	39
3.2.2.2 Bakteri kültürlerinin hazırlanması.....	39
3.2.2.3 Minimal inhibitör konsantrasyonu tespiti.....	39
3.2.3 QS İnhibisyonunun biyoindikatör suşlarda gösterilmesi.....	40
3.2.3.1 Swarming (yayıma) hareketi inhibisyon testi.....	40
3.2.3.2 Biyofilm inhibisyon testi.....	41
3.2.3.3 Piyosiyenin inhibisyonu testi.....	42
3.2.3.4 Viyolasin inhibisyon testi.....	42
3.2.4 Antiproliferatif Aktivitenin Tespiti.....	43
3.2.4.1 Bitki ekstraktlarının hazırlanması.....	43
3.2.4.2 Hücre kültürünün sürdürülmesi.....	43
3.2.4.3 Hücrelerin canlılık testi (MTT).....	45
3.2.5 Yarı maksimum inhibitör konsantrasyon (IC ₅₀) değerlerinin belirlenmesi.....	46
3.3 İstatistiksel Analizler.....	47
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	48
4.1 Antibakteriyel Aktivitenin Saptanması.....	48
4.1.1 Minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri.....	48
4.2 Anti-Quorum Sensing Sonuçları.....	49
4.2.1 Swarming İnhibisyon Testi Bulguları.....	49
4.2.2 Viyolasin İnhibisyon Testi Bulguları.....	49
4.2.3 Piyosiyenin İnhibisyon Testi Bulguları.....	50
4.3 Biyofilm İnhibisyon Testi Bulguları.....	51
4.4 Antiproliferatif Aktivite Sonuçları.....	52
4.4.1 Bitki Ekstraktlarının MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerindeki Antiproliferatif Aktivite Bulguları.....	52
4.4.2 Bitki ekstraktlarının MCF-7 hücre hattı üzerindeki antiproliferatif aktivite Bulguları.....	57
4.4.3 Bitki Ekstraktlarının HeLa Hücre Hattı Üzerindeki Antiproliferatif Aktivite Bulguları.....	61
5. TARTIŞMA.....	65
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	77
KAYNAKLAR.....	78
ÖZGEÇMİŞ.....	105

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1	Bitki ikincil metabolitlerinin sınıflandırılması.....	2
Şekil 1.2	<i>P. moluccelloides</i> bitkisinin yayılış haritası.....	6
Şekil 1.3	<i>Phlomooides moluccelloides</i> bitkisinin görseli.....	7
Şekil 1.4	<i>Eremostachys</i> türünden iridoidler	8
Şekil 1.5	Antibiyotik direncinin temel oluşum mekanizması	10
Şekil 1.6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'da quorum sensing; AHL: asil homoserin lakton; 1: N-3-okso-dodekanoil homoserin lakton (3OC12-HSL); 2: N-bütanoil-L-homoserin lakton (C4-HSL).....	12
Şekil 1.7	Yüzeylerde biyofilm oluşumunu gösteren şematik diyagram.....	17
Şekil 1.8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1'de piyosiyanın biyosentezi	18
Şekil 1.9	<i>C. violaceum</i> 'da Quorum sensing sistemi	20
Şekil 3.1	Thoma lamı ve sayım bölgeleri.....	45
Şekil 4.1	Swarming inhibisyon deneyi (K; kontrol, 1; toprak üstü kısma ait infüzyon ekstraktı, 2; toprak üstü kısma ait metanol ekstraktı, 3; kök kısmına ait infüzyon ekstraktı, 4; kök kısmına ait metanol ekstraktı).....	49
Şekil 4.2	Viyolasin inhibisyon test sonucu (1; pozitif kontrol (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1 kültürünün supernatantı), 2 ve 4; toprak üstü ve kök kısımlarına ait MeOH ekstraktları, 3 ve 5; toprak üstü ve kök kısımlarına ait infüzyon ekstraktları.....	50
Şekil 4.3	Piyosiyanın inhibisyon deneyinin sonucu. 24 saatlik bir inkübasyondan sonra; kontrol, 1,2; toprak üstü kısmına ait MeOH ekstraktı (1 ve 0,5 mg/mL), 3, 4; toprak üstü kısmına ait infüzyon ekstraktı (1 ve 0,5 mg/mL), 5,6; kök kısmına ait infüzyon ekstraktı (1 ve 0,5 mg/mL).....	51
Şekil 4.4	MDA-MB-231 hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 24. saatindeki morfolojik görüntüleri.....	53
Şekil 4.5	MDA-MB-231 hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 48. saatindeki morfolojik görüntüleri.....	54
Şekil 4.6	MCF-7 hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 24. saatindeki morfolojik görüntüleri.....	57
Şekil 4.7	MCF-7 hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 48. saatindeki morfolojik görüntüleri.....	58
Şekil 4.8	HeLa hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 24. saatindeki morfolojik görüntüleri.....	61
Şekil 4.9	HeLa hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 48. saatindeki morfolojik görüntüleri.....	62

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1	Bakterilerin kullandıkları bazı sinyal molekülleri ve fonksiyonları....	11
Tablo 3.1	Çalışmada kullanılan bakteri suşları	34
Tablo 3.2	Antibakteriyel testlerde kullanılan kimyasallar.....	34
Tablo 3.3	Antibakteriyel testlerde kullanılan cihaz ve sarf malzemeler	35
Tablo 3.4	Çalışmada kullanılan hücre hatları	36
Tablo 3.5	Sitotoksosite testlerinde kullanılan kimyasallar.....	37
Tablo 3.6	Sitotoksosite testlerinde kullanılan cihaz ve sarf malzemeler.....	37
Tablo 4.1	Ekstraktların ve levofloksasin antibiyotiğinin MİK değerleri.....	48
Tablo 4.2	MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 24. saatteki canlılık oranı (%). Veriler±standart hata şeklinde sunulmuştur.	55
Tablo 4.3	MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 48. saatteki canlılık oranı (%). Veriler±standart hata şeklinde sunulmuştur.	56
Tablo 4.4	MCF-7 hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 24. saat canlılık oranı (%). Veriler±standart hata şeklinde sunulmuştur.....	59
Tablo 4.5	MCF-7 hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 48. saat canlılık oranı (%). Veriler±standart hata şeklinde sunulmuştur.....	60
Tablo 4.6	HeLa hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 24. saat canlılık oranı (%). Veriler± standart hata şeklinde sunulmuştur.....	63
Tablo 4.7	HeLa hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 48. saat canlılık oranı (%). Veriler standart hata şeklinde sunulmuştur.....	64

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1	Piyosiyanin inhibisyon deneyinin sonucu. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur (* $p < 0,05$).	51
Grafik 4.2	Biyofilm inhibisyon deneyinin sonucu. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur ($p > 0,05$).	52
Grafik 4.3	Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 24 saat sonra MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.	55
Grafik 4.4	Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 48 saat sonra MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.	56
Grafik 4.5	A Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 24 saat sonra MCF-7 hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.	58
Grafik 4.6	Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 48 saat sonra MCF-7 hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.	59
Grafik 4.7	Toprak üstü MeOH ekstraktının MCF-7 hücre hattı üzerinde 48. saat sonunda hesaplanan IC_{50} değerleri.....	60
Grafik 4.8	Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 24 saat sonra HeLa hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.	62
Grafik 4.9	Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 48 saat sonra Hela hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.	64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

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

Kısaltmalar

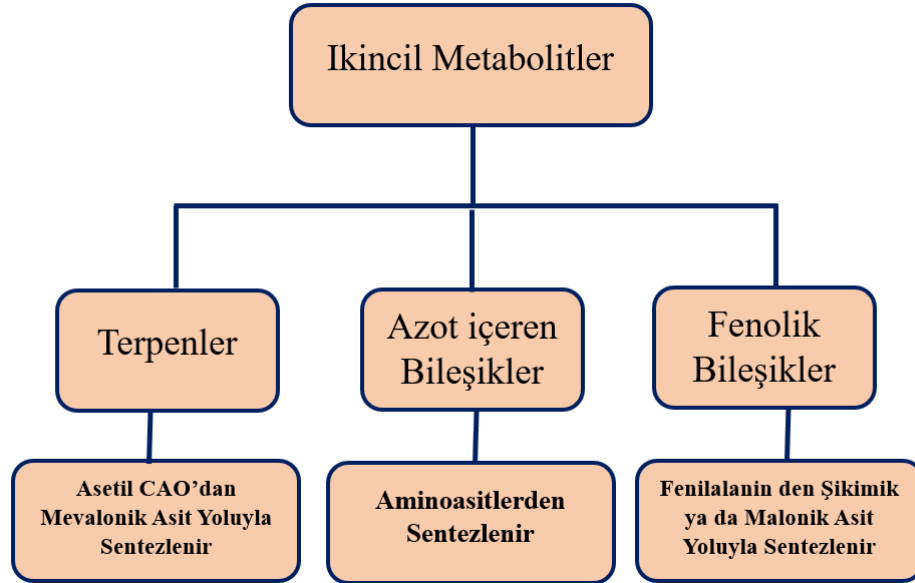
AHL	: N- Açıl Homoserin Lakton
ARG	: Antibiyotik Direnç Geni
CO₂	: Karbondioksit
dH₂O	: Distile Su
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EACC	: Avrupa Kimliği Doğrulanmış Hücre Kültürleri Koleksiyonu
ER-α	: Östrojen Reseptörü Alfa
FBS	: Fetal Bovin Serum
HER2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2
HGT	: Horizontal Gen Transferi
IC₅₀	: Yarı Maksimum İnhibitör Konsantrasyonu
Kob	: Koloni Oluşturan Birim
MeOH	: Metanol
MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyon
MTT	: Metiltiazol Difeniltetrazolyum Bromür
NEA	: Esansiyel Olmayan Amino Asit
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltilisi
PR	: Progesteron Reseptörü
QS	: Quorum Sensing
QSSM	: Quorum Sensing Sinyal Molekülleri
TNBC	: Üçlü Negatif Meme Kanseri

1. GİRİŞ

Şifalı bitkiler, doğadan insanlara bir armağandır ve daha iyi sağlık arayışlarında onlara yardımcı olmuştur. Tarih öncesi zamanlardan beri, doğal ürünler insanlık tarafından iyileştirici ilaçların başlıca kaynağı olarak kabul edilmiş ve kullanılmıştır (Wright, 2019). Tıbbi bitkilerin ilaç yapımında kullanıldığı ile ilgili en eski yazılı belgeye, yaklaşık 5000 yıllık Nagpur'dan bir Sümer kil levhasında rastlanmıştır. Bazıları haşhaş, henbane ve mandrake gibi alkaloidler olan 250'den fazla çeşitli bitkiye atıfta bulunan 12 ilaç hazırlama tarifinden oluşmuştur (Petrovska, 2012). Onların bilgileri, etnobotanik araştırmayı başlatan yerel halk tarafından nesilden nesile yayılmıştır. Küresel kullanımları, geleneksel tedavi edici ve endüstriyel değerleri göz önüne alındığında, yeni ilaçların üretimine öncülük etmek için birçok doğal ürün araştırılmaktadır (Salehi vd., 2018; Sharifi-Rad vd., 2018). Kırsal toplumlarda, ilk tıp pratisyenleri birinci basamak sağlık hizmeti sağlayıcıları olarak belirlenmiştir (Malami vd., 2020). Dünya nüfusundaki artış trendi, 21. yüzyılın ilk yarısında dünya nüfusunun 10 milyarı aşacağını düşündürmektedir. Bu nedenle gıda güvenliğinin yanı sıra sağlık hizmeti sunma çabaları da uluslararası toplumun en önemli sorun ve kaygılarından biri olacaktır (Hadipour vd., 2016).

Bitkiler doğrudan ilaç olarak kullanılabilen mükemmel ve güçlü biyoaktif bileşiklerin kaynağıdır (Siddiqui vd., 2020). Genel olarak, tıbbi bitkilerin kullanımı, gelişmekte olan ülkeler için daha uygun fiyatlı ve erişilebilir olduğundan pek çok fırsat sağlamıştır (Nigussie vd., 2021). Bu nedenle, tıbbi bitkilerin sağlık koşullarımızı iyileştirmek için zararsız fakat anlaşılması zor araçlar sunduğu düşünülmektedir (da Silva vd, 2021). Çeşitli bitkilerin yara, cilt hastalıkları, adet bozuklukları, doğum sonrası ateş, baş ağrısı, solunum yolu enfeksiyonu, üretral enfeksiyon, romatizma ve kanser tedavisi gibi çeşitli biyolojik aktivitelerinin olduğu gözlenmiştir (Ohue, 2019; Talib vd., 2020). Ayrıca, tüm şifalı bitkiler, antidiyabetik, anti-osteoporotik, antimikrobiyal, hepatoprotektif, anti-inflamatuar, antimalaryal, immun-modülatör, antioksidan, anti-hipertansif, antikanser ve diğerleri ile birlikte çeşitli farmakolojik özelliklere sahip metabolitler olarak sayısız biyoaktif bileşik verme konusunda

zengindir (Gezici ve Şekeroğlu, 2019; Majolo vd., 2019). Doğal biyoaktif bileşikler, gıdanın normal besleyici değerinin ötesinde sağlık üzerine olumlu etkileri olan bir grup fitokimyasaldır (Li vd., 2019; Nadar vd., 2020; Zhang vd., 2021). Bitkilerde biyoaktif bileşikler, birincil ve ikincil metabolitler olarak ayrılabilir. Proteinler, yağlar ve polisakkaritler gibi birincil metabolitler, bitki gelişimini ve büyümesini destekler. Polifenoller, flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler, tanenler, fenolik bileşikler, steroidler ise ikincil metabolitlerdir (Qin ve Xi, 2021). Bitkiler tarafından kullanılmayan ve çeşitli kısımlarında depolanan ikincil metabolitler, bitkileri mikroorganizma saldırılarından korur, tozlayıcılar için çekicidir, bunun yanında insanlara terapötik etkiler sağlar (Şekil 1.1) (Das ve Gezici, 2018). Biyolojik olarak aktif olan bu bileşikler, parazitler ve patojenler üzerinde önemli etkiye sahiptir. Bazı araştırmalarda, yaygın, kullanıcı dostu ve ekonomik olarak mevcut bitkilerin, antimikrobiyal aktivitenin yanı sıra antioksidan aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır (Kiselova vd., 2006).



Şekil 1.1 Bitki ikincil metabolitlerinin sınıflandırılması (Vuran ve Türker, 2021).

Farklı biyoaktif bileşikler, farklı biyolojik özellikler sergilediklerinden, yaşamın birçok alanında potansiyel uygulama alanına sahiptir. Örneğin polifenoller, güçlü antioksidan kapasiteleri nedeniyle fonksiyonel gıdalarda genellikle doğal katkı maddeleri olarak kullanılmıştır (Osorio-Tobón, 2020).

Tıpta kullanılan ilaçların %40'ının doğal bileşiklerden elde edildiği tahmin edilmektedir (Xiao vd., 2018). Bitkilerin kimyasal bileşimi hakkında kapsamlı bilgi, olası tıbbi değerlerinin daha iyi anlaşılmasına yol açmaktadır. Modern kimya, birincil ve ikincil bitki metabolitlerinin rolünü tanımlamıştır (Hussein ve El-Anssary, 2018). Yeni veya yeniden ortaya çıkan tüm bulaşıcı hastalıklar, insanlık için devam eden bir tehdidi temsil etmektedir. Bazı patojenler, bir süre sessiz kaldıktan sonra, genellikle giderek artan oranlarda, orijinal veya yeni konakçılarında yeniden ortaya çıkmalarını sağlayan özellikler kazanabilmektedirler (Sarma, 2017). Bu dirençli bakterilerle enfeksiyon, yaşamı tehdit eden ciddi hastalıklara yol açabilirken, etkili antibiyotiklerin olmaması her yıl daha yüksek ölüm oranlarına sebep olmaktadır (Wang vd., 2020).

Tıbbi bitkilerin doğal kaynaklarına ek olarak, kanser tedavisi için sıklıkla kullanılan değerli fitokimyasallar da bulunmaktadır (Al-Ansari vd., 2019). Daha önce kullanılan antikanser ilaçları nedeniyle, sadece tümör hücrelerine değil, aynı zamanda kanserin geliştiği vücut bölümündeki normal hücrelerde de nispeten yüksek toksisite gözlenmektedir. Şu anda, karasal bitkiler arasında olduğu kadar deniz ortamlarında da yeni antikanser ilaçların arayışı sürmektedir (Lichota ve Gwozdziński, 2018). Türkiye bitki çeşitliliği ve endemizmi açısından dünyanın en zengin ülkelerinden biridir ve farmakolojik etkileri nedeniyle yüzyıllardır hastalıklara karşı kullanılan çeşitli bitki türlerine ev sahipliği yapmaktadır (Eruçar vd., 2022). İlaç olarak ve gıdalarda kullanımları ile yeni doğal ürünler geliştirmek için yerli tıbbi bitkilerin dikkate değer fitokimyasal kaynakları doğal bir stok olabilmektedir. Tıbbi bitkilerin bazıları alerjik veya hassas popülasyonlar için zararlı olabilirken, diğer durumlarda bitkinin belirli kısımları yenilebilir ve diğer kısımları zehirli olabilir. Bu nedenle, herhangi bir tıbbi bitkinin toksikolojik değerlendirmesi, olumsuz etkilerini ortaya çıkarmak ve bu tür etkilerin meydana geldiği maruziyet seviyesinin sınırlarını belirlemek için zorunlu olarak gereklidir (Siddiqui vd., 2022).

Bu alanda çok ve yeni çalışmalar yapmak önem arz etmektedir. Bu nedenle endemik bitkilerin antikanser özelliklerinin araştırılması ve sonuçlarının literatüre kazandırılması gereklidir. Bildiğimiz kadarıyla, literatürde *Phlomis moluccelloides* (Bunge) Salmaki' nin biyolojik etkileri hakkında daha önce yapılmış kapsamlı bir rapor bulunmamaktadır.

1.2 *Phlomoides moluccelloides* Türünün Botanik Bilgileri

Phlomoides moluccelloides (Bunge) Salmaki, Lamiaceae ailesinin bir türü olup *Eremostachys moluccelloides* (Bunge) Salmaki olarak da adlandırılmaktadır. Bu aile, fitokimyasalları ve biyoaktivitesi yüksek biyolojik ve farmakolojik etkilere sahip bir bitki türüdür (Fidan vd., 2019; Ghalkhani vd., 2021; Kozłowska vd., 2015; Ydyrys vd., 2021).

1.2.1 Lamiaceae Ailesi Hakkında Genel Bilgiler

Lamiaceae ailesi, Türkçe adıyla Ballıbabagiller olarak da bilinir ve tüm dünyada yayılış göstermektedir. Bu familya, 245 cins ve yaklaşık olarak 7886 türden oluşmaktadır. Soğuk kutup bölgeleri dışında dünyanın hemen her yerinde yayılışı vardır (Abdelhalim ve Hanrahan, 2021). Lamiaceae familyasına ait üyeler, çoğunlukla ot, seyrek ağaç ve çalı formu görünümündedirler. En bariz özellikleri, vertisillat (halkasal) dizilim gösteren ve uçucu yağ içeren yapraklarıdır (İpek, 2018). Lamiaceae, geleneksel tıpta kullanılan çok çeşitli bitkileri içeren en önemli bitki ailelerinden biri olarak kabul edilmektedir (Ayaz vd., 2020). Lamiaceae bitkileri, örneğin sindirim sistemi bozukluklarının tedavisinde olduğu gibi çeşitli farmakolojik aktivitelere sahiptir. Etnofarmakolojik çalışmalar, bazı Lamiaceae üyelerinin uçucu yağlarının anti-insektisit, anti-inflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser aktiviteleri olduğunu göstermiştir (Filho vd., 2022; Govindarajan vd., 2016; Sun vd., 2022). Türkiye’de de yetişen, tıbbi öneme sahip olan bu familyanın gıda olarak da tüketilen türleri vardır. Bunlar *Mentha* (nane), *Salvia* (adaçayı), *Thymus* (kekik), *Rosmarinus* (biberiye), *Ocimum* (fesleğen) olarak sayılabilir. Yiyecek olarak *Stachys affinis* (Çin enginarı), ayrıca güzel kokulu bitkiler olarak *Lavandula* (lavanta), Pogostemon ve birçok bitki üyesinin de süs bitkisi olarak kullanımının olması, familyanın tıbbi ve ekonomik kıymetini göstermektedir (İpek, 2018). Türkiye, Lamiaceae (Labiatae) familyası için önemli bir gen merkezi olup, Türkiye’de endemik olarak 256 türü bulunmaktadır ve familyanın endemizm oranı ise %44’tür (Keskin, 2018).

1.2.2 Lamiaceae Ailesi Üyelerinin Tıpta Kullanımı

Lamiaceae ailesi, ekonomik açıdan önemli aromatik bitki türleri ile karakterize edilmektedir (Prakash vd., 2016). Uçucu yağları, farklı toprak üstü kısımlarından (tohumlar, yapraklar, çiçekler, sürgünler ve meyveler) veya köklerden elde edilmektedir. Bu yağlar; aldehitler, esterler, fenoller, ketonlar, alkoller, organik asitler, hidrokarbonlar gibi karakteristik fonksiyonel grupları içermektedir (Ramos da Silva vd., 2021; Nazar vd., 2022). Kan dolaşımı ve sindirimi uyarıcı, merkezi sinir sistemini güçlendirici, balgam söktürücü, spazm giderici, antiseptik olarak kullanılmaktadırlar (Popović-Djordjević vd., 2019). Lamiaceae ailesi üyelerinin tarih boyunca uzun bir kullanım geçmişine sahip olduğu bilinmektedir. Eski zamanlarda, hatırlamanın otu olarak bilinen *Rosmarinus officinalis* hafızayı güçlendirmek için kullanılmıştır. Buna ek olarak, depresyonu azaltmak ve uyku kalitesini iyileştirmek amaçlı kullanılmıştır. Ayrıca, yatıştırıcı olarak ve baş ağrılarının tedavisi için farklı *Salvia* (adaçayı) türleri de değerlendirilmiştir (Abdelhalim ve Hanrahan, 2021).

Lamiaceae ailesinin biyolojik uygulamaları temel olarak, antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar, antiviral, analjezik, antitussif, antiastmatik, antipiretik gibi çeşitli aktivitelere sahip olan uçucu yağları ile ilgilidir (Çelik vd., 2021). Antimikrobiyal, antiemetik, antifungal (Ouakouak vd., 2019), antianjiyogenik, antihepatotoksik (Cocan vd., 2018), yatıştırıcı, antiseptik, antiparaziter, antihelmintik, bağışıklık düzenleyici (Bekut vd., 2018) ve antialerjik etkilere de sahiptirler (Santos vd., 2018). Ayrıca birçok Lamiaceae üyesinin farklı kanser hücre hatlarına karşı antiproliferatif etki gösterdiği ve yeni antikanser ajanlarının geliştirilmesi için yüksek potansiyele sahip olduğu rapor edilmiştir (Mesquita vd., 2019). Bunlar arasında, *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca* Freyn & Bornm (PC-3 ve U-87 MG hücre hatlarına karşı etkili) (Karakaya vd., 2020), *Origanum acutidens* Hand.-Mazz (A-431 hücre hatlarına karşı etkili) (Gokhan, 2022), *Satureja nabateorum* Danin ve Hedge (Hela, HepG2, and COLO-205 hücre hatlarına karşı etkili) (Al-Maharik ve Jaradat, 2021), *Betonica bulgarica* Degen et Neič (Hela hücre hatlarına karşı etkili) (Mladenova vd., 2022) örnek olarak verilebilir.

1.2.3 *Phlomoides moluccelloides*

Phlomoides moluccelloides (Bunge) Salmaki, Lamiaceae ailesinin bir üyesi olup *Eremostachys moluccelloides* (Bunge) olarak da adlandırılmaktadır. Çok yıllık otsu bir bitkidir. Kireçtaşı tepeleri, şist ve volkanik yamaçlar doğal yaşam alanlarıdır (Babaç, 2004). Türkiye'de 3 tür ile (*E. moluccelloides*, *E. laciniata* ve *E. glabra*) *Eremostachys* cinsi temsil edilmektedir (Edmondson ve Davis, 1982). Yumru anaçlı çok yıllık bir bitkidir, yaklaşık olarak 20-2000 m yükseklikteki kalkerli taşlı yamaçlarda ve bozkırlarda yetişir ve doğal yaşam alanı Batı Asya'dan Moğolistan'a kadar uzanmaktadır (Karavelioğulları vd., 2008). Başta Azerbaycan, Özbekistan, Türkiye ve İran'da yetişen 100'den fazla farklı tür ile cins yüksek biyolojik çeşitliliğe sahiptir (Usmanov vd., 2022), (Şekil 1.2) (URL-1, 2022).



Şekil 1.2 *P. moluccelloides* bitkisinin yayılış haritası (URL-1, 2022)

Phlomoides cinsi üyelerinin önemli biyolojik etkileri bulunmaktadır. Bu türler, geleneksel olarak gastrointestinal problemler, kemik kırığı ve yara iyileşmesi dahil olmak üzere çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanılmıştır (Singh ve Lal, 2008; Mükemre vd. 2015; Lee vd. 2016). Bu otsu bitkiler, bol örtücü tüyler, vertisillat, parçalı üst ve alt korolla dudakları ve tüp biçimli köklerle karakterize edilmiştir (Kadereit, 2004), (Şekil 1.3) (URL-1, 2022). *P. moluccelloides*'in taksonomik basamakları şu şekildedir (Salmaki vd., 2012; Çalış ve Başer, 2021):

Üst Alem: *Eukaryota* (Ökaryotlar)

Alem: *Plantae*

Bölüm: *Tracheophyta*

Sınıf: *Magnoliopsida*

Takım: *Lamiales*

Familya: *Lamiaceae*

Alt family: *Lamioideae*

Takım: *Phlomideae*

Cins: *Phlomoides Moench*

Tür: *Phlomoides moluccelloides* (Bunge) Salmaki

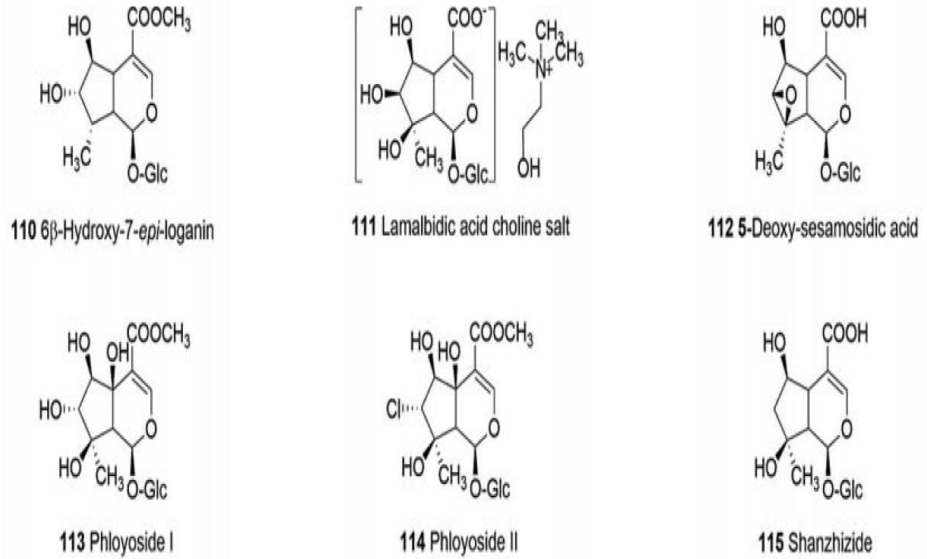
Synonym *Eremostachys molucelloides* Bunge



Şekil 1.3 *Phlomoides moluccelloides* bitkisinin görseli (URL-1, 2022)

1.2.3.1 *Phlomoides moluccelloides*'in fitokimyasal bileşikleri

Cinsin çeşitli türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar, *Phlomoides*'in etnofarmakolojik aktivitelere sahip olduğunu ve uçucu yağlar, flavonoidler, yağlar, karboksilik asitler, monoterenler, triterpenler, diterpenler, iridoidler, steroidler, phenylproponoidler ve krizoeriol glikozitler gibi ikincil metabolitleri içerdiğini göstermiştir (Behlil vd., 2019; Doustimotlagh vd., 2020; Geng vd., 2020; Mohammadhosseini vd., 2019; Olennikov ve Chirikova, 2017). Flavonoidler bu cinsin en baskın fitokimyasalları arasındadır (Kadereit, 2004). Bu ikincil metabolitlerin antibakteriyel, radikal süpürücü, antikanser ve antiinflamatuvar aktivitelere sahip olduğu belirlenmiştir (Lehbili vd., 2018). *E. moluccelloides* ve *E. laciniata* üzerinde yapılan çalışmalar, 6 tanesi her iki tür için ortak olan 14 iridoid glikozitin izolasyonu ile sonuçlanmıştır. Bunlar lamalbid 5-deoksipulchellose, shanzhizid metil ester, sesamoside, 5-deoxy-sesamoside (phlorogigoside C) ve klorotuberosiddir (Mathiesen, 2006; Çalış vd., 2008). Ek olarak iridoitler 6 β -hidroksi-7-epi-loganin, lamalbidik asit kolin tuzu, 5-deoksi-sesamosidik asit, floyosidler I, II ve shanzhizid içermektedir (Şekil 1.4) (Çalış ve Başer, 2021).



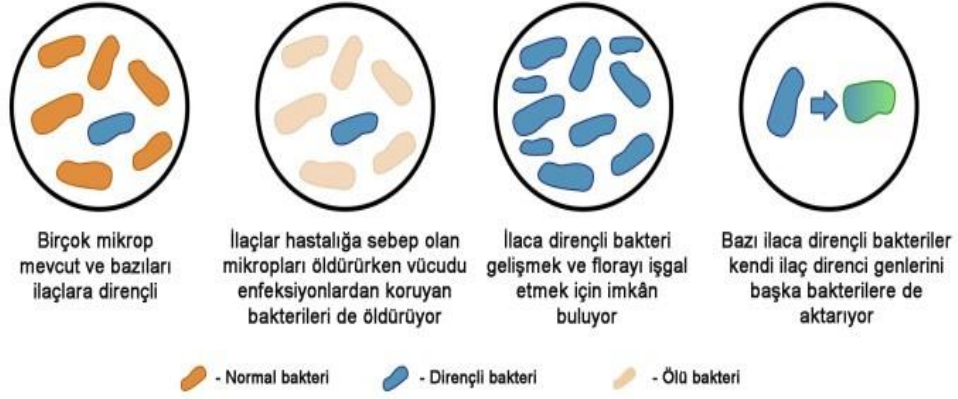
Şekil 1.4 *Eremostachys* türünden iridoidler (Çalış ve Başer, 2021).

Ayrıca, *Phlomoïdes* türleri diğler Labiatae üyelerinden farklı olarak fitokimyasal özellikler açısından düşük uçucu yağ verimine sahiptir (Kadereit, 2004). Buna karşılık, tohumları ise yüksek yağ asidi içeriğine sahiptir. Ana bileşen linoleik asit içeren yağlara kıyasla yenilebilir bitkisel yağlar olarak daha az uzun vadeli yan etkilere neden olduğu varsayılan *P. lehmanniana* tohum yağı gibi bu cinste yüksek oranda oleik asit içeren yağlar rapor edilmiştir (Bagci, 2007; Jones vd., 2008). *Phlomoïdes* türünün dağılım alanlarının da analizi ile bağlantılı biyolojik etkinlik çalışmalarının yapılması, bu türlerin etkili potansiyel terapötik değerlerinin bulunmasına yardımcı olabileceği gibi sonuçta ilaç endüstrisinin gelişimine de katkı sağlayabileceğinden fitokimya bilimi için kıymetlidir (Delazar vd., 2004; H. Li vd., 2021; Naghibi vd., 2022).

1.3 Antibakteriyel Aktivite

Klinik ortamda antibiyotiklerin uygunsuz ve yanlış kullanımı sebebiyle günümüzde çoklu ilaca dirençli bakterilerin yaygınlığı artmış ve enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde büyük zorluklar yaşanmaya başlanmıştır (Yoon vd., 2021) (Şekil 1.5). Bakterilerde antibiyotik direnci doğal veya kazanılmış direnç mekanizmaları ile ortaya çıkabilir. Doğal direnç, bakterinin yapısı ve biyokimyasal özelliklerine bağlıdır. Örneğin bakteri hücresi, antibiyotiğın hedef noktasına sahip olmayabilir. Kazanılmış direnç mekanizması ise bakteri kromozomunda spontan mutasyonlar veya direnç genlerini barındıran ektrakromozomal genetik elementlerin horizontal transferi sonucunda ortaya çıkabilir (Reygaert, 2018) Antibiyotik direnç sorunu günümüzde global bir kriz haline gelmiştir. Mevcut antibiyotiklerin yetersiz kalması etkili ve yeni antibiyotiklerin bulunmasını elzem kılmıştır (WHO, 2022). Bundan dolayı son zamanlarda bilim dünyasında etkili ve yeni antimikrobiallerin keşfedilmesine yönelik çalışmaların yoğunlaştığı görülmektedir.

ANTİBİYOTİK DİRENCİ NASIL OLUŞUYOR?



Şekil 1.5 Antibiyotik direncinin temel oluşum mekanizması (URL-2, 2022)

1.4 Quorum Sensing Sistemi

İlk olarak Fuqua ve diğerleri tarafından önerilen Quorum Sensing (QS) kavramı, yalnızca bakteri sayısı belirli bir yoğunluğa ulaştığında meydana gelen algılama olgusunu ifade etmektedir (Fuqua vd., 1994). Bakteriler bir takım sinyal molekülleri üreterek popülasyon yoğunluğunu kontrol ederler (Miller ve Bassler, 2001; Moghaddam vd., 2014). Başka bir ifadeyle QS, aynı türün suşları arasında veya farklı türler arasındaki çeşitli fenotipik ve fizyolojik davranışlardan sorumlu genlerin transkripsiyonel düzenlenmesini koordine eden hücreler arası bir iletişim sistemidir (Chamkhi vd., 2020). Bakterinin türüne ve doğasına bağlı olarak, bu sistemin düzenleme modu belirli sinyal moleküllerini içerir (Wang vd., 2020). QS'in hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilerde mevcut olduğu ve bakteriyel enfeksiyonlarda sıklıkla QS sinyal moleküllerinin (QSSM'ler) önemli rol oynadığı bilinmektedir (Whiteley vd., 2017). QSSM'leri, çevreye yayılır ve ortamda belirli bir eşik konsantrasyona ulaştığında, bakterilerde spesifik genlerin ekspresyonu düzenlenir. Bunun sonucunda bakterilerde pigment üretimi, çeşitli virülans

faktörlerinin sentezi, endospor oluşumu, biyofilm formasyonu ve motilite gibi çeşitli davranışsal özelliklerin sentezi düzenlenir (Smith vd., 2006).

1.4.1 Quorum Sensing Sinyal Molekülleri

QSSM'ler, hücrel işlevleri etkilemek için hücrelere kolayca nüfuz edebilen, yağda çözünen küçük moleküllerdir (Kendall ve Sperandio, 2016). Sentezlenip salındıktan sonra bakteri hücrelerine pasif difüzyon veya aktif taşıma mekanizması ile girerler. Kullanılan QSSM'ler türler arasında farklılık gösterebilmektedir. Ancak genel olarak Gram-negatif bakteriler N-açıl-homoserin lakton (AHL) moleküllerini, Gram-pozitif bakteriler oligopeptit zincirlerini (AIP) kullanırlar. Ayrıca türe özgü olmayan başka bir otoindükleyici 2 (AI-2) sinyal molekülü daha vardır. Bu sinyal molekülü hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakteriler tarafından kullanılabilir (Wang vd., 2020).

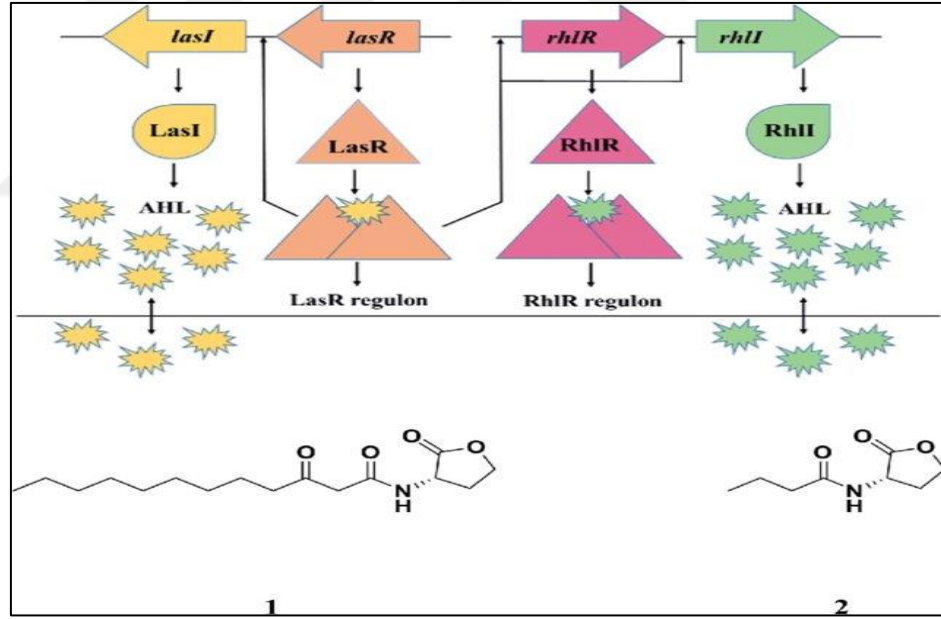
AHL molekülleri, açıl yan zincirinin uzunluğuna göre kısa (4-6 adet karbon sayısına sahip AHL molekülleri) veya uzun (10-18 adet karbon sayısına sahip AHL molekülleri) AHL molekülleri olarak sınıflandırılırlar. Bunun yanı sıra AHL molekülleri üçüncü karbon atomuna bağlı hidroksil ve okzo yapılarının varlığına göre çeşitlilik gösterir (Williams, 2007).

Tablo 1.1 Bakterilerin kullandıkları bazı sinyal molekülleri ve fonksiyonları

Mikroorganizma	Sinyal Molekülü	Etkisi	Kaynak
<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472	C12-HSL	Viyolasin pigment üretimi	(Morohoshi vd.,2008)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3OC12-HSL	Proteaz, ekzotoksin üretimi	(Kalia vd., 2015)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	C4-HSL	Piyosyanin pigmenti, elastaz, siderefor, rhamnlipit sentezi, swarming hareketi	(Kalia vd., 2015)
<i>Helicobacter pylori</i>	AI-2	Hareket	(Rader vd., 2007)
<i>Vibrio cholerae</i>	AI-2 ve CAI-1	Biyofilm formasyonu ve hareket	(Ng ve Bassler, 2009)

AI: Otoindükleyici; CAI: called cholera autoinducer-1 (kolera otoindükleyici-1 olarak adlandırılır)

Gram pozitif bakteriler ve Gram negatif bakteriler farklı QSSM'lere sahiptir. Gram-negatif bakterilerde genel sinyal molekülleri, N-açıl-homoserin laktonları (AHL), kinolonları, difüzyon sinyal faktörünü (DSF) ve (S)-3-hidroksi tetradekanoik-4-ketonları (CAI-1) içerir (Wang vd., 2020) (Şekil 1.6). Gram pozitif bakterilerin QS sinyal faktörleri esas olarak modifiye edilmiş oligopeptittir (otoindükleyici peptit AIP). Oligopeptitler, AHL'ler gibi hücre dışına salgılanabilir ve birikebilir, ancak ABC taşıyıcıları veya diğer kanal proteinlerinin yardımıyla gerçekleşir (Wang vd., 2020). Ayrıca türe özgü olmayan başka bir otomatik indükleyici 2 (AI-2) türü daha vardır. Hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilerde tür içi ve türler arası iletişim için kullanılır (Wang vd., 2020). *Bacillus cereus*'ta virülans faktörü üretimi, *Bacillus subtilis*'te biyofilm oluşumu ve *Enterococcus faecalis*'te plazmid transferi gibi Gram pozitif bakteriyel QS sistemlerinin çeşitli işlevleri bildirilmiştir (Duanis-Assaf vd., 2016).



Şekil 1.6 *Pseudomonas aeruginosa*'da quorum sensing; AHL: asil homoserin lakton; 1: N-3-okso-dodekanoil homoserin lakton (3OC12-HSL); 2: N-bütanoil-L-homoserin lakton (C4-HSL) (Shah vd., 2019).

1.4.2 Quorum Sensing Mekanizması

Gram negatif bakteriler QS sisteminde LuxI/LuxR benzeri bir sistemi kullanmaktadır. Bu sistem ilk olarak *Vibrio fischeri*'de keşfedilmiş olup biyoluminesan üretiminde rol oynamaktadır. AHL molekülü *luxI* gen ürünü olan

LuxI enzimi tarafından sentezlenir, hücre dışına salınır ve ortamda birikmeye başlar. Artan bakteri yoğunluğu ile birlikte ortamda bir eşik değerine ulaşan sinyal molekülleri çevredeki bakterilerce algılanmaya başlar. Bakteri hücrelerine pasif difüzyon ile giren sinyal molekülleri LuxR reseptörüne bağlanır. Oluşan sinyal-reseptör kompleksi ilgili genlerin operonlarının promotoruna bağlanarak gen ekspresyonunu regüle eder (Gonzalez ve Keshavan, 2006).

Gram-pozitif bakteriler QS sisteminde oligopeptid sistemini kullanır. Sentezlendikten sonra aktif taşıma sistemi ile hücre dışına salgılanan oligopeptid sinyal molekülleri, belli bir yoğunluğa ulaştıktan sonra bakterilerin sitoplazma membranında bulunan özgül reseptörlerce algılanır. Sinyal-reseptör kompleksi, hücre içi fosforilasyon zincirini başlatır ve bunun sonucunda transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu ile ilgili genin ekspresyonu gerçekleşir (Monnet ve Gardan, 2015).

Hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakteri tarafından kullanılabilen AI-2 sinyalleri ise LuxP/Q benzeri bir sistem kullanmaktadır. Ortamda eşik değere ulaşan AI-2 sinyal molekülleri bakterilerin periplazmik aralığında bulunan LuxP reseptörüne bağlanır. Bu bağlanma sitoplazma membranında bulunan LuxQ proteinini aktive eder. Bunun sonucunda yukarıda anlatıldığı gibi hücre içi fosforilasyon zinciri başlar ve sonuç olarak ilgili genin ekspresyonu regüle edilir (Guo vd., 2013).

QS, bakterilerde sporulasyon, konjugasyon, biyofilm oluşumu ve patojenik tepkiler gibi çeşitli süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Prazdnova vd., 2022). Birçok bakteride QS sistemi virülans faktörlerinin sentezini ve popülasyon yoğunluğunu konağın savunma mekanizmalarının üstesinden gelmek için yeterli hale gelene kadar geciktirerek konakçı bağışık yanıtından kaçır. Bakteri genomunun (%4-10) ve proteomunun (\geq %20) önemli bir bölümünün QS sinyalleşme süreçlerinden etkilendiği bilinmektedir (Deep vd., 2011).

1.4.3 Quorum Sensing Sisteminin İnhibisyonu

Bakterilerde QS sistemi aşağıda açıklanan yollar ile inhibe olabilir: (Moradi ve Hadi, 2021; Weiland-Bräuer, 2021).

- Sinyal moleküllerinin sentezinin önlenmesi veya durdurulması,
- Sinyal moleküllerinin inaktivasyonu veya enzimatik yıkımı, bir eşik değerde birikiminin önlenmesi, enzimatik bozunma [Quorum Quenching (QQ) olarak da anılır],
- Sinyal moleküllerinin bakteri hücresindeki reseptörlerine bağlanmasının engellenmesi veya sinyal moleküllerinin reseptör analogları ile rekabet etmesi,
- QS sinyali tarafından etkilenmesi gereken hedef genlerin bloke edilmesi.

QS inhibitörlerine yanıt, QS moleküllerinin yoğunluğuna bağlı olabilmektedir. Örnek verilecek olursa naringenin (bir tür flavonoid), 3OC₁₂-HSL ile zamana bağlı bir rekabet modeliyle LasR regülatörüne bağlanarak *P. aeruginosa*'nın QS yanıtını baskılar. Buna göre, *P. aeruginosa* popülasyonları düşük miktarlarda (buna bağlı olarak düşük 3OC₁₂-HSL konsantrasyonu) olduğunda, naringenin yeni oluşan LasR'ye bağlanarak 3OC₁₂-HSL'ye bağlı aktivasyonu engelleyebilir. Bununla birlikte, yüksek bir 3OC₁₂-HSL birikimi sergileyen yoğun *P. aeruginosa* popülasyonunda, naringenin tarafından QS yanıtının inhibisyonu gerçekleştirilemez. Zamana bağlı olan bu inhibisyon modeline göre, bu flavonoidin bir QS inhibitörü olarak etkinliğinin değişken olduğu söylenebilir (Costerton, 2001; Winstanley vd., 2016).

Çoğunlukla, bakteriler, AHL laktonaz gibi QS sinyallerine karşı aktif enzimler üretirler (Tong vd., 2015). Bakterilerin quorum quenching (QQ) mekanizmaları doğal bir mekanizma olarak kabul edilmiştir ve bu mekanizmaları geliştirmelerinin nedenleri arasında rakiplerine karşı düşmanlık mekanizmasının olması, kaynakların verimli kullanılması ve QS sinyallerinin kontrol ettiği süreçlerin düzenlenmesi sayılabilir (Weiland-Bräuer, 2021). Patojenite faktörlerinin, antibiyotik direncinin ve bakterilerin diğer temel özelliklerinin ortaya çıkması, QS sistemlerinin çalışmasına bağlı olduğundan, onları tedavinin hedefi haline getirmek umut verici bir yaklaşım gibi görünmektedir (Deep vd., 2011). Yapılan bir çalışma, QS'in patojenik bakteriler

tarafından yalnızca virülans faktörlerinin üretimini kontrol etmek için değil, aynı zamanda toplulukta yaşam için metabolik ihtiyaçlara uyum sağlamak amacıyla kullanılan bir mekanizma olduğunu da göstermiştir (Deep vd., 2011). QS'e müdahale ile virülans faktörü üretiminin inhibisyonu, *P. aeruginosa* gibi patojenik bakterilerin patojenitesini ve virülansını düzenlemek için büyümeyi durduraktan daha iyi bir yaklaşım olabilir (Husain vd., 2017; Ghosh vd., 2019). QS inhibitörleri, sinerjistik aktivite uygulayarak kombine halinde kullanıldığında antibiyotiklerin etkinliğini de artırabilir (Vipin vd., 2020). Literatürde QS inhibitörü olduğu bilinen birçok bileşik bulunmaktadır. Ancak çoğu toksik etkisinden dolayı insan kullanımına uygun değildir (Nain vd., 2020). Hem *P. aeruginosa* PAO1 hem de *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472, bir maddenin QS inhibitör etkinliğini araştırmak için yaygın olarak kullanılan biyoindikatör bakterilerdir.

1.4.4 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1

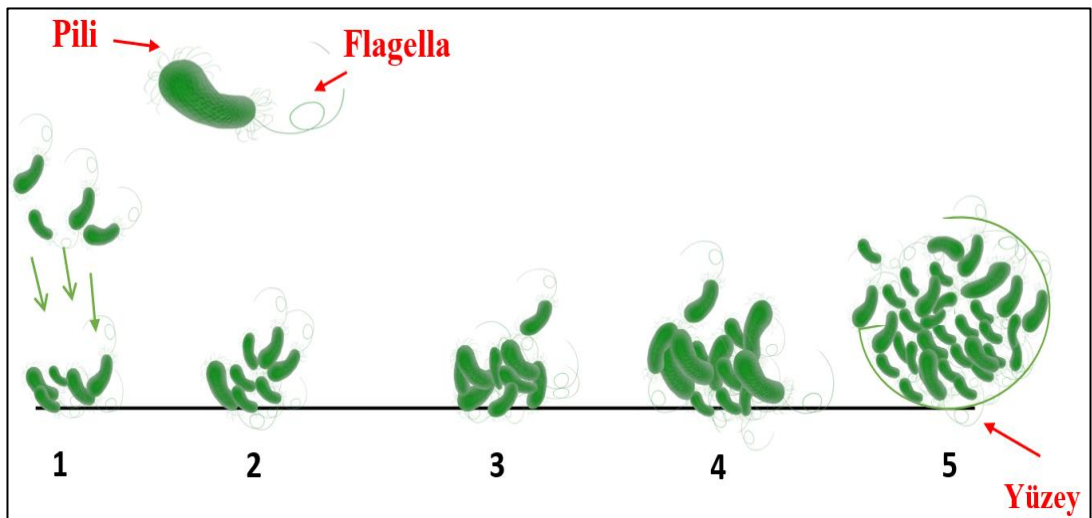
Çubuk şeklinde bir bakteri olan *P. aeruginosa*, insanlarda, hayvanlarda ve bitkilerde enfeksiyonlara neden olabilen Gram negatif bir bakteri türüdür (Anju vd., 2021). Bu bakteri ile ilgili en büyük zorluk, antimikrobiyal direnç (AMR) geliştirme ve biyofilm oluşturma konusundaki yüksek yeteneğinden kaynaklanır ve kistik fibröz hastaların morbidite ve mortalitesinden sorumludur. Böylece ciddi sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonların (HAI) ana nedenlerinden biri haline gelir ve tüm dünyada hastane enfeksiyonlarına neden olur (O'Loughlin vd., 2013; Hao vd., 2021; Shaker vd Al-Hadrawi, 2021). Bu bakteri hem doğal hem de kazanılmış mekanizmalar yoluyla antimikrobiyal direnç (AMR) geliştirme yeteneğine sahiptir (Maraolo vd., 2020). *Pseudomonas aeruginosa*, COVID-19'un neden oldukları da içinde olmak üzere kronik obstrüktif akciğer hastalığı (COPD), kistik fibroz, kanser, travmalar, yanıklar, sepsis ve ventilatörle ilişkili pnömoni (VAP) olan bağışıklığı baskılanmış kişilerde akut veya kronik enfeksiyona neden olur (Gascón ve Serra, 2021; Rossi vd., 2021). Bu bakteri, enfeksiyona katkıda bulunan ve hastalığa neden olan çeşitli virülans faktörlerini salgılayarak konakçılardaki olumsuz çevreye uyum sağlayabilir (Vidaillac ve Chotirmall, 2021). Bu bakterilerin virülans faktörleri proteazlar, elastaz, eksotoksinler, ramnolipidler, piyosiyenin, hidrojen siyanür, oksidatif stres, antibiyotik direnci, hareketlilik ve biyofilm oluşumudur. Ayrıca QS sistemleri, insanlarda ve hayvanlarda bağışıklık yanıtı kaçışını düzenler (Kostylev vd., 2019).

P. aeruginosa'daki QS, dört fonksiyonel QS sistemi ile temsil edilir, bunlardan ikisine Las ve Rhl olarak bilinen N-asilhomoserin laktonlar (HSL) aracılık eder. Diğer ikisine sırasıyla Pqs ve Iqs sistemleri adı verilen kinolonlar ve karbaldehit aracılık eder (Ahator ve Zhang, 2019). Las sisteminde, LasI sinyal molekülü N-(3-oksododekanoil)-1-homoserin laktonu (3-O-C12-HSL) sentezler. LasR, 3-O-C12-HSL'ye bağlanır ve bir transkripsiyonel aktivatör olarak işlev görür. Rhl sisteminde RhII, RhIR ile birlikte QS ile ilgili ikinci bir gen grubunun ekspresyonunu aktive eden C4-homoserin laktonu (C4-AHL) sentezler. Las sistemi, rhl sistemini pozitif olarak düzenler. *P. aeruginosa* genlerinin yaklaşık %6'sı AHL tabanlı QS sistemleri tarafından düzenlenir (Wagner vd., 2008; Broniewski vd., 2021). Virülans faktörlerinin gen transkripsiyonunu aktive eden ilk set lasI/lasR; bu bakteride virülans genlerinin ekspresyonunu artırabilen alkalın proteaz, eksotoksin A ve elastaz, RhIR, kitinaz, siyanür, piyosiyenin ve diğer genler gibi çok sayıda genin ifadesini düzenleyebilen bir transkripsiyonel düzenleyicidir (Nadal Jimenez vd., 2012). *Pseudomonas* kinolon sinyali (PQS), yakın zamanda keşfedilen ve *P. aeruginosa* için üçüncü QS sistemidir. Aslında QS yanıtının bozulmasının, *P. aeruginosa* virülansını azalttığı (Diggle vd., 2007; Tan vd., 1999) ve biyofilm oluşumunu bozduğu açıklanmıştır (Wagner vd., 2008).

Kinolon sinyal sisteminin bu sinyal molekülü, suda çözünmez ve antibakteriyel aktiviteye sahiptir (Farrow III ve Pesci, 2007). PQS, bakteri yoğunluğunun düzenlenmesinde ve virülans faktörlerinin salınmasında rol oynar. Yukarıdaki üç QS sistemine ek olarak, başka bir *P. aeruginosa* QS yardımcı sistemi olan GacS/GacA sisteminin yakın zamanda keşfedildiği ve bakterilerin bulaşma kabiliyetini geliştirmede, teobromin sodyum asetatı serbest bırakmada ve biyofilm oluşumunu teşvik etmede önemli roller oynadığı da rapor edilmiştir (Kaler vd., 2021; Ventre vd., 2006; Xuan vd., 2022). *P. aeruginosa* PAO1, sırasıyla kısa zincirli C4-AHL molekülleri aracılığıyla rhl sistemi ve çeşitli sinyal molekülleri aracılığıyla las, rhl, pqs ve entegre QS sistemleri kullanarak piyosiyenin pigment sentezini, yayılma hareketliliğini ve biyofilm oluşumunu düzenler (Tapia-Rodriguez vd, 2019; Vetrivel vd., 2021).

1.4.4.1 Biyofilm oluşumu

Biyofilmler, hücre dışı polimerik maddeler (EPS) ile biyotik veya abiyotik yüzeylere geri dönüşümsüz olarak yapışan karmaşık yapıları bakteri topluluklarıdır (Vettrivel vd., 2021). Bu biyofilmler, birçok doğal ve antropojenik sistemde temel bir kolonizasyon mekanizmasını temsil eden, bakterilere yapısal stabilite veya koruma ve besinlere daha fazla erişim sağlar (Huang vd., 2019). Ek olarak, bakteri hücrelerinin konağın bağışıklık tepkisinden kaçmasına izin verir, kollateral hasarı artırır ve geleneksel antimikrobiyal ajanlara (antibiyotikler) karşı kazanılmış direnç yaygınlığını artırır (Vestby vd., 2020). Biyofilm oluşumu beş aşamada görülür; 1) Yapıştırma aşaması; ilk aşamada, serbest yaşayan bakteriler (planktonik hücreler olarak da adlandırılır), asit-baz ve hidrofobik gibi zayıf etkileşimler yoluyla biyotik veya abiyotik yüzeylere geri dönüşümlü olarak bağlanır, 2) Kolonizasyon aşaması; bakteriler, kollajen bağlayıcı yapışkan proteinler, lipopolisakaritler, flagella ve pili gibi daha güçlü etkileşimler yoluyla yüzeye geri dönüşümsüz olarak bağlanır, 3) Çoğalma aşaması; çok katmanlı bakteri hücreleri derin bir şekilde birikerek muazzam miktarda EPS (Ekzopolisakarit veya ekstraselüler polimerik madde) üretir, 4) Olgunlaşma aşaması; tipik 3D biyofilm yapısı ile olgunlaşmış biyofilm içinde çoğalan çok katmanlı bakteri hücreleri vardır, 5) Dispersiyon aşaması; biyofilmin tamamen gelişmesinden sonra, mekanik ve aktif işlemler kullanılarak demonte edilir veya dağıtılır (Yin vd., 2019) (Şekil 1.7).

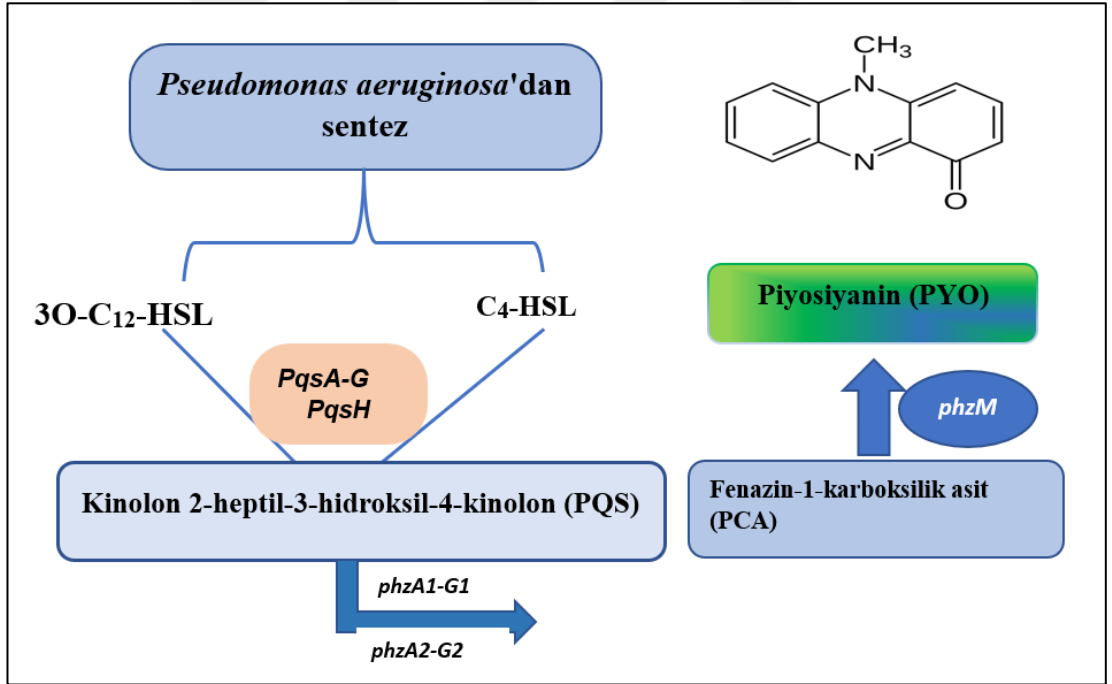


Şekil 1.7 Yüzeylerde biyofilm oluşumunu gösteren şematik diyagram

P. aeruginosa' da biyofilmler sıklıkla kronik enfeksiyonlarla ilişkilidir. QS sistemi tarafından düzenlenen siyanür, ramnolipidler, elastaz, piyosiyenin ve sideroforlar gibi hücre dışı moleküller içerir (Ghosh vd., 2019; Brindhadevi vd., 2020; Das ve Gezici, 2018). Yukarıda sayılan tüm nedenlerden dolayı günümüzde *P. aeruginosa*'nın QS sistemini bloke ederek mücadele etmek gerekli hale gelmiştir.

1.4.4.2 Piyosiyenin üretimi

P. aeruginosa ikincil metabolit olarak fenazin grubundan türetilen hücre dışı bir pigment olan piyosiyenin ile konakçı hücrelerde ROS stresi üreterek doğrudan DNA'ya zarar verir (Gonçalves ve Vasconcelos, 2021). Nitrojen ($C_{13}H_{10}N_2O$) içerdiğinden, suda çözünebilen bir pigmenttir (Alatraktchi vd., 2020; Rani vd., 2018) (Şekil 1.8).



Şekil 1.8 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1'de piyosiyenin biyosentezi (Sheet vd., 2019).

1.4.4.3 Swarming hareketi (yayılma hareketi)

Swarming hareketi (yayılma), *P. aeruginosa*'nın yüzeylere yapışmasında, biyofilm oluşumunda ve enfeksiyon başlangıcında önemli bir rol oynamaktadır (Khan vd.,

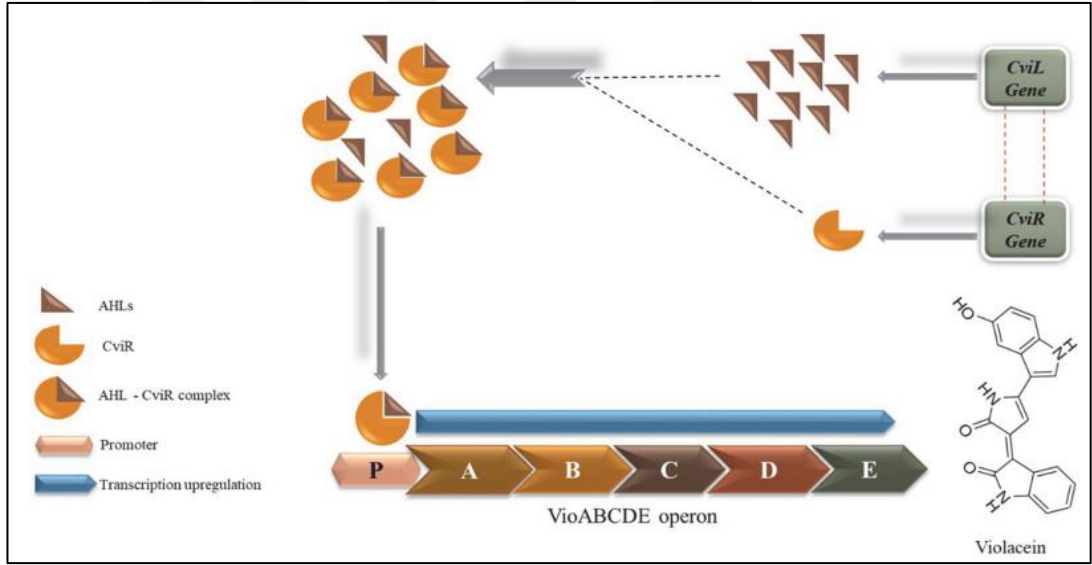
2020). Bu hareket, bakterileri yarı katı bir yüzey boyunca koordine eden spesifik bir bakteri popülasyon hareketi türüdür. Yüzme hareketliliği (swimming) ise tek hücreli bir harekettir ve bir bakteri hücresinin bir kutbunda kamçı gerektirir (Sun vd., 2018). *P. aeruginosa*, çevresel koşullara ve beslenme gereksinimlerine göre her iki tür motiliteyi de yapabilmektedir (Schniederberend vd., 2019). *P. aeruginosa*'da yayılma hareketi, Rhl ve Las quorum sensing (QS) sistemlerine dayanan yeter sayı bağımlı hareketlilik (Kohler vd., 2000). Yarı katı yüzeylerde yer değiştirme, bakterilerin yüzey üzerinde hareketini kolaylaştırmak için bazı maddelerin salgılanmasını gerektirir (Patrick vd Kearns, 2012).

P. aeruginosa'da bu maddeler sırasıyla RhlA, RhlB ve RhlC enzimleri tarafından üretilen 3-(3-hidroksialkanoiloksi) alkanonik asitler (HAA), mono-rhamnolipidler ve dirhamnolipidler (Deziel vd., 2003). HAA'lar ve rhamnolipidler, yalnızca yayılma hareketliliği sırasında yüzey boyunca yayılan bakterileri desteklemekle kalmaz, aynı zamanda *P. aeruginosa* tarafından sıklıkla görüntülenen karakteristik dendritik yayılma modelini de indüklemektedir (Lai vd., 2009). HAA'lar ramnoz parçalarına sahip değildir, bu nedenle mono ve dirhamnolipidlerden daha hidrofobiktirler. Bu kimyasal özelliğinden dolayı, ramnoz taşıyan muadillerine kıyasla, sürü ortamında daha az yayılırlar ve koloniden uzaklaştıkça artan bir gradyan oranı yaratırlar (Tremblay vd., 2007).

1.4.5 *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472

C. violaceum ATCC 12472 suşu, vio-operon aracılığıyla QS düzenlemesi altında viyolasin üretme kabiliyeti ile bilinmektedir (Choi vd., 2020). Viyolasin, koyu mor renkli bir indol türevi ajandır. Viyolasin üretimi QS ve dolayısıyla biyofilm oluşumu için gereklidir (Kanelli vd., 2018). Viyolasin pigment üretimi, QS tarafından kontrol edilir. Ayrıca Gram-negatif bir fırsatçı olarak *C. violaceum*, QS araştırmaları için yaygın olarak kullanılan bir bakteri türüdür ve QS sistemi bozulduğunda virülans faktörlerinin salgılanmasındaki azalmayı tespit etmeye de adaydır (Rivera vd., 2019). *C. violaceum*'da QS sistemi, N-heksanoil-L-homoserin lakton (C6-AHL) oto-indükleyiciye yanıt olarak etkinleştirilen bir LuxI/R homolog sistemi olan CviI/R'den oluşmaktadır (Tarighi ve Taheri, 2011; Papenfort ve Bassler, 2016). Başka bir ifadeyle *C. violaceum*'da QS sistemi, AHL sentaz ve AHL reseptörü biyomolekülleri

olarak CviI/CviR'ye sahiptir. Çalışmalar, QS CviI'nin, CviR ile bağlanan C6-HSL'yi sentezleyerek vio-operonun (vioA, vioB, vioC, VioD ve VioE) düzenlenmesine yol açtığını göstermiştir (Lal vd., 2021). Bu suş, CviIR adlı bir LuxIR sistemine sahiptir ve C9, C10, C11, 3-OH-C10, 3-OH-C11, 3O-C10 ve 3OC12 HSL gibi çok sayıda sinyal molekülünü kullanmaktadır (Mion vd., 2021). QS, *C. violaceum*'da viyolasin üretimi, biyofilm oluşumu, kitinolitik aktivite, siyanür ve elastaz üretimi gibi çeşitli fenotipleri düzenlemektedir (Kothari vd., 2017). *C. violaceum* ATCC 12472 suşu, uzun zincirli (C10-C16) HSL molekülleri aracılığıyla Cvi sistemini kullanarak viyolasin pigmenti üretmektedir (Morohoshi vd., 2010). Herhangi bir bakteriyel inhibisyon olmaksızın bu patojen tarafından viyolasin üretimini önleyen Quorum sensing inhibitörleri (QSI'ler), antibiyotik kullanımına kıyasla daha düşük bir direnç geliştirme riskiyle bakteriyel patojeniteyi azaltma yeteneğine sahiptir (Mu vd., 2020; Quecan vd., 2019) (Şekil 1.9).



Şekil 1.9 *C. violaceum*'da Quorum sensing sistemi

1.5 Kanser

Kanser küresel bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Özellikle meme, akciğer, kolon, rektum ve prostat kanserleri en sık görülen kanser türleridir (WOH 2022). 2020 yılında yaklaşık 10 milyon insanın ölümüne neden olduğu bildirilmiş olup dünya çapında önemli ölüm nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Ferlay vd., 2021). Kanser gelişimi, kronik enfeksiyon, yaşlanma, nüfus artışı, çevre kirliliği,

alkol ve tütün kullanımı, stres ve sağlıklı beslenmeye atfedilmektedir (Taniguchi ve Karin, 2018). Oksidatif stres, hipoksi, genetik mutasyonlar ve apoptotik fonksiyon eksikliği, kanserin ana nedenleridir (Blackadar, 2016). Kanser, hücrelerin mutasyonlar sonucu çoğalıp farklılaşması ve anormal hücre yayılımının olmasıyla ortaya çıkan ölümcül bir hastalıktır. Karsinomlar, kanserlerin %85'ini oluşturmaktadır ve bezler, cilt ve ürogenital dokulardan (prostat, serviks gibi) kaynaklanmaktadır (Chakraborty vd., 2018). Kanser vücudun belirli bir organında veya bir bölümünde ortaya çıkmak zorunda değildir ve cildi, kemiği, kan damarlarını, kasları, akciğerleri, böbrekleri ve hatta bağışıklık sistemini etkileyebilmektedir (Seyfried ve Huysentruyt, 2013). Ortaya çıktıkları hücre tipine göre kategorize edilebilecek birçok kanser türü vardır (Fathima, 2022);

- Karsinom; vücudun iç ve dış kısmını ve organları kaplayan hücrelerde oluşan bir kanser türüdür. Bu hücelere epitel hücreleri denir. Epidermin epitel, bazal tabakasını ve skuamöz hücreleri etkilemektedir.
- Sarkom; kemik hücrelerinde, kas, yağ, kan damarları gibi yumuşak dokularda, fibröz dokularda ve lenf düğümlerinde oluşan bir kanser türüdür.
- Lösemi; kanı oluşturan hücrelerde oluşan bir kanser türüdür. Esas olarak kemik iliğinde ve kanda oluşur. Lösemi akut, kronik, lenfoblastik ve miyeloid olarak sınıflandırılabilir.
- Lenfoma; T ve B hücre tiplerinde ortaya çıkan bir kanser türüdür. Kanserli lenfositler, lenf düğümlerinde ve lenf damarlarında gelişmektedir.
- Multipl myeloma; lenfatik sistemin plazma hücrelerinde oluşan bir kanser türüdür. Bu hücreler kemik iliğinde ve kemiklerde gelişmektedir.
- Melanom; melanositlerde ortaya çıkan bir kanser türüdür. Çoğunlukla ciltte ve vücudun diğer pigmentli bölgelerinde oluşmaktadır.
- Germ hücre tümörü; sperm ve yumurta gibi germ hücrelerini oluşturan hücrelerde oluşur.

Anormal protein üretimi, kusurlu hücre-hücre etkileşimi sonucunda kanser hücresi morfolojisi değişmeye başlamaktadır. Atrofi, hücre boyutunda bir azalma anlamına gelmekte ve hatta apoptoza yol açmaktadır. Hipertrofi, hücresel bileşenlerin genişlemesi nedeniyle hücre boyutunda veya hücre hacminde bir artışa yol açmaktadır. Hiperplazi, artan hücre proliferasyonu nedeniyle hücre sayısının arttığı, bu durumda displazi hücre yapısının anormal hale geldiği ve metaplazi olduğu bir durumdur (Miller ve Zachary, 2017). Kanser gelişimi, genetik değişikliklerle başlayan ve anormal hücre proliferasyonu ile devam eden çok aşamalı bir süreçtir. Karsinogenez, onkogenlerin aktivasyonu (hücre büyümesinin indüksiyonu) ile sıkı bir şekilde ilişkilidir ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu (hücre büyümesinin baskılanması), hücre döngüsü ilerlemesinin kontrolünün kaybıyla sonuçlanmaktadır (Cooper vd., 2013; Sarkar vd., 2013).

Kanser, tümörün boyutuna, kanserin başladığı bölgeye ve ilerlemesine bağlı olarak dört evrede sınıflandırılmaktadır; a) Evre 0, kanser öncesi bir aşamadır, yani kanserin başladığı evredir. b) Evre 1, başladığı organın dışında büyüyen ancak bu aşamada derinden büyüyen küçük kanser veya tümördür. c) Evre 2 ve 3'te kanserler yakındaki dokulara büyümüş ve hatta lenf düğümlerine yayılmış olabilmektedir, d) 4. evrede kanser lenfatik sistem veya kan yoluyla vücudun diğer bölgelerine yayılmıştır. Bu aşamada, kanser metastazı olarak adlandırılmaktadır (Patel ve West, 2020). Başlama aşamasını, hücrelerdeki aditif mutasyonla ilgili ilerleme takip eder. Bazıları daha da hızlı büyüme ve kanser hücresi ölümünün baskılanması ile ilgilidir. Bu değişikliklerin bir sonucu olarak, olgun epitelyal kanser hücreleri epitelyal-mezenkimal geçişe (EMT) uğrayabilmektedir. Bu, hücreler arasındaki yapışmanın azalması ve hücre hareketliliğinin artması ile karakterize edilmektedir. Son olarak, tümör invazyonu ve metastaz meydana gelmekte ve bunlar sıkı bir şekilde anjiyogenez, yani yeni kan damarı oluşum süreci ile ilgilidir (Cooper vd., 2013; Sarkar vd., 2013).

1.5.1 Kanser Tedavisi

Kanseri önlemek için çok hücreli organizmaların doku ve organlarındaki normal hücre sayısı korunmalıdır. Hücre sayısının dengesi, yeni hücrelerin gelişimi ve sabit bir ölüm oranı ile sağlanmaktadır (Dinç vd., 2022). Kanser hayatı tehdit eden bir hastalıktır ve dikkatli olunması gerekmektedir. Ciddi komplikasyonlardan kaçınmak

için mümkün olan en kısa sürede çıkarılmalıdır. Hastanın hayatta kalması için kanser tedavisi yapılması gerekmektedir. Ayrıca normal hücelere benzer oldukları için kanser hücelerini ilk aşamada teşhis etmek zordur (Fathima, 2022). Kanser tedavisinde kemoterapi, cerrahi, hedefe yönelik tedavi, hormonal tedavi ve immün terapi gibi çeşitli yöntemler bulunmaktadır (DeSantis vd., 2019). Bilim dünyasında etkili ve yeni antikanser bileşiklerinin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar tüm hızıyla devam etse de ne yazık ki günümüzde hala kanserin kesin bir tedavisi bulunmamaktadır (Nature 2022). Bunun yanı sıra kemoterapötikler başta olmak üzere bazı tedavi yöntemlerinin çeşitli yan etkileri ve komplikasyonları ile karşılaşılabilmektedir (National Cancer Institute).

Günümüzde kanser tedavisinde en sık kullanılan kimyasal tedavi, hızla büyüyen hüceleri öldürmeyi hedefleyen ilaçları içermektedir. Çoğunlukla farklı hücre döngüsü aşamalarındaki hüceleri hedeflemektedirler (Åvall Lundqvist vd., 2015). Bu ilaçların kanser hücresi üzerinde toksik etkiye sahipken güçlü bir antiproliferatif etkiye de sahip oldukları belirtilmektedir. Hem normal hücelere hem de kanser hücelere saldırmaktadırlar. Sağlıklı hücelere üzerinde toksik etkiye sahiptirler ve etkilenen sağlıklı hücelere birlikte organların yıkımına sebep olmaktadır. Antikanser ilaçların bu istenmeyen yan etkileri ölümle sonuçlanabilmektedir (Dickens ve Ahmed, 2018). Kanser tedavisinin başarısız olmasının ana nedenleri metastaz, nüks, heterojenite, kemoterapi ve radyoterapiye direnç ve immünolojik sürveyanstan kaçınmadır (Batlle ve Clevers, 2017). Normal hücelerin kötü huylu hücelere dönüşmesi, her adımda sayısız faktör tarafından düzenlenen karmaşık bir süreçtir ve her biri antikanser ajanlar için çok önemli bir hedef olabilmektedir (Sarkar vd., 2013). Tıbbi bitkiler, kimyasal içerikleri sayesinde etkili antikanser bileşiklerinin geliştirilmesi için muazzam kaynaklar olabilir. Bu nedenle endemik bitkilerin antikanser özelliklerinin araştırılması ve sonuçlarının literatüre kazandırılması önem arz etmektedir.

1.5.2 Kanser Çoklu İlaç Direnci

Birçok hasta, çoklu ilaç direncinin (MDR) gelişmesi nedeniyle kemoterapiden sonra sıklıkla kanser nüksü yaşamaktadır. Bu kanser tedavisinin en önemli engellerinden biridir (Bugde vd., 2017). MDR, farklı kimyasal yapılar ve farklı etki mekanizmaları

ile karakterize edilen, mikroorganizmaların ve kanser hücrelerinin kemoterapi ilaçlarına karşı bir tür kazanılmış direncidir (Thomas ve Tampé, 2020). Kanser kemoterapisi uygulanan hastalarda tedavide kullanılan antikanser ilaçlarına direnç belirlenmiştir. İlerlemiş kanserli hastaların %90'ından fazlasında ölüm nedeninin kemorezistans olduğu düşünülmektedir (Mansoori vd., 2017). Çoklu ilaç direnci (MDR), hastalığın kontrolü ve tümörlerin inhibisyonu için bir engel olarak kabul edilebilir (Mehrgou vd., 2021). MDR, kanser mortalitesinin baskın bir nedeni olarak kabul edilir. Artan ilaç akışı, genetik faktörler, büyüme faktörleri, ksenobiyotiklerin artan metabolizması ve artan DNA onarımı gibi çeşitli faktörler MDR'ye yol açabilir (Bukowski vd., 2020). Kemoterapötik ilaçların, kanser hücrelerinin yanı sıra normal hücrelere de sitotoksik etki göstermesi ve bununla birlikte etkilenen sağlıklı organların yıkımına neden olması ciddi bir sorundur. Bu nedenle kanserle mücadelede daha güvenilir ve etkili materyallerin bulunması veya geliştirilmesi elzemdir (Can vd., 2020; Celik Altunoglu vd., 2022; Sharif vd., 2021). Doğal bileşiklerin meme kanserinde kemoterapötik olarak kullanılacak potansiyelde antikanser etkileri olabilir (Noel vd., 2020).

1.5.3 Meme Kanseri

Meme ve servikal kanserleri, dünya genelinde insanlar arasında en sık görülen kanser türleri arasındadır (Rawat ve Reddy, 2022). Kadın meme kanseri (BC), dünya genelinde en sık tanısı konulan malignitedir ve kanser sebebiyle ölümlerin başta gelen nedenlerinden biridir; sadece 2020'de tahmini 2.26 milyon yeni vaka ve 680.000 ölüm kaydedilmiştir (Sung vd., 2021). Meme kanserinin tanımlanan fenotipleri alt türleri; alüminalı ER pozitif, HER2 ile zenginleştirilmiş ve bazal benzeri olarak ayrılmıştır. Gen ekspresyon analizine dayalı olarak farklı fenotiplere sahip heterojen bir hastalıktır (Al-Thoubaity, 2020). Meme kanseri, meme kaynaklı hücrelerin genetik ve epigenetik faktörlere bağlı olarak kontrolsüz büyümesi ve çoğalması sonucu ortaya çıkar (Byler vd., 2014). Memenin çeşitli bölümleri meme kanserine yakalanabilir. Meme kanserlerinin çoğu areolaya yayılmadan önce süt kanallarında başlar (Lewis vd., 2017).

Meme kanserinde standart müdahale yaklaşımı, cerrahi, adjuvan tedaviler, kemoterapi, hormon tedavisi ve radyoterapiyi içerir (Serletti vd., 2011). Oldukça iyi

bir prognoza rağmen, kanser teşhisi ve tedavileri, hastaların ve hayatta kalanların yaşam kalitesini etkileyen hem fiziksel hem de psikolojik uzun vadeli olumsuz yan etkilere sebep olmaktadır (Ahmad vd., 2015; Williams ve Jeanetta, 2016). Meme kanseri, hormon reseptörü pozitif, insan epidermal büyüme faktörü 2 reseptörü (HER2/neu) pozitif ve üçlü negatif meme kanseri (TNBC) olarak sınıflandırılır (Wang vd., 2018).

1.5.3.1 MDA-MB-231 hücre hattı

MDA-MB-231 hücreleri, aynı zamanda üçlü negatif meme kanseri (TNBC) olarak da isimlendirilir ve meme kanserinin agresif bir alt tipidir. Östrojen (östrojen reseptörü (ER-negatif) ve progesteron reseptörlerinin (progesteron reseptörü (PR-negatif) ekspresyonunun olmaması ve HER2-negatif aşırı ekspresyonunun ve/veya amplifikasyonunun olmaması ile tanımlanır (Godone vd., 2018). İlave olarak, son derece invaziv bir hücre kanseri tipi kabul edilir (ECACC 92020424). TNBC, tüm meme kanseri alt tiplerinin %10-15'ini oluşturur ve erken nüks, uzak metastaz ve daha kötü prognoz oranı ile daha genç premenopozal kadınlarda daha yüksek bir sıklığa sahiptir (Vagia vd., 2020). MDA-MB-231 hücre kanseri, oldukça agresif ve geleneksel endokrin tedavisine dirençli yetenekleri nedeniyle önemli bir klinik zorluğu temsil eder (Liu vd., 2016). MDA-MB-231 hücreleri, kanser ilerlemesi ile ilişkili temsili EMT'yi gösterir (Huang vd., 2020). Bu hücre hattı, zaten EMT'den geçmiş olan ve sıklıkla hücre göçü ve metastaz oluşumunu incelemek için kullanılan mezenkimal benzeri bir fenotipe sahip epitelyaldir (Ayama-Canden vd., 2022). EMT, epitelyal (E) hücrelerin mezenkimal (M) fenotipe geçişiyle sonuçlanır (Brabletz vd., 2018). Kanser progresyonunun başlangıç, primer tümör büyümesi, invazyon, yayılım ve metastazdan kolonizasyona kadar olan tüm aşamalarında ve tedaviye dirençte önemli rollere sahiptir (Nieto vd., 2016). Karsinom hücreleri, EMT sırasında embriyonik mezenkimal hücrelere benzer özellikler kazanarak daha hareketli, invaziv ve apoptoza dirençli hale gelir (Guarino vd., 2007).

1.5.3.2 MCF-7 hücre hattı

MCF-7 hücreleri, östrojen (ER+), progesteron (PR+) ve glukokortikoid (HER2-) reseptörü içeren bir insan meme kanseri hücre hattı çeşitidir. Hormona duyarlı ilk

meme kanseri hücre hattı tipidir (Camarillo vd., 2014). MCF-7 hücreleri EMT'ye tabi tutulmalıdır. Antikanser ilaç denemelerini de içermek üzere, dünya çapındaki meme kanseri çalışmalarında elverişli bir hücre hattı modeli olduğu kanıtlanmıştır (Shirazi vd., 2011). MCF-7, normalde düşük metastatik etkiye sebep olduğu düşünülen, zayıf agresif ve invaziv olmayan bir hücre hattı çeşitidir (Shirazi vd., 2011; Gest vd., 2013). Meme kanseri hücrelerinin gelişimi sadece ER ve PR tarafından değil, plazma membranı ile bağlantılı büyüme faktörü reseptörleri (EGFR) aracılığıyla da düzenlenir. Bu büyüme faktörü reseptörlerinin iki önemli üyesi, her ikisi de MCF-7 hücrelerinde yer alan epidermal büyüme faktörü (EGF) tarafından uyarılan epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2'dir (HER2). MCF-7 hücrelerinin ise orta seviyede EGFR sentezi yapan hücreler olduğu tahmin edilmektedir (Leung vd., 2014).

1.5.4 Servikal Kanser ve Tedavisi

Servikal kanser (Cervical cancer CC), dünya çapında dördüncü en yaygın kadın malignitesidir ve büyük bir küresel sağlık sorununu temsil etmektedir (Bray vd., 2018). CC'nin gelişimi, servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) lezyonları I ila III'ü ve ardından servikal karsinomu içeren aşamalı bir şekilde gerçekleşir (Cinghu vd., 2011). Skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom, tüm serviks kanserlerinin sırasıyla yaklaşık %70 ve %25'ini oluşturan en yaygın histolojik alt tiplerdir (Small Jr vd., 2017). İnsan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonu ile CC gelişimi arasında güçlü bir ilişki vardır. HPV enfeksiyonu, bugüne kadar CC gelişimi için tek bir faktör olarak kabul edilmektedir (Hang Zhang vd., 2021). Yüksek riskli HPV alt tipleri hemen hemen tüm serviks kanserlerine neden olur. HPV taraması ve aşı programları, hastalık önlemede etkili stratejilerdir (Crosbie vd., 2013). Dünya sağlık örgütü (DSÖ), CC'yi önlemek için HPV aşısını şiddetle tavsiye etmektedir. Hindistan Tıbbi Araştırma Konseyi (ICMR) alt komitesinin CC yönetimi için yayınladığı konsensus belgesine göre, birçok ülkede aşılardan kapsama çok düşük ve tarama da sınırlıdır (Arbyn vd., 2021). Servikal kanserin tedavisi esas olarak çevreye ve hastanın yaşına bağlıdır ve cerrahi, radyoterapi, kemoterapi, aşı ve diğer yöntemleri içeren kapsamlı tedavi yaygın olarak uygulanır (Li vd., 2016; Lim vd., 2016). Servikal kanserler için birinci basamak tedaviler cerrahi, immünoterapi, poliamin sentez inhibitörleri, bireysel mikro besin takviyesi, hormon tedavisi, kemoterapi ve radyoterapiden

oluşur; ancak, bu tedaviler aynı zamanda birçok yan etkiye sebep olmaktadır (Martinez-Torres vd., 2015).

1.5.4.1 Servikal kanser hücreleri (HeLa hücreleri)

HeLa hücreleri, bilimsel araştırmalarda ve uygulamalarda kullanılan ölümsüz, en eski ve en yaygın hücre hattı tipidir. 1951'de kanserden ölen bir hasta olan Henrietta Lacks'ten alınan rahim ağzı kanseri hücrelerinden köken almaktadır (Lyapun vd., 2019). Bu hücre tipi, diğer kanser hücreleriyle karşılaştırıldığında bile onlara göre anormal seviyede bir hızla çoğalır. HeLa hücreleri, bölünme sırasında aktif bir telomeraz enzimi çeşiti içerir. Bu enzim, yaşlanmadan ve nihai hücre ölümünden sorumlu olan telomerlerin ilerleyici kısalmasını engeller. HPV'ler, rahim ağzı kanserlerinde sıklıkla hücre DNA'ya entegre edilir. HeLa hücreleri hızlı bölünür ve kromozom sayıları, kanser gelişimi ve hücre kültürü aşamasında değişir (Hongbao, 2017). HeLa hücreleri içerisinde östradiol, östrojen ve östrojen reseptörleri de dahil olmak üzere cinsiyet steroid hormonları ve kersetin gibi östrojen benzeri bileşikler ve kanser azaltıcı özellikleri içerenler de bulunmak üzere çeşitli kanser çalışmalarında yer almıştır (Bulzomi vd., 2012).

1.6 Çalışma Amacı

- Bu tez çalışmasında, *Phlomodites moluccelloides* (Bunge) Salmaki türüne ait toprak üstü ve kök bölümlerinin metanol (MeOH) ve su (infüzyon) ekstraktlarının antimikrobiyal ve anti-quorum sensing etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.
- Bunun yanında, çalışma kapsamında ayrıca *P. moluccelloides*'in toprak üstü ve kök bölümlerinin metanol ve su ekstraktlarının meme kanseri hücre hatlarını temsil eden MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatlarına ve servikal kanseri temsil eden HeLa hücre hattına karşı antiproliferatif aktivitesini araştırmak amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Tıbbi bitkilerin ilaç yapımında kullanıldığı ile ilgili en eski yazılı belgeye, yaklaşık 5000 yıllık Nagpur'dan bir Sümer kil levhasında rastlanmıştır. Bazıları haşhaş, henbane ve mandrake gibi alkaloid olan 250'den fazla çeşitli bitkiye atıfta bulunan ilaç hazırlama için 12 tarif içerir (Kelly, 2009).

Lamiaceae'nin biyolojik uygulamaları, esas olarak farklı aktivitelere sahip uçucu yağlarından kaynaklanmaktadır. Uçucu yağların antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar, antiviral, analjezik, öksürük önleyici, antiastmatik, antipiretik (Çelik vd., 2021), antimikrobiyal (Rustaiyan ve Sadat, 2021), antiemetik, antifungal (Ouakouak vd., 2019), böcek öldürücü (*Aedes aegypti*'ye karşı) (Luz vd., 2020), antidiyabetik, antihipertansif (Carović-Stanko vd., 2016), antipruritik, dekonjestan (Dhayalan vd., 2015), antinosiseptif (Uritu vd., 2018), gaz giderici, antiromatizmal, antidepresan, nöroprotektif, kolinerjik (Andrade vd., 2018), yatıştırıcı, antiseptik, antiparaziter, antihelmintik, immün düzenleyici (Bekut vd., 2018), antialerjik (dos Santos vd., 2018), antianjiyogenik, anti-hepatotoksik (Cocan vd., 2018) ve antikanser (Mesquita vd., 2019) etkinliklere sahip olduğu bilinmektedir.

2.1 *Phlomis* ve *Eremostachys* Cinslerine Ait Antibakteriyel Çalışmalar

Literatür araştırmalarında, *Phlomis* türlerinin birçok etnobotanik kullanımının bulunduğu gözlenmiştir. Pekçok çalışmada, *Phlomis* cinsinin antimikrobiyal, antikanser, antioksidan ve antiinflamatuvar etki gibi önemli biyolojik etkilere sebep olduğu gösterilmiştir. Flavonoidler, monoterpenler, iridoid ve chrysoeriol glikozitler gibi esansiyel yağlar ve ikincil metabolitlere sahiptirler (Mohammadhosseini vd., 2019a). Birkaç *Eremostachys* türü üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar, alkaloidlerin, kumarinlerin, flavonoidlerin, fenil etanoid glikozitlerin (Delazar, 2005), iridoid glikozitlerin ve monoterpen glikozitlerin varlığını ortaya çıkarmıştır (Delazar vd., 2004).

Eremostachys molucelloides üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmada, topraküstü kısmından yeni iridoid glukozit bileşiklerinin varlığını, lamalbidik asit, bilinen altı

iridoid glukozit, 5-deoksisesamosit, 6 β -hidroksi-7 ile birlikte kolin tuzu olarak izole edilmiştir. İlave olarak epiloganin, lamalbide, shanzhiside metil ester, sesamoide ve 5-deoxypulchellose elde edilmiştir (Çalış vd., 2007).

Son araştırmalara göre, *Phlomoïdes* cinsine ait bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik etkileri de belirlenmiştir (Le vd., 2018).

Phlomoïdes labiosa'nın toprak üstü kısmı ve tohuma ait etil asetat ekstraktlarının *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Escherichia coli*'ye karşı antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu (p <0,05) ancak n-hexane (Hex) ekstraktlarının herhangi bir antibakteriyel etki göstermediği bildirilmiştir. Yalnızca toprak üstü kısmının DCM ekstraktı, anlamlı olarak (p<0.05) etkinlik göstermiştir (Mohammadi vd., 2022). Aynı cins ile yapılan başka bir çalışmada, *P. labiosa* (Bunge) ekstraktından elde edilen gümüş klorür nanopartiküllerin, *S. aureus*, *Bacillus cereus* ve *E. coli*'ye karşı önemli bir antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Arkani vd., 2022).

Daha önceki bir çalışmada Anjum ve Abbasi, *Phlomis bracteosa*'nın gümüş nanopartiküllerinin sulu ekstraktlarının yüksek fenolik içeriğine atfettikleri önemli bir antibakteriyel etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır (Anjum ve Abbasi, 2016). Bir *in vitro* çalışmada, *Phlomoïdes umbrosa* köklerinden elde edilen saflaştırılmış iridoidler, dikkate değer antioksidan ve sitotoksik aktiviteler göstermiştir (Le vd., 2019).

Başka bir çalışmada, *P. umbrosa*'dan elde edilen MeOH ve aseton ekstraktları, test edilen tüm mikrobiyal türlere karşı önemli antimikrobiyal özellikler sergilemiştir. Aseton ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin, metanol ekstraktından daha yüksek olduğu gözlenmiştir. *Bacillus megaterium*, aseton ve metanol özütleri tarafından test edilen bakteriler arasında en çok inhibe edilen tür olmuştur (Ku vd., 2010).

Önceki çalışmalar, *Eremostachys* cinsinin ikincil bileşiklerinin çeşitli biyolojik etkilere sahip olma potansiyelini göstermiştir. Örneğin, *Eremostachys laciniata* (L) Bunge'nin iridoid glikozitlerinin antibakteriyel etkileri olduğu bildirilmiştir (Modaressi vd., 2009).

Eremostachys laevigata Bunge bitkisine ait kök, gövde ve çiçek bölümlerinden elde edilen uçucu yağların antibakteriyel etkilerinin yüksek olduğu başka bir çalışmada gösterilmiştir (Esmaeili, 2012). Yapılan bir çalışmada *Eremostachys labiosa* Bunge'nin anti-leishmania, antikanser ve anti-inflamatuar aktivite açısından yüksek potansiyele sahip olduğu vurgulanmıştır (Rabe vd., 2014).

E. azerbaijanica Rech. F.'nin rizomlarının, diklorometan, n-heksan ve metanol ekstraktlarının sırasıyla antibakteriyel ve antioksidan aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir. Ayrıca, tüm ekstraktların A549 hücre hattına karşı sitotoksik aktivite sergilediği rapor edilmiştir. Ekstraktlardaki ana bileşikler olan yağ asitleri ve steroidlerin varlığı bu biyoaktivitelerden sorumlu tutulmuştur (Asnaashari vd., 2017).

Önceki çalışmalarda, *Eremostachys macrophylla* Montbret & Aucher ex Benth'in toprak üstü kısımlarının n-heksan, diklorometan ve metanol ekstraktlarının ve *E. azerbaijanica* rizomlarının metanol ekstraktlarının hiçbir antibakteriyel aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiştir (Asgharian vd., 2017; Asnaashari vd., 2017). Ancak, *E. azerbaijanica* rizomlarının diklorometan ve n-heksan ekstraktlarının *S. aureus* ve *S. epidermidis*'e (Gram-pozitif bakteriler) karşı antibakteriyel aktivite sergilediği gösterilmiştir (Asnaashari vd., 2017).

Eremostachys laevigata'nın kök, gövde ve çiçek kısımlarından elde edilen uçucu yağların da yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Esmaeili, 2012).

Ayrıca başka bir çalışmada *E. laciniata*'dan saflaştırılan iridoid glikozitlerin özellikle *B. cereus*, *S. aureus* (Gram-pozitif bakteriler) ve *E. coli*, *Proteus mirabilis* (Gram-negatif bakteriler)'e karşı dikkat çekici bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Modaressi vd., 2009).

2.2 *Phlomis* ve *Eremostachys* Cinslerine Ait Antikanser Etki Çalışmaları

P. umbrosa ekstraktlarının sitotoksik etkileri üzerine yapılan bir çalışmada, neredeyse hiçbir belirgin toksisite veya yan etki gözlenmediği kaydedilmiştir (Li vd., 2021). Bununla birlikte, başka bir çalışmada, *P. umbrosa*'daki türevlerden biri olan Calcelarioside B'nin (10 µg/mL) HeLa tümör hücreleri üzerinde %69,63'lük bir

inhibisyon etkisi belirlenmiştir. *P. umbrosa*'daki verbascoside'in (10 µg/mL) de L929 tümör hücrelerinde %68'lik bir inhibisyon etki oranına sahip olduğu gözlenmiştir (Liu vd., 2009). *P. umbrosa* (Turcz.) Kamelin & Makhm'ın kök kısmından izole edilen saf bileşikler, MCF-7 hücre hattına karşı sitotoksik özelliklere sahiptir (Le vd., 2018).

Literatürde *Phomoides macrophylla*'nın diğer sinonim adı olan *Eremostachys macrophylla* Montbret & Aucher'in insan kolorektal adenokarsinomu ve insan akciğer kanseri hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivitesi araştırılmış ve umut verici sonuçların olduğu tespit edilmiştir. Asgharian vd. (2017a), *E. macrophylla*'nın yaprak kısmından hazırlanan MeOH ve N-hekzan ekstraktlarının, HT-29 hücre hattına [sırasıyla inhibisyon konsantrasyonu (IC₅₀) = 133 ve 396 µg/mL] karşı sitotoksik aktivite sergilediğini göstermiştir. N-hekzan, DCM ve MeOH ekstraktları ise A549 hücre hattına (sırasıyla IC₅₀=53, 380 ve 6 µg/mL) karşı sitotoksik aktivite sergilemiştir. Aynı ekibin benzer bir başka çalışmasında da *E. macrophylla*'nın kök kısmından hazırlanan DCM ekstraktının HT-29 ve A549 hücre hatlarına karşı IC₅₀ değerleri sırasıyla 195 ve 229 µg/mL olarak saptanmıştır. N-hekzan ekstraktlarının HT-29 ve A549 hücre hatlarına karşı IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 253.2 ve >1000 µg/mL olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada MeOH ekstraktının her iki hücre hattına karşı IC₅₀ değerleri ise >1000 µg/mL olarak belirlenmiştir (Asgharian vd., 2017b).

Başka bir çalışmada, *Phlomoides azerbaijanica* Rech'in rizomlarından n-hekzan, DCM ve MeOH ekstraktları elde edilmiştir. Ekstraktlar A549 (insan akciğer kanseri) hücre hattına karşı sitotoksik aktivite (sırasıyla IC₅₀ = 160.8, 400.2 ve 604,6 µg/mL) göstermiştir. Sadece DCM ekstraktı, HT-29 (insan kolorektal adenokarsinomu) hücre hattına karşı güçlü sitotoksik aktivite (IC₅₀ = 116,07 µg/mL) sergilemiştir (Asnaashari vd., 2017).

Rabe vd. (2014), *Phlomoides labiosa* Bunge 'nin kök kısmı MeOH ekstraktının MCF-7, HeLa, AGS (mide kanseri hücreleri), LNCaP (prostat kanseri hücreleri), ACHN (böbrek kanseri hücreleri) ve L929'a (normal) karşı IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 292, 309, 247, 27, 261 ve 450 µg/mL olduğunu bildirmiştir. *P. labiosa* ile yapılan başka bir çalışmada, toprak üstü kısmından hazırlanan DCM ekstraktı, MCF-7 hücrelerine (IC₅₀ = 40,9 µg/mL) karşı etkili sitotoksik aktivite sergilemiştir (Mohammadi vd., 2022). Aynı türle yapılan başka bir çalışmada HT-29 hücre hattına karşı toprak üstü

kısımından hazırlanan N-hekzan ve DCM ekstraktlarının IC₅₀ değerleri sırasıyla 427 ve 124 µg/mL olarak bulunmuştur. Aynı ekstraktların A549 hücre hattına karşı IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 161 ve 451 µg/mL olarak belirlenmiş, her iki hücre hattına karşı MeOH ekstraktının IC₅₀ değerleri ise >1000 µg/mL olarak rapor edilmiştir (Delazar vd., 2017).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Bitki Materyali

Bu tez çalışmasında, Lamiaceae ailesine ait *Phlomooides moluccelloides* (Bunge) Salmaki bitki türü kullanılmıştır. Bitkiler 2019 yılı Haziran ayında Konya arazisinde gerçekleştirilen çalışmalar ile toplanmıştır (Konya, Akbaş Köy, Bozdağ Tabiat Parkı civarı, 1020 m, 38° 02' 51" K, 32° 56' 20" D).

Toplanan bitkilerin taksonomik açıdan tanımlaması, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY tarafından gerçekleştirilmiştir. Bitki ekstraktları analizler için +4°C'de saklanmıştır.

3.1.2 Çalışmada Kullanılan Bakteri Suşları

P. moluccelloides'in toprak üstü ve kök kısımlarının MeOH ve infüzyon ekstraktlarının antibakteriyel etkinliği 3 Gram-pozitif ve 9 Gram-negatif olmak üzere toplam 12 referans bakteri suşuna karşı araştırılmıştır. Ekstraktların anti-QS etkileri ise *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 ve *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 biyoidikatör suşlarına karşı test edilmiştir. Çalışmada kullanılan bakteri suşları Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Anti-QS testleri için ise *P. aeruginosa* PAO1 ve *C. violaceum* ATCC 12472 suşu kullanılmıştır. Suşlar, Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection, ATCC) ve Ulusal Tip Kültür Koleksiyonu (National Collection of Type Cultures, NCTC) referans suşlarıdır. Kullanılan bakteri suşları, Kastamonu

Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonlarından temin edilmiştir.

Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan bakteri suşları

Suşları	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 Typhimurium</i> 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

3.1.3 Antibakteriyel Testlerde Kullanılan Cihaz, Kimyasal ve Sarf malzemeler

Çalışma kapsamında kullanılan cihazlar, kimyasallar ve sarf malzemeler, Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'ne ait Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma Laboratuvarı ile Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan Kanser Genetiği ve Biyoinformatik Laboratuvarı'nın alt yapısından sağlanmıştır. Bitki ekstraktları saf su ve metanol (MeOH) ile çözülmüştür. Bakterilerin büyütülmesi için farklı kültür ortamı ve kimyasallar kullanılmıştır. Kullanılan cihaz, kimyasal ve sarf malzemeler Tablo 3.2'de ve Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.2 Antibakteriyel testlerde kullanılan kimyasallar

Numara	Kimyasal Adı	Marka	Kullanım Amacı
1	Mueller Hinton agar (MHA)	Merck	Bakteri kültüründe kullanıldı
2	Mueller Hinton broth (MHB)	Merck	Bakteri kültüründe kullanıldı
3	Luria Bertani broth (LB)	NZYTech, Lisbon, Portugal	Bakteri kültüründe kullanıldı
4	Nutrient agar (NA)	Merck	Bakteri kültüründe kullanıldı
5	Bakteriyolojik Agar	-	Katı besiyeri hazırlığında kullanıldı

Tablo 3.2 devamı

6	Levofloksasin	Tokyo Chemical Industry	Referans antibiyotik olarak kullanıldı
7	Kristal viyole	Merck/ Germany	Biyofilm kütlesinin boyanması için kullanıldı
8	Metanol (MeOH) 96%, 70%	Isolab	Sterilizasyon
9	Pepton		Swarming motilite agar hazırlığında kullanıldı
10	Serum fizyolojik çözeltisi (%0,9 Sodyum klorür çözeltisi)	-	Dilüsyon ve hücre yıkama işlemlerinde kullanıldı
11	Yeast extract		Swarming motilite agar hazırlığında kullanıldı
12	Glukoz		Swarming motilite agar hazırlığında kullanıldı
13	HCl	Tekkim Kimya	Piyosyanin ekstraksiyonunda kullanıldı
	Kloroform		Piyosyanin ekstraksiyonunda kullanıldı
14	Etanol 70%	Isolab	Sterilizasyonda kullanıldı

Tablo 3.3 Antibakteriyel testlerde kullanılan cihaz ve sarf malzemeler

Numara	Ekipman Adı	Marka
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	Vorteks	Wise-Mix/VM-10
8	Çalkalamalı Kuru Blok Isıtıcı	Biosan/TSH-100
9	Çekerocak	Tezsan
10	Sınıf II Biyogüvenlik Kabini	Tezsan/ClassII
11	Test Kabini	Nüve/TK-252
12	Isı Kontrollü İnkübatör	Thermo
13	Otoklav	Nüve/Steam Art
14	Masaüstü Santrifüj	Nüve/NF 800
15	Mikrosantrifüj	Starlab
16	Soğutmalı Mikrosantrifüj	Hettich/MICRO 220R
18	Spektrofotometre Nano Drop	Thermo Scientific/MulskanGO UV/Vis
19	Mcfarland Densitometer Cihazı	Biosan/DEN-1B
20	Kimyasal Saklama Dolabı	Tezsan
21	96 Kuyucuklu Mikropleytlar	Techno Plastic Products

Tablo 3.3 devamı

22	Steril Besiyeri Kapları (90mm çaplı)	Isolab
23	Falkon Tüpler	Isolab, Kirgen, CAPP
24	Eppendorf Tüpler (Cryotüp)	Isolab
25	Serolojik Pipetler	Biologix
26	Mikropipetler (tek ve çok kanallı)	Eppendorf, Thermo, CAPP, Topscien
27	Tek kullanımlık plastik özeler	Isolab
28	pH gösterge stribi	Isolab
29	Thoma Lamı	Marienfild-Neubauer-improved
30	Pamuklu eküvyon	Cultiplast/LP Italiana spa
31	0,22 µm şırınga filtreleri	-
32	10-25 cc şırıngalar	-
33	Pipet uçları	Isolab Tüm deney aşamalarında

3.1.4 Kullanılan Hücre Hatları

Phlomoides moluccelloides ekstraktlarının antiproliferatif etkinlikleri üç farklı hücre hattına karşı araştırılmıştır. Hücre hatları ve özellikleri Tablo 3.4’de gösterilmiştir.

Tablo 3.4 Çalışmada kullanılan hücre hatları

Numara	Hücre hatları	Özellikler	Temin yeri
1	MDA-MB-231	Östrojen reseptörü negatif ve invazif özelliği yüksek	Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
2	MCF-7	Östrojen reseptörü pozitif ve Alfa (ER α) özellik taşıyan	Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü
3	HeLa	İnsan servikal adenokarsinomu	Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

3.1.5 Sitotoksisite Testlerinde Kullanılan Cihaz, Kimyasal ve Sarf malzemeler

Çalışmada kullanılan cihaz, kimyasal ve sarf malzemeler Tablo 3.5’de ve Tablo 3.6’da listelenmiştir.

Tablo 3.5 Sitotoksosite testlerinde kullanılan kimyasallar

Kimyasal adı	Marka	Kullanım amacı
Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM)	Gibco, Thermo Fisher Scientific	Hücre besiyeri
Penisilin/Streptomisin karışımı (%0,1)	Thermo Fisher	Hücre kültürü çalışmalarında
İnsülin (0,01 mg/mL)	Pan Biotech	Besiyeri için takviye hormon
Dimetilsülfoksit (DMSO)	Rjedel-de Haen	Bileşiklerin seyreltilmesinde, hücrelerin saklanması, MTT ürünlerinin indirgenmesinde
Fosfat Tapolu Tuz Çözeltisi (PBS)	Gibco, Thermo Fisher Scientific	Hücre kültürü çalışmalarında
3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT)	Thermo Fisher Scientific	Hücrelerin dehidrojenaz aktivitelerine göre kolorometrik olarak absorbans ölçümü sonucu etkin sitotoksik aktiviteyi belirlemede
Non-Esansiyel Amino Asit (NEAA)	Pan Biotech	Hücre kültürü çalışmalarında
Tripsin-EDTA	Gibco, Thermo Fisher Scientific	Hücre kültürü çalışmalarında
Fetal Bovine Serum (FBS)	Gibco, Thermo Fisher Scientific	Hücre besiyeri

Tablo 3.6 Sitotoksosite testlerinde kullanılan cihaz ve sarf malzemeler

Numara	Cihazlar adı	Markalar
1	CO ₂ inkübatörü	Nuaire, USA
2	Laminar kabin	Bilser, Türkiye
3	Otoklav	Nüve, Türkiye
4	Buzdolabı	Samsung, Güney Kore
5	Santrifüj	Hettich Universal 320 R, USA
6	Faz Kontrast Görüntüleme Sistemli Kameralı Ters Mikroskop	Inverted microscope, Leica DMi1, Almanya
7	Etüv	Nüve, Türkiye
8	Hemositometre	Thomalam, Marienfeld, 0,1 mm, Neubauer-improved, Almanya
9	96-kuyucuklu hücre petripleri	-
10	100x20 mm petri kapları	Sigma
11	10 mL serolojik pipetler	Sigma
12	0,22 µm şırınga filtreleri	Sigma Aldrich, USA
13	Hücre kazıyıcı	Sigma Aldrich, USA
14	10-25 cc şırıngalar	Sigma Aldrich, USA
15	Kryotüpler	Sigma Aldrich, USA

3.2 Kullanılan Yöntemler

3.2.1 Bitki Ekstraktlarının Temini

Phlomis moluccelloides (Bunge) Salmaki ekstraktları, Selçuk Üniversitesi Biyoloji bölümünden Prof. Dr. Gökhan ZENGİN tarafından elde edilmiştir. Bunun için bitkilerin toprak üstü ve kök kısımları gölge bir ortamda yaklaşık olarak 10 gün bırakılarak oda sıcaklığında kurumaları sağlanmıştır. Daha sonra numuneler laboratuvar değirmeni yardımıyla toz hale getirilmiştir. Metanol (MeOH) ve infüzyon ekstraktları, 10 gr bitki örneğinin 200 mL kendi çözücülerinde (metanol ve su) gece boyunca maserasyon yöntemi (ıslatarak yumuşatma; soğuk infüzyon yöntemi) ile bekletilerek elde edilmiştir. Bu süre sonunda ekstraktlar, süzölmüş ve döner bir buharlaştırıcı yardımıyla 40°C’de vakum ile konsantre hale getirilmiştir. İnfüzyon ekstraktları, 10 gr bitki örneğinin 200 mL kaynar suda demlenmesiyle hazır hale getirilmiştir. Daha sonra örnekler, filtreden geçirilmiş ve liyofilizatör ile kurutulmuştur. Dört ekstrakt için hazırlanan ana stoklardan seri olacak şekilde sulandırılmalar yapılarak 5 mg/mL, 2,5 mg/mL, 1,25 mg/mL, 0,625 mg/mL ve 0,312 mg/mL çalışma stokları hazırlanmıştır. Hazırlanan ana ve çalışma stokları, kullanılıncaya kadar -20 C°’de saklanmıştır.

3.2.2 Antibakteriyel Aktivitenin Saptanması

Toprak üstü ve kök ekstraktlarının antibakteriyel etkinliği sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Bu yöntemde, öncelikle bitki ekstraktları 20 mg/mL konsantrasyonu oluşturmak üzere steril ultra saf su içerisinde çözülmüştür. Ekstraktların antimikrobiyal etkinliği 61,5-2000 µg/mL konsantrasyon aralığında test edilmiştir. Deneyde referans antibiyotik olarak bir kinolon sınıfı olan ve geniş spektrumlu antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu bilinen levofloksasin kullanılmıştır. Quorum Sensing inhibisyon deneyleri için ekstraktların ultra saf su içerisinde 5 mg/mL ve 10 mg/mL konsantrasyonlarında çalışma stokları hazırlanmıştır.

3.2.2.1 Bakteri besiyerlerinin hazırlanması

Ticari besiyerleri (MHA, MHB, NA, NB ve LB broth), üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır. MHA, MHB, NA, NB ve LB broth toz halinde temin edilmiştir. LB soft agar hazırlığında ise LB broth besiyerine son konsantrasyonu %0,5 olacak şekilde bakteriyolojik agar ilave edilmiştir. Besiyerleri distile su ile tamamen çözülmüş ve pH'ı ayarlandıktan sonra otoklavda (121°C'de, 1,5 atm, 15 dk) sterilize edilmiştir. Ardından yaklaşık 50°C'ye soğutulmuş ve 90 mm çaplı petri plaklarına ~25 mL hacminde dökülmüştür. Besiyerleri kullanılıncaya kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2 Bakteri kültürlerinin hazırlanması

Antibakteriyel testler için, -80°C'de saklanan bakteri suşları MHA besiyerinde canlandırılmıştır. Bunun için saf olarak stoklanmış kültürlerden steril bir öze yardımı ile küçük bir buz parçası alınmış ve besiyerine inoküle edilerek ekilmiştir. Kültürler 37 C°'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Tüm deneylerde taze kültürler kullanılmıştır.

3.2.2.3 Minimal inhibitör konsantrasyonu tespiti

P. moluccelloides bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlardan elde edilen MeOH ve su ekstraktlarının minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, sıvı mikrodilüsyon metodu ile daha önce tarif edildiği gibi gerçekleştirilmiştir (Wiegand vd., 2008). Ekstraktlar 62,5-2000 µg/mL konsantrasyon aralığında test edilmiştir. Deneyde referans antibiyotik olarak levofloksasin kullanılmıştır. Levofloksasin 0,015-128 µg/mL konsantrasyon aralığında test edilmiştir. Bakterilerin hazırlanan taze kültürlerinden 0,5 McFarland standardizasyonunda steril serum fizyolojik içerisinde süspansiyonları hazırlanmıştır. Mikrodilüsyon testi 96 kuyucuklu pleytte gerçekleştirilmiş olup, ilk olarak birinci kuyucuklara 180 µL, diğer kuyucuklara ise 100 µL hacminde sıvı besiyeri (MHB) eklenmiştir. Daha sonra her bir ekstraktan (20 mg/mL) 20 µL alınarak birinci kuyucuklara konulmuştur. Birinci kuyucukta ekstrakt konsantrasyonu 2000 µg/mL olmuştur. Ardından birinci kuyucuktan 100'er µL alınarak 61,5 µg/mL konsantrasyon oluşana kadar çift katlı seri sulandırma işlemi

yapılmıştır. Her ekstrakt için bir kuyucuk üreme kontrolü (ekstrakt mevcut değil), bir kuyucuk ise sterilite kontrolü (bakteri mevcut değil) olarak değerlendirilmiştir. Son olarak test bakterilerinin taze kültürlerinden hazırlanan McFarland 0,5 süspansiyonu SF içerisinde 10 kat sulandırılmış ve kuyucuklara 5 µL (5×10^5 µg/mL veya 5×10^4 µg/kuyucuk olacak şekilde) hacminde inoküle edilmiştir. Pleyt, steril bir kapakla kapatıldıktan sonra 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında kuyucuklarda meydana gelen üreme, siyah zemin üzerinde çıplak göz ile analiz edilmiştir. Kuyucuklarda bakteri üremesinin olmadığı son ekstrakt/antibiyotik konsantrasyonu, MİK değeri olarak kabul edilmiştir.

3.2.3 QS İnhibisyonunun Biyoindikatör Suşlarda Gösterilmesi

Çalışmamızda kullanılan bitki ekstraktlarının bakterilerde QS sistemi mekanizmasını inhibe edip etmediği *P. aeruginosa* PAO1 ve *C. violaceum* ATCC 12472 suşlarına karşı test edilmiştir. Bu suşların QS mekanizmasını kullanarak sırasıyla swarming hareketi, piyosiyanın pigmenti, biyofilm formasyonu ve viyolasin pigmentini ürettiği bilinmektedir.

3.2.3.1 Swarming (yayılma) hareketi inhibisyon testi

P. moluccelloides toprak üstü ve kök ekstraktlarının *P. aeruginosa* PAO1 suşunun swarming (yayılma) hareketlerine karşı inhibitör etkileri Saliha vd. (2020)'nin tarif ettiği şekilde araştırılmıştır (Saliha vd., 2020). Özetle *P. aeruginosa* PAO1 taze kültüründen küçük bir koloni parçası alınmış ve ekstrakt içeren ve içermeyen swarming agar plaklarının ortasına inoküle edilmiştir. Swarming agar %1 glukoz, %0,5 pepton, %0,5 bakteriyolojik agar, %0,2 maya özütü ve test materyali (500 µg/mL ekstrakt) içermektedir. Kontrol besiyerinde ekstrakt yerine çözücü olan steril ultra saf su kullanılmıştır. Kültürlerin 37°C'de 24 saat dik pozisyonda inkübasyonu sağlanmış ve sonrasında bakteri inokülasyon noktasından çevreye swarming hareketliliği incelenmiştir.

3.2.3.2 Biyofilm inhibisyon testi

Ekstraktların biyofilm inhibisyon testi daha önce tarif edildiği gibi 96 kuyucuklu düz tabanlı polisistren pleytlerde gerçekleştirilmiştir (O'Toole, 2011). Bu amaçla, *P. aeruginosa* PAO1'in taze kültüründen tek koloni alınarak 5 mL LB sıvı kültürde 37°C'de ve 150 rpm hız ile 16 saat inkübasyon gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, kültür taze LB sıvı besiyeri ile 100 kat seyreltilmiş ve deneyde inokulum olarak kullanılmıştır. 96-kuyucuklu mikropleyt ile gerçekleştirilen çalışmada tüm kuyucuklara 180 µL inokulum eklenmiştir. Bir kuyucuk blank, üç kuyucuk kontrol, üçer kuyucuk da her ekstrakt için tekrar olacak şekilde değerlendirilmiştir. Daha sonra, kuyucuklardaki nihai konsantrasyonun 500 µg/mL olmasını sağlamak için 5 mg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlardan 20'şer µL kuyucuklardaki inokulumlar üzerine eklenmiştir. Blank kuyucuğu için 180 µL bakteri içermeyen LB sıvı besiyeri üzerine 20 µL ultra steril saf su eklenmiştir.

Pleyt steril kapağı ile kapatılıp 37°C'de sabit olarak 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinden sonra, pleyt bir spektrofotometre (Multiskan Go, Thermo Scientific, ABD) yardımıyla 600 nm ışık dalga boyunda okutulmuş ve kuyucuklardaki bakteri üremesinin baskılanıp baskılanmadığı incelenmiştir. Ondan sonra, kuyuculardaki içerik tek hamlede ve dikkatli bir şekilde dökülmüştür. Sonraki aşamada, biyofilm üç kez steril distile su içeren bir kaba daldırılarak yıkanmıştır. Tüm kuyucuklarda biyofilm tabakası 200 µL %0,1 (w/v) kristal viyolet (Merck) boyası ile 5 dk oda sıcaklığında boyanmış ve ardından fazla boya yukarıda anlatıldığı gibi yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Son yıkama işleminden sonra pleyt 50°C'de 30 dk tutularak suyun kuyucuklardan tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır. Kuyucuklarda biyofilm tabakası tarafından tutulan boya, 100 µL hacminde saf EtOH ile çözülmüştür.

Absorbans, spektrofotometre kullanılarak EtOH'e karşı 570 nm ışık dalga boyunda okutulmuştur. Çalışma, birbirinden bağımsız olacak şekilde üç kez tekrarlanmıştır. Kuyucuklardaki biyofilm oranını % olarak belirlemek için, ekstrakt ile muamele edilen absorbans miktarı, kontrol kuyucuğunun absorbans miktarına bölünmüş ve 100 ile çarpılmıştır.

3.2.3.3 Piyosiyenin inhibisyonu testi

P. aeruginosa PAO1'e karşı ekstraktların MİK değeri, sıvı mikrodilüsyon testi kullanılarak belirlenmiştir. Ekstraktların piyosiyenin pigment üretimi üzerine inhibitör etkinlikleri Tufekci vd. (2020)'nin açıkladığı şekilde uygulanmıştır. Özetle *P. aeruginosa* PAO1 bakterisinin MHA besiyerindeki taze kültüründen tek koloni alınmış ve 5 mL LB sıvı besiyerinde 37°C' de, 120 rpm hızda 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonraki aşamada, sıvı kültür taze LB besiyerinde 100 kat sulandırılmış ve 5 mL hacminde ekstrakt içeren (500 µg/mL) ve içermeyen tüplere aktarılmıştır. Ardından kültürler 37°C' de, 120 rpm'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından kültürlerden 1,5 mL alınmış ve santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar, temiz bir eppendorf tüpe aktarılmış ve üzerine 0,9 mL kloroform eklenmiştir. İşlem sonrasında eppendorf tüpler 30 s süresince en yüksek hızda vorteks edilerek karıştırılmış ve piyosiyenin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ardından tüm tüpler oda sıcaklığında 5 dk bekletilmiştir. Süre sonunda tüplerdeki kloroform tabakası başka bir tüpe aktarılmıştır. Tüplerin üzerine 0,3 mL 0,2 N HCl eklenmiş ve 30 s vorteks işleminden sonra santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Açık pembeden koyuya değişen üst tabakadan 0,2 mL düztabanlı 96 kuyucuklu mikropleytin kuyucuklarına aktarılmıştır. Absorbans, spektrofotometre (Multiskan Go, Thermo Fisher Scientific) kullanılarak 0,2 N HCl'e karşı 520 nm'de okutulmuştur. Bakteri üremesinin baskılanıp baskılanmadığı kültürlerden canlı hücre sayımı ile tespit edilmiştir. Bu amaçla kültürlerden seri dilüsyonlar hazırlanmış ve MHA ortamına yayma ekim yöntemi ile ekilmiştir. Bir gecelik inkübasyondan sonra, besiyerinde koloniler sayılmış ve ekstrakt içermeyen kültürdeki üremeler ile karşılaştırılmıştır.

3.2.3.4 Viyolasin inhibisyon testi

Çalışmamızda ekstraktların viyolasin pigment üretimini inhibisyon yetenekleri, *C. violaceum* ATCC 12472 (McClellan vd., 1997) suşuna karşı yumuşak agar yöntemiyle değerlendirilmiştir. Kısaca, *C. violaceum* suşunun MHA besiyerindeki taze kültüründen bir koloni alınmış ve LB (LB, NZYTech, Lizbon, Portekiz) broth içerisinde 30°C ve 150 rpm hızda 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun sonunda kültürden 50 µL alınarak 5 mL hacminde çözülmüş ve 50°C'ye soğutulmuş LB yumuşak agar (%0,5 agar) içerisine aşılanmış ve vortekslenmiştir. Agar-kültür

karışımı daha önce hazırlanan LB base agar üzerine dökülmüş ve donması için ~15 dk beklenmiştir. Agar katılaştırdıktan sonra, üzerine steril bir pens yardımı ile 6 mm çapında blank diskler yerleştirilmiştir. Daha sonra disk başına 400 µg ekstrakt elde etmek için her bir ekstraktan (20 mg/mL) 20 µL alınarak disklere aktarılmıştır. Pozitif kontrol olarak taze *P. aeruginosa* PAO1 kültür supernatantı kullanılmıştır. Kültürler 30°C’de 18 saat inkübe edilmiştir. Viyolasin inhibisyonu, disklerin etrafındaki renksiz, opak, ancak canlı bir zon çapının varlığı ile belirlenmiştir.

3.2.4 Antiproliferatif Aktivitenin Tespiti

Çalışma kapsamında bitkinin MeOH ve su ekstraktlarının *in vitro* antikanser aktivitesi araştırılmıştır. *P. moluccelloides*’nin kök ve toprak üstü ekstraktları MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücreleri ve HeLa serviks adenokarsinoma hücre hattına karşı değerlendirilmiştir. Sitotoksik aktiviteyi saptamak için Mitokondriyal Dehidrogenaz Enzim Aktivitesi (MTT) testi kullanılmıştır.

3.2.4.1 Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Maserasyon ve infüzyon teknikleri kullanılarak elde edilen bitki ekstraktları için farklı konsantrasyonlarda çalışma stokları hazırlanmıştır. Bunun için ana stoktan seri seyreltmeler (31,25 µg/mL, 62,5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL) gerçekleştirilmiştir. Tüm ekstraktlar çalışıncaya kadar 4°C de saklanmıştır.

3.2.4.2 Hücre kültürünün sürdürülmesi

A. Hücre kültürü besiyerinin hazırlanması

MDA-MB-231, MCF-7 ve HeLa hücre hatlarının çoğaltılması için FBS (10%, v/v), penisilin/streptomisin (0.1%, v/v), NEAA (1%, v/v) ve insan insülini (0,01 mg/mL) içeren 1X DMEM besiyeri kullanılmış ve 4 C°de saklanmıştır.

B. Hücrelerin açılması

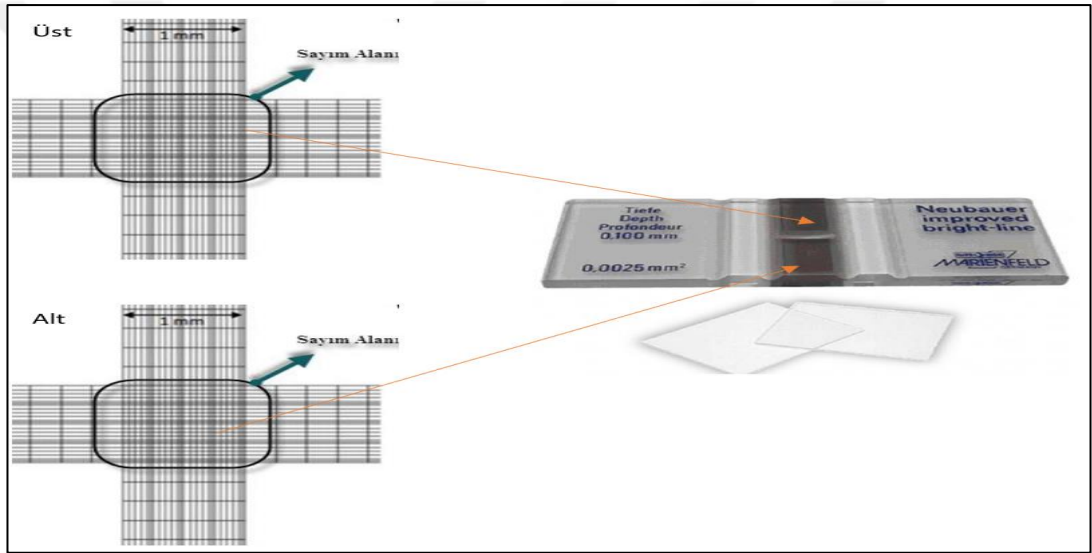
Hücre kültürü çalışmaları, hücre kültürü odasında ve Class II laminar kabinde gerçekleştirilmiştir. Dondurulmuş halde -80°C 'de muhafaza edilen hücreler alınarak oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Kontaminasyonun önüne geçmek için, tüpler %70'lik EtOH ile silinip laminar kabin içine koyulmuştur. Tüm hücrelerin, 90 mm çaplı hücre kültür plaklarında 37°C ve %5 CO_2 koşullarını sağlayan inkübatörde kültürleri yapılmıştır.

C. Hücre pasajlanması

Hücre pasajı genellikle 2-3 günde bir hücreler logaritmik fazdayken (%70-%80 yoğunluğa ulaşması) gerçekleştirilmiştir. Pasajlama işlemi sırasında; laminar kabin içerisinde besiyeri tek kullanımlık pipet ile tabaklarından uzaklaştırıldıktan sonra, plaka yüzeyine yapışmamış halde bulunan ölü hücreler 1 mL fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkanıp uzaklaştırılmıştır. Ardından 1 mL (%0,25) Tripsin-EDTA solüsyonu (1X PBS içerisinde hazırlanmış) tabaklara eklenmiş, tabaklar hafifçe çalkalanmış ve yapışan hücrelerin petri yüzeylerinden ayrılması ve enzim aktivitesinin başlaması için hücreler 5 dk 37°C 'de %5 CO_2 'li inkübatörde bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra tripsin-EDTA aktivitesini engellemek için petri üzerine 1 mL DMEM ilave edilmiştir. Hücreleri petri yüzeyinden toplamak için hücre sıyrıcı kullanılmış ve hücreleri tripsinden uzaklaştırmak için, toplanan hücreler 15 mL'lik falkon tüpe aktarılmıştır. Falkon tüpler, 2000 rpm'de 5 dk santrifüj yapılmıştır. Santrifüj bittikten sonra süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır. Hücre peleti üzerine 3 mL taze besiyeri (DMEM) eklenmiş ve bir mikropipet kullanılarak süspansiyon haline getirilmiştir. Çözülmüş hücreler, 90 mm çapında 7 mL DMEM içeren üç petri kabına aktarılmış ve hücre hattı, pasaj numarası ve tarihi yazılarak 37°C ve %5 CO_2 koşullarındaki inkübatöre yerleştirilmiştir. Tüm hücrelerin büyümesini, çoğalma hızlarını, morfolojilerini ve canlılıkları takip etmek için inverted mikroskop (Leica DMi1, Almanya) ile 10X objektif altında gözlem yapılmıştır.

D. Hücrelerin sayımı

Hücreleri saymak için mL'deki hücre sayısı hemositometre ile hesaplanmıştır. Hücre sayımı işleminde peletin yoğunluğuna bağlı olarak PBS ile hücre süspansiyonları hazırlanmıştır. Thoma lamının alt ve üst taraflarında yer alan karelerdeki hücreler mikroskop altında (10X objektif) sayılmıştır ve aritmetik ortalaması alınmıştır (Şekil 3.1). Toplam hücre sayısı şu formüle göre hesaplanmıştır: Toplam hücre sayısı=H x dilüsyon sabiti x 10^4 (H: hücrelerin sayılan ortalaması). Sayım sonunda hücreler, 96 kuyucuklu pleytlere 1×10^5 hücre/mL olacak şekilde inoküle edilmiş ve 37°C 'de %5 CO_2 koşullarında inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.1 Thoma lamı ve sayım bölgeleri

3.2.4.3 Hücrelerin canlılık testi (MTT)

P. moluccelloides bitki ekstraktlarının kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik aktiviteleri, MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid] testi aracılığıyla belirlenmiştir. MTT testi Sharif vd., (2021)'e göre gerçekleştirilmiştir. Bu test, hücrelerin canlılığını ve büyümesini belirlemek için kullanılmıştır. MTT yöntemi, canlı hücrelerdeki mitokondriyal dehidrogenaz enziminin aktivitesine bağlıdır ve böylece hücrelerin canlılığını belirlemektedir. MTT testi, kuyucuklarda meydana gelen renk değişiminin ölçülmesi prensibine dayanmaktadır.

A. MTT çözeltilisinin hazırlanması

MTT çözeltilisi, nihai hacmi 50 mL olacak biçimde 1X'lik DMEM içerisinde 2,5 mg MTT ve üzerine 250 mL FBS eklenmiş ve vortekslenerek hazır hale getirilmiştir. MTT boyasının ışığa hassas olması nedeniyle hazırlandıktan sonra kullanılıncaya kadar tüpler alüminyum folyoya sarılmıştır. Her çalışma öncesi taze reaktif hazırlanarak kullanılmıştır.

B. Sitotoksik dozun uygulaması ve belirlenmesi

İnkübasyon süresi sonunda, kuyucuklardaki hücrelerin üzerine 10 µL steril pipet ile bitkinin toprak üstü ve kök kısımlarına ait MeOH ve su ekstraktlarından, yukarıda bahsedilen farklı çalışma stokları (31,25 µg/mL, 62,5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL) üç tekrarlı olacak şekilde eklenmiştir. Kontrol kuyucuklarına ise üç tekrarlı olacak şekilde ultra saf su eklenmiş ve pleyt 24-48 saat 37°C'de %5 CO₂'li koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra hücrelerdeki morfolojik değişimler inverted mikroskop (Leica, DMi1) altında (100x) incelenmiş ve fotoğraflanmıştır. Sonraki aşamada, kuyucuklardaki besiyeri uzaklaştırılmış, hücrelerin üzerine taze hazırlanmış MTT çözeltilisinden 100 µL ilave edilerek 4 saat 37°C'de %5 CO₂ koşullarındaki inkübatörde tutulmuştur. Süre bitiminde, MTT çözeltilisi uzaklaştırılmış ve ortaya çıkan formazan kristallerini çözmek amacıyla her kuyucuğa 100 µL saf DMSO eklenmiştir. Ek olarak, bir kuyucuğa blank olarak 100 µL saf DMSO eklenmiştir. Sonrasında pleyt oda sıcaklığında 300 rpm'de 15 dk süresince çalkalamalı kuru blok ısıtıcı (BIOSAN)'da tutulmuştur.

3.2.5 Yarı maksimum İnhibitör Konsantrasyon (IC₅₀) değerlerinin belirlenmesi

MTT uygulaması sonunda absorbans değerlerini ölçmek için, tüm kuyucuklar blank kuyucuğuna karşı 570 nm ışık dalga boyunda okutulmuştur. Ekstraktlarla muamele edilen kuyucuklardaki hücrelerin canlılığı, kontrol kuyucuklarındaki hücre canlılığı ile karşılaştırılmış ve sonuçlar yüzde (%) olarak sunulmuştur. Okunan absorbans değerine göre, yarı-maksimal inhibisyon konsantrasyon (IC₅₀) değerleri, "log (inhibitör) ile normalleştirilmiş yanıt-değişken eğim analizi fonksiyonu" kullanılarak GraphPad Prism 9.4.0 (GraphPad Software, San Diego, CA) programı ile

hesaplanmıştır. Her bir uygulama, bağımsız olarak üç kez tekrarlanmıştır. Veriler, ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur.

3.3 İstatistiksel Analizler

Verilerin normal dağılıp dağılmadığı Wilks-Shapiro testi ile (Shapiro ve Wilk, 1965) belirlenmiştir. Parametrik olmayan verilerin ve parametrik verilerin analizi için IBM-SPSS istatistik sürüm 23,0 (IBM Inc., Armonk, NY, ABD) kullanılarak sırasıyla Mann-Whitney *U* testi ve bağımsız örnekler t testi yapılmıştır. Analizler sonucunda elde edilen $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Antibakteriyel Aktivitenin Saptanması

4.1.1 Minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri

Bu çalışmada ekstraktların antibakteriyel aktivitesi sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Fakat test edilen tüm bakterilere karşı ekstraktların MİK değerleri tespit edilememiştir (MİK > 2000 µg/mL) (Tablo 4.1). Böylece *P. moluccelloides*'in toprak üstü, kök kısımlarının MeOH ve infüzyon ekstraktlarının 62,5-2000 µg/mL konsantrasyon aralığında antibakteriyel aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir.

Tablo 4.1 Ekstraktların ve levofloksasin antibiyotiğinin MİK değerleri

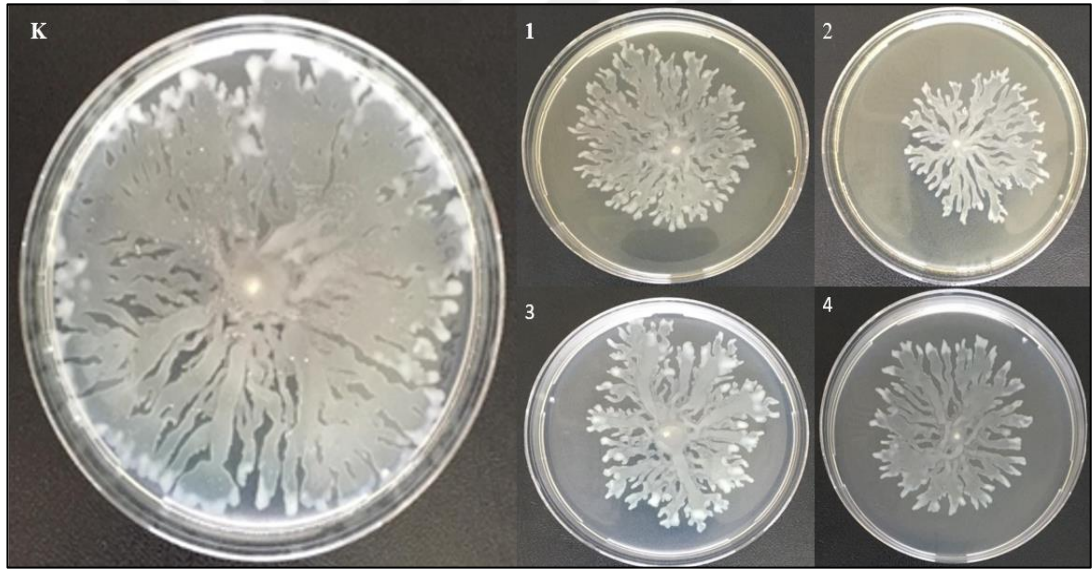
Bakteri Suşları	Toprak üstü MeOH	Toprak üstü İnfüzyon	Kök kısmı MeOH	Kök kısmı İnfüzyon	Levofloksasin Antibiyotiği
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>2000	>2000	>2000	>2000	0,125 µg/mL
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13846	>2000	>2000	>2000	>2000	32 µg/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	>2000	>2000	>2000	>2000	0,125 µg/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	>2000	>2000	>2000	>2000	8 µg/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13440	>2000	>2000	>2000	>2000	8 µg/mL
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	>2000	>2000	>2000	>2000	0,0625 µg/mL
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	>2000	>2000	>2000	>2000	0,0625 µg/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>2000	>2000	>2000	>2000	0,5 µg/mL
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> ATCC 19002	>2000	>2000	>2000	>2000	0,125 µg/mL
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	>2000	>2000	>2000	>2000	8 µg/mL
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>2000	>2000	>2000	>2000	1 µg/mL
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	>2000	>2000	>2000	>2000	0,156 µg/ml

4.2 Anti-Quorum Sensing Sonuçları

Bu bölüm kapsamında, *P. moluccelloides* bitkisinden elde edilen toprak üstü ve kök kısımlarına ait MeOH ve infüzyon ekstraktlarının QS inhibitör etkinlikleri *P. aeruginosa* PAO1 ve *C. violaceum* ATCC 12472 biyoindikatör suşlarına karşı araştırılmıştır.

4.2.1 Swarming İnhibisyon Testi Bulguları

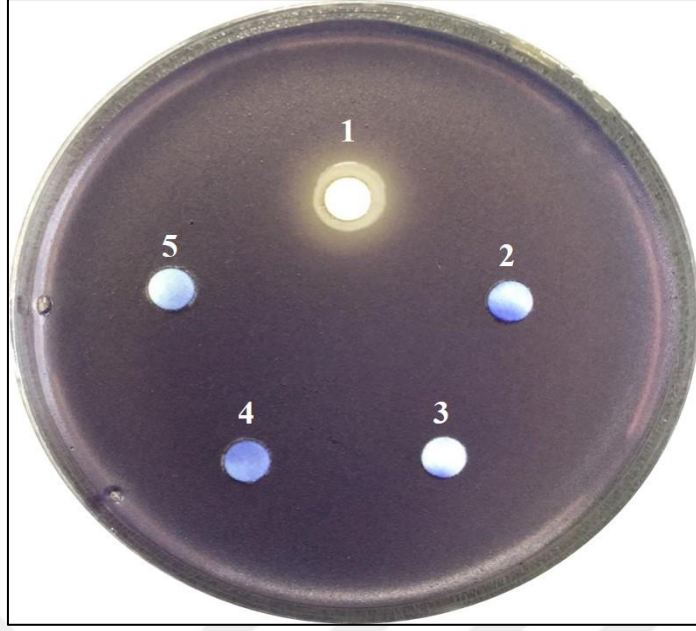
Tüm ekstraktların *P. aeruginosa* PAO1’da swarming (yayılma) hareketi üzerine inhibitör etkinliği swarming agar besiyeri üzerinde belirlenmiştir. Sonuçlara göre, tüm ekstraktların *P. aeruginosa* PAO1 suşunun sürü hareketliliğini baskıladığı belirlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Swarming inhibisyon deneyi (K; kontrol, 1; toprak üstü kısma ait infüzyon ekstraktı, 2; toprak üstü kısma ait metanol ekstraktı, 3; kök kısmına ait infüzyon ekstraktı, 4; kök kısmına ait metanol ekstraktı).

4.2.2 Viyolasin İnhibisyon Testi Bulguları

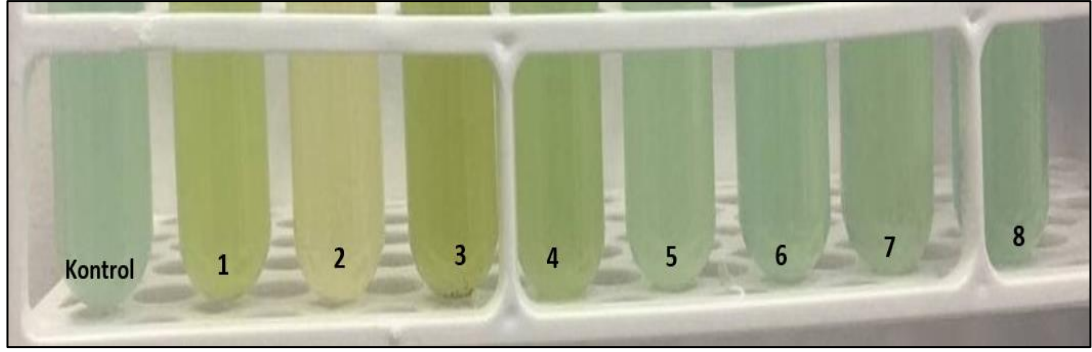
P. moluccelloides bitkisinden elde edilen toprak üstü ve kök kısımlarına ait MeOH ve infüzyon ekstraktlarının viyolasin pigment üretimi üzerindeki engelleyici etkisi, *C. violaceum* ATCC 12472 biyoindikatör suşuna karşı yumuşak agar yöntemi aracılığıyla belirlenmiştir. Sonuç olarak ekstraktların test edilen konsantrasyonlarda viyolasin pigment üretimini engellemediği gözlenmiştir (Şekil 4.2.).



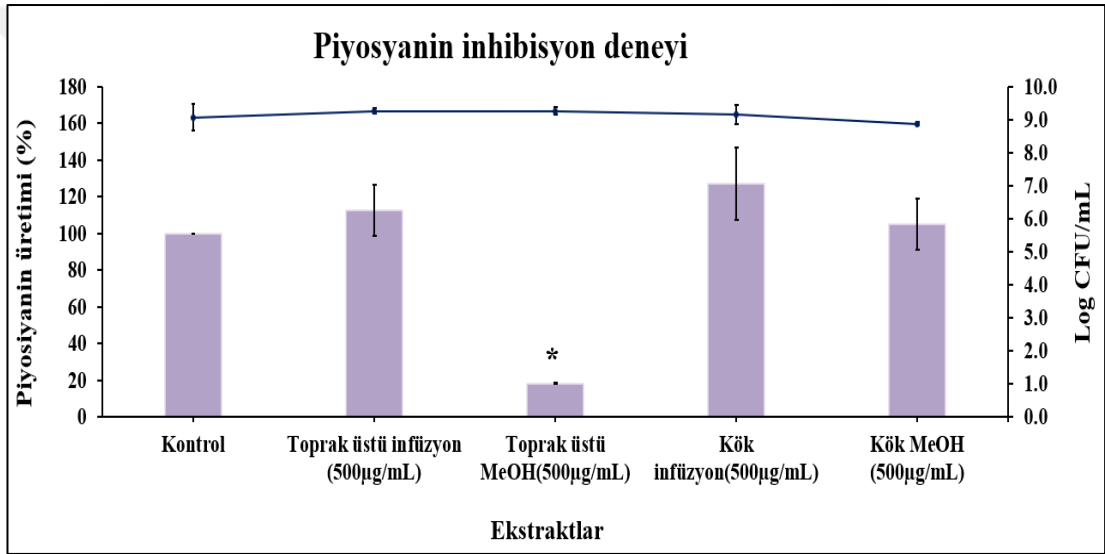
Şekil 4.2 Viyolasin inhibisyon test sonucu (1; pozitif kontrol (*Pseudomonas aeruginosa* PAO1 kültürünün supernatantı), 2 ve 4; toprak üstü ve kök kısımlarına ait MeOH ekstraktları, 3 ve 5; toprak üstü ve kök kısımlarına ait infüzyon ekstraktları).

4.2.3 Piyosiyenin İnhibisyon Testi Bulguları

Bu bölümde, tüm ekstraktların piyosiyenin pigment üretimini inhibe etme etkisi test edilmiştir. Sonuç olarak, toprak üstü kısmına ait metanol ekstraktının piyosiyenin pigment üretimini kısmen inhibe ettiği saptanmıştır (Şekil 4.3). Bu test, piyosiyenin miktarının spektrofotometrik ile ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Elde edilen sonuçlara göre, toprak üstü kısmına ait metanol ekstraktının *P. aeruginosa* PAO1 üremesini baskılamadan piyosiyenin pigment üretimini kontrole (ekstrakt ile muamele edilmemiş) göre $81,7 \pm 0,2$ oranında ($p < 0,05$) inhibe ettiği tespit edilmiştir. Çalışılan diğer ekstraktlar için test edilen konsantrasyonda piyosiyenin pigment üretiminin anlamlı bir şekilde inhibe edilemediği tespit edilmiştir (Grafik 4.1).



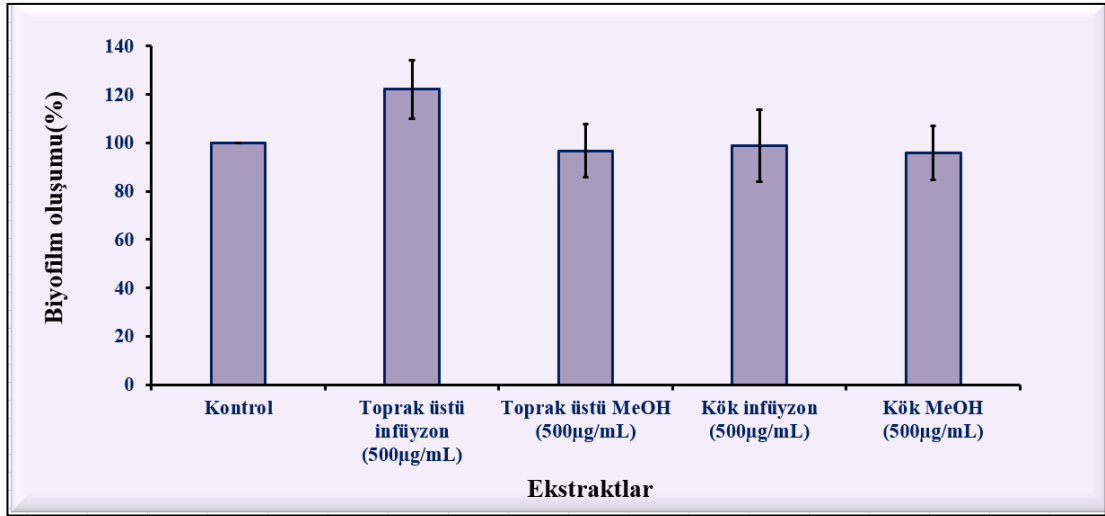
Şekil 4.3 Piyosiyanin inhibisyon deneyinin sonucu. 24 saatlik bir inkübasyondan sonra; kontrol, 1,2; toprak üstü kısmına ait MeOH ekstraktı (1 ve 0,5 mg/mL), 3, 4; toprak üstü kısmına ait infüzyon ekstraktı (1 ve 0,5 mg/mL), 5,6; kök kısmına ait infüzyon ekstraktı (1 ve 0,5 mg/mL).



Grafik 4.1 Piyosiyanin inhibisyon deneyinin sonucu. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur (* $p<0,05$).

4.3 Biyofilm İnhibisyon Testi Bulguları

P. moluccelloides bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlarından elde edilen MeOH ve infüzyon ekstraktlarının *P. aeruginosa* PAO1 suşunda biyofilm oluşumu üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuçlara göre, tüm ekstraktların çalışılan konsantrasyonlarda biyofilm oluşumu üzerine anlamlı bir inhibitör aktivite sergilemediği belirlenmiştir.



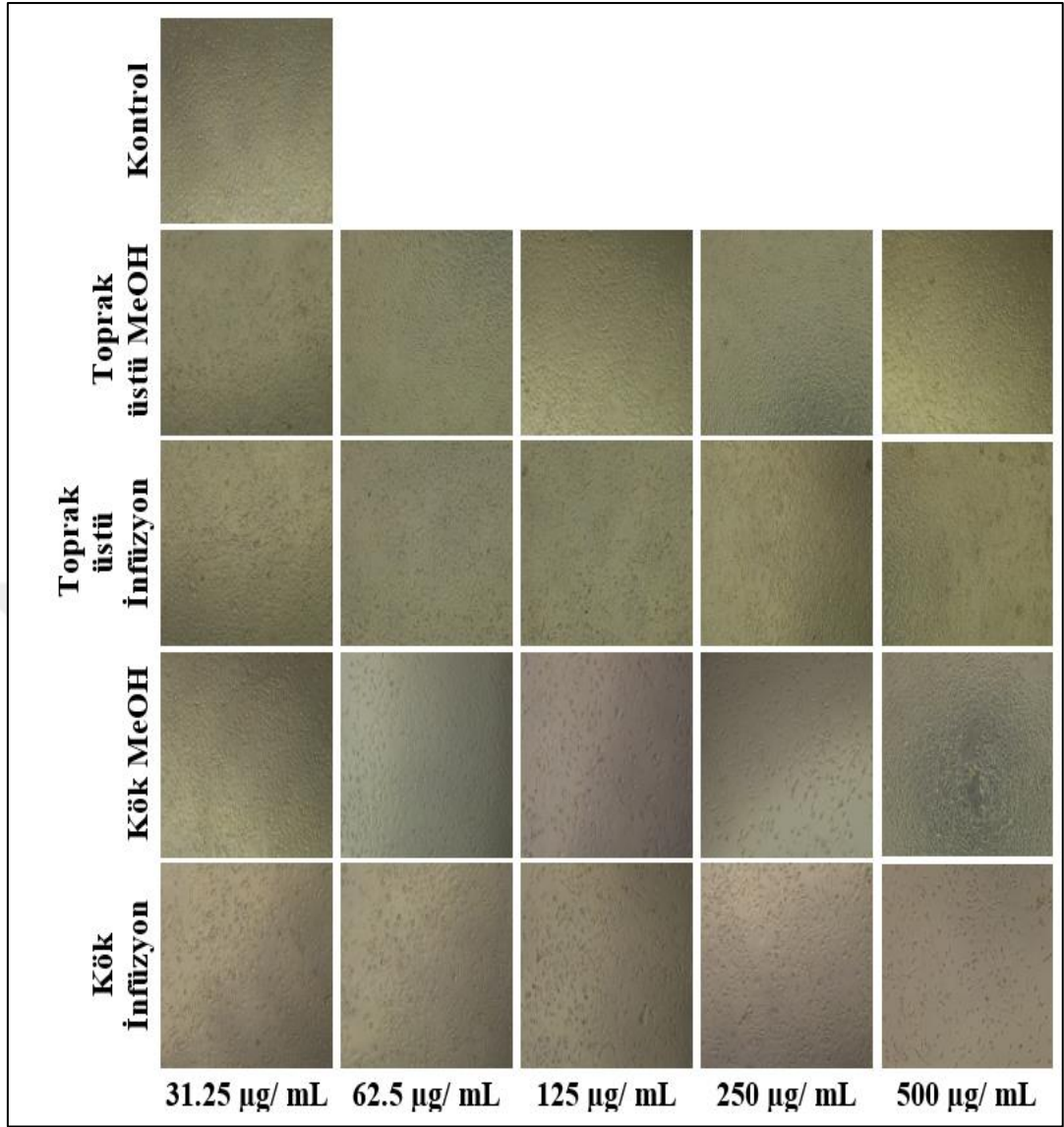
Grafik 4.2 Biyofilm inhibisyon deneyinin sonucu. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur ($p>0,05$).

4.4 Antiproliferatif Aktivite Sonuçları

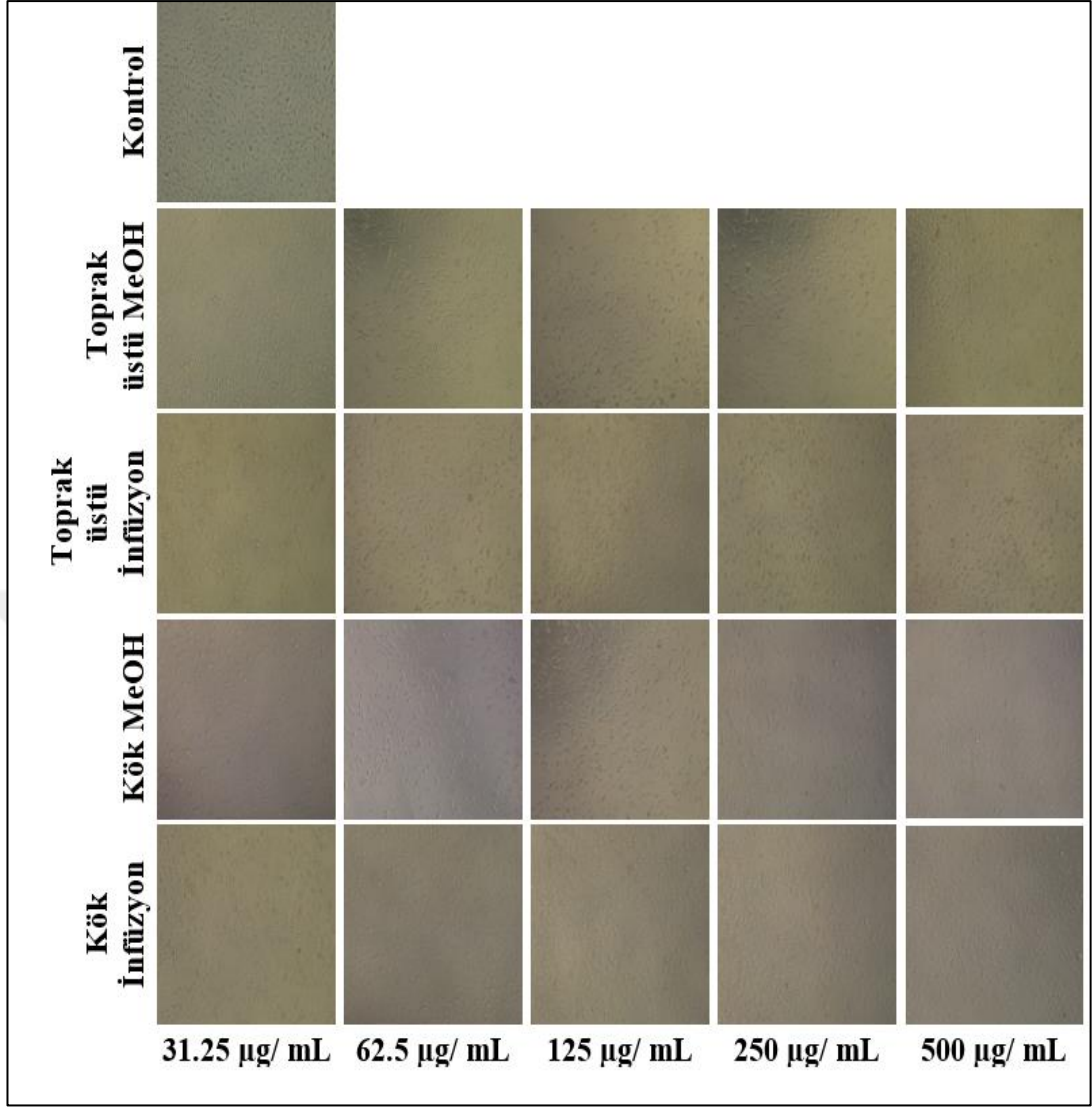
Bu çalışmada, *P. moluccelloides*'in toprak üstü ve kök kısımlarının metanol (MeOH) ve infüzyon ekstraktlarının antiproliferatif aktivitesi test edilmiştir. Çalışma kapsamında MDA-MB-231 (Üçlü Negatif İnvazif) ve MCF-7 (Östrojen reseptör pozitif) meme kanseri hücreleri ile HeLa insan servikal kanser hücre hatları kullanılmıştır. Hücreler, 24 ve 48 saat boyunca 31.25, 62.5, 125, 250 ve 500 µg/mL'lik nihai konsantrasyonlarda ekstraktlarla muamele edilmiş ve hücre canlılık oranı (%) MTT testi ile değerlendirilmiştir. *In vitro* MTT analizi sonuçlarına göre hücre canlılık oranları (%) olarak aşağıda gösterilmiştir.

4.4.1 Bitki Ekstraktlarının MDA-MB-231 Hücre Hattı Üzerindeki Antiproliferatif Aktivite Bulguları

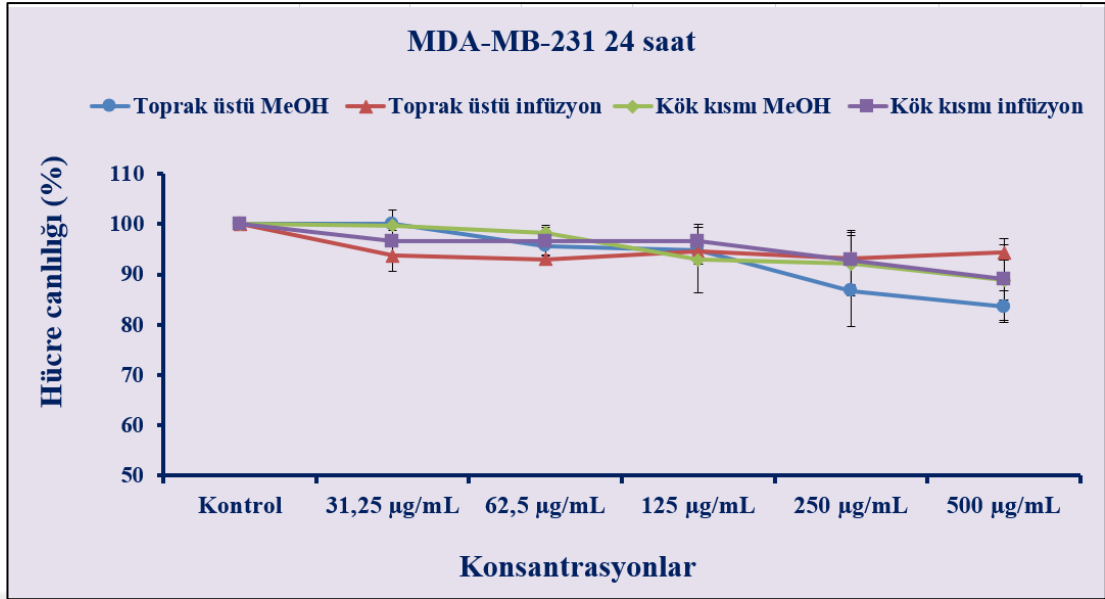
MDA-MB-231 hücrelerinin canlılık oranları ve morfolojik görünüşleri, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'de gösterilmiştir. MDA-MB-231 hücre hatlarına karşı tüm ekstraktlar ile muameleden 24 saat sonra önemli bir antiproliferatif aktivite gözlenmemiştir. Ancak, toprak üstü kısmının MeOH ekstraktının MDA-MB-231 hücre hatlarına karşı doza ve zamana bağlı bir antiproliferatif etkisi saptanmıştır. Uygulamanın yapıldığı konsantrasyonlarda 24. saatteki hücre canlılığı Grafik 4.3'de ve canlılık oranları (%) Tablo 4.2'de sunulmuştur.



Şekil 4.4 MDA-MB-231 hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 24. saatindeki morfolojik görüntüleri.



Şekil 4.5 MDA-MB-231 hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 48. saatindeki morfolojik görüntüleri.

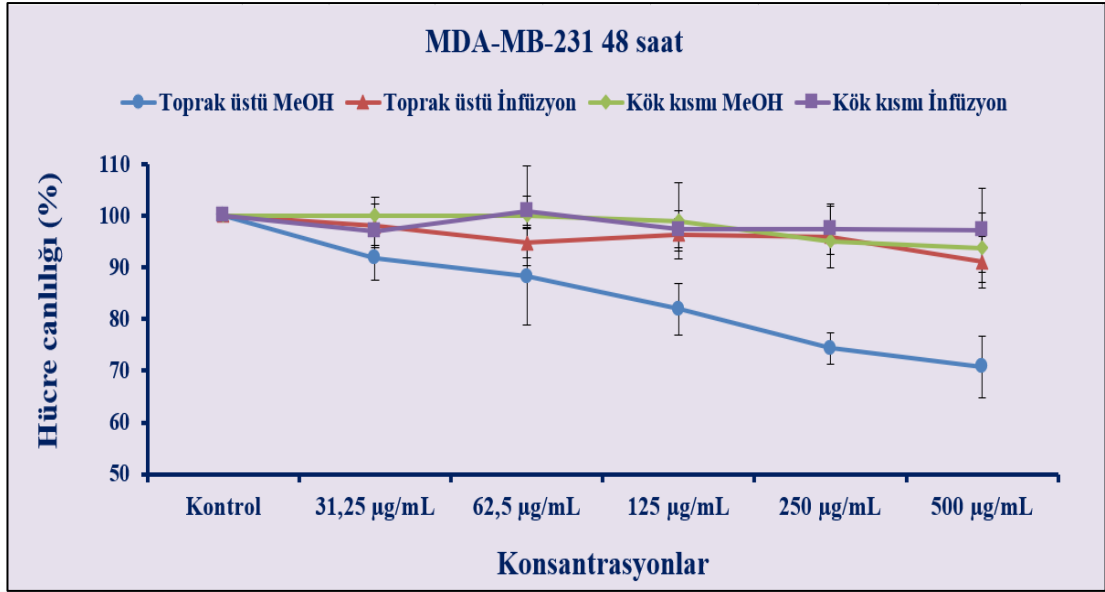


Grafik 4.3 Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 24 saat sonra MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

Tablo 4.2 MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 24. saatteki canlılık oranı (%). Veriler \pm standart hata şeklinde sunulmuştur.

Hücre Canlılığı %				
Ekstrakt konsantrasyonu (µg/mL)	Toprak üstü MeOH (%)	Toprak üstü İnfüzyon (%)	Kök kısmı MeOH (%)	Kök kısmı İnfüzyon (%)
Kontrol	100,0 \pm 00	100,0 \pm 00	100,0 \pm 00	100,0 \pm 00
31,25 µg/mL	100,0 \pm 2,8	93,7 \pm 3.1	99,7 \pm 1.1	96,6 \pm 2,8
62,5 µg/mL	95,7 \pm 3,8	93,0 \pm 0.9	98,3 \pm 1,4	96,6 \pm 2,8
125 µg/mL	94,7 \pm 2,6	94,5 \pm 1.6	92,9 \pm 6.4	96,5 \pm 3,5
250 µg/mL	86,7 \pm 7,1	93,2 \pm 5.4	92,0 \pm 6.4	92,8 \pm 4,9
500 µg/mL	83,5 \pm 3,1	94,4 \pm 1.5	88,8 \pm 4.0	89,0 \pm 8,1

Toprak üstü kısmı MeOH ekstraktı, 48 saat sonra MDA-MB-231 hücre canlılığını 500 µg/mL'de %70,8 \pm %5,9 oranında azaltmıştır. Uygulamanın yapıldığı konsantrasyonlarda 48. saatteki hücre canlılığı Grafik 4.4'de ve canlılık oranları (%) Tablo 4.3'de sunulmuştur.



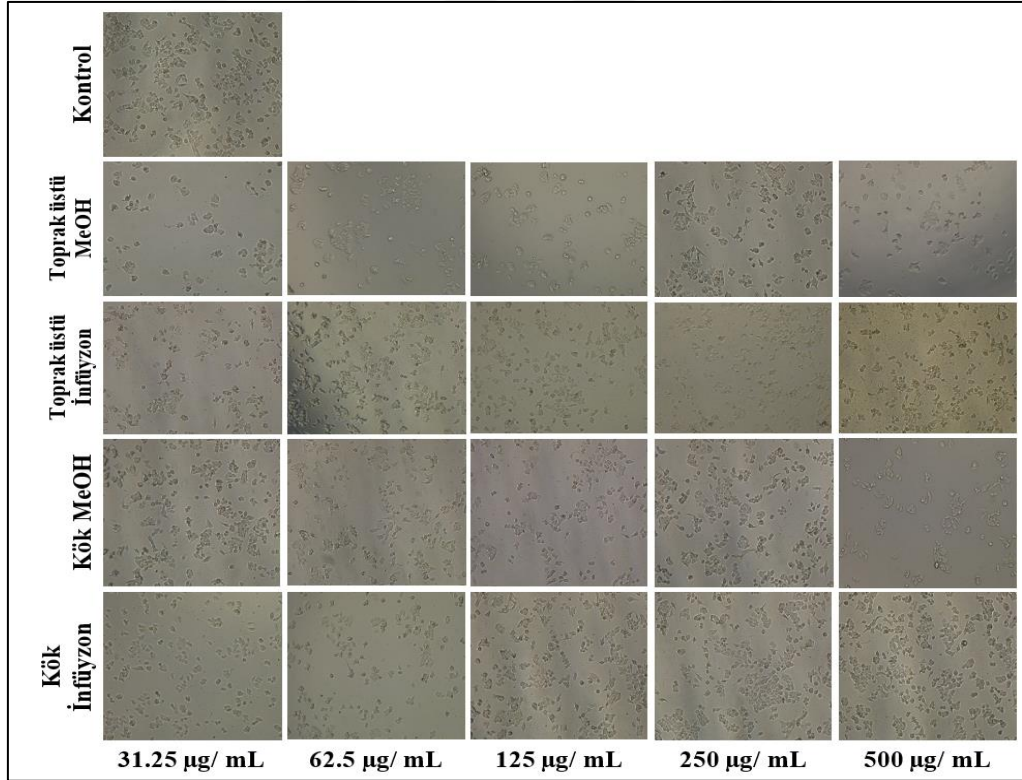
Grafik 4.4 Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 48 saat sonra MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

Tablo 4.3 MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 48. saatteki canlılık oranı (%). Veriler \pm standart hata şeklinde sunulmuştur.

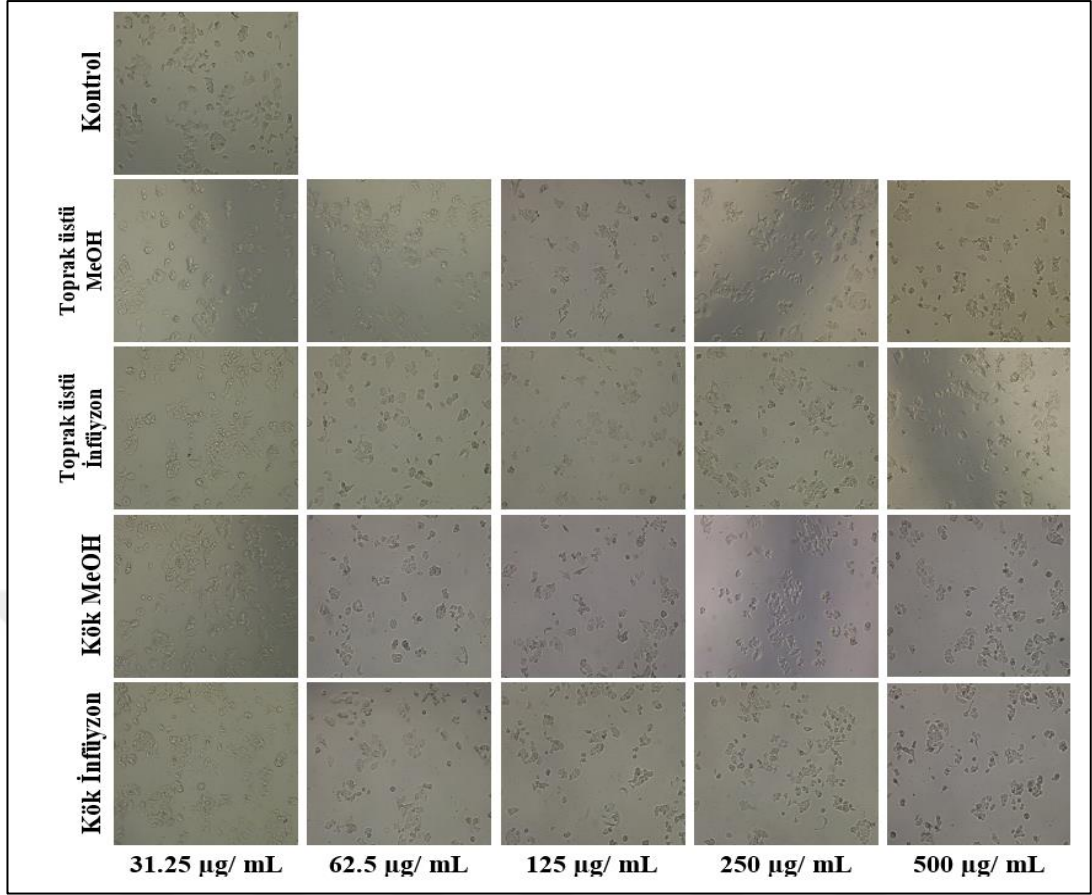
Hücre canlılığı %				
Ekstrakt konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)	Toprak üstü MeOH (%)	Toprak üstü infüzyon (%)	Kök kısmı MeOH (%)	Kök kısmı infüzyon (%)
Kontrol	100,0 \pm 00	100,0 \pm 00	100,0 \pm 00	100,0 \pm
31,25 $\mu\text{g/mL}$	91,8 \pm 4,2	98,0 \pm 4,3	100,0 \pm 9,2	97,0 \pm 3,6
62,5 $\mu\text{g/mL}$	88,2 \pm 9,4	94,7 \pm 2,8	100,0 \pm 12,7	97,4 \pm 9,7
125 $\mu\text{g/mL}$	81,9 \pm 5,0	96,4 \pm 3,1	99,0 \pm 5,8	97,4 \pm 7,4
250 $\mu\text{g/mL}$	74,3 \pm 3,0	95,9 \pm 5,9	95,1 \pm 7,8	97,2 \pm 2,7
500 $\mu\text{g/mL}$	70,8 \pm 5,9	91,0 \pm 5,0	93,8 \pm 7,3	93,6 \pm 6,8

4.4.2 Bitki Ekstraktlarının MCF-7 Hücre Hattı Üzerindeki Antiproliferatif Aktivite Bulguları

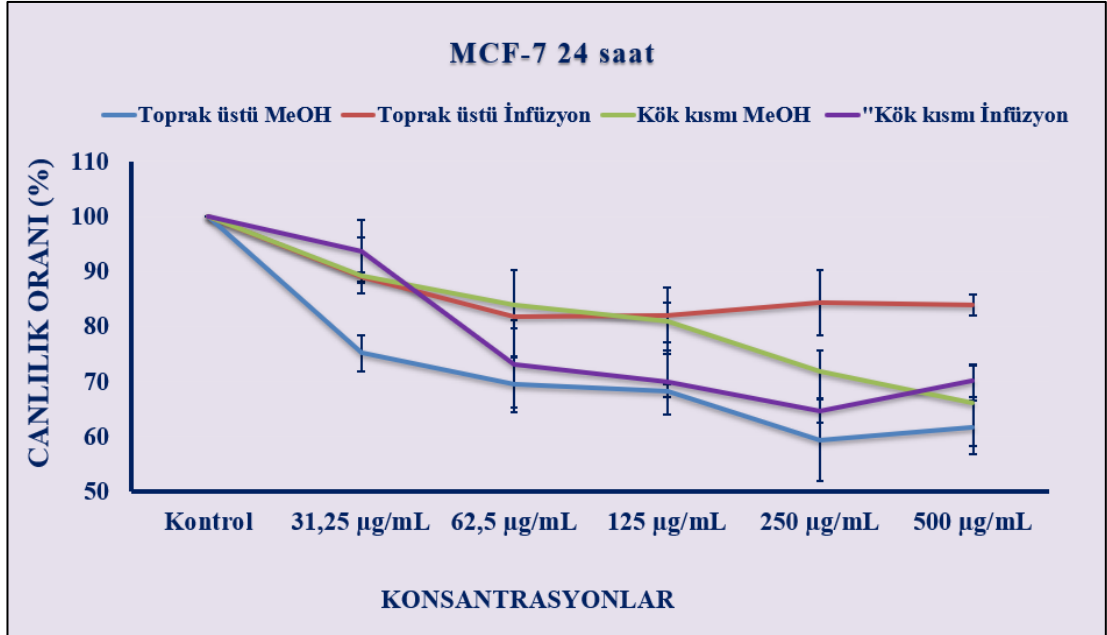
Tüm ekstraktlar, hem 24 hem de 48 saat sonra MCF-7 hücrelerine karşı doza bağlı bir antiproliferatif aktivite göstermiştir (Şekil 4.6 ve 4.7). Üstelik, MCF-7 hücrelerinde canlılığı en fazla azaltan ekstrakt, her iki periyot için de toprak üstü kısmı MeOH ekstraktı olmuştur. MCF-7 hücreleri, 48 saat boyunca 500 µg/mL konsantrasyonda toprak üstü kısmı MeOH ekstraktı ile muamele edildiğinde, canlılık oranları kontrole kıyasla $55,6 \pm 2,7\%$ 'ye düşmüştür. 24 saat sonraki hücre canlılık oranları Grafik 4.5'de, hücre görselleri Tablo 4.4'de ve 48 saat sonraki hücre canlılık oranları Grafik 4.6'de, hücre görselleri Tablo 3.5'de verilmiştir. Ayrıca en düşük IC_{50} değeri (875,7 µg/mL) 48. saatte MCF-7 hücrelerine karşı toprak üstü kısmının MeOH ekstraktında hesaplanmıştır (Grafik 4.7). Diğer ekstraktların IC_{50} değerleri >1000 µg/mL bulunmuştur.



Şekil 4.6 MCF-7 hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 24. saatindeki morfolojik görüntüleri.



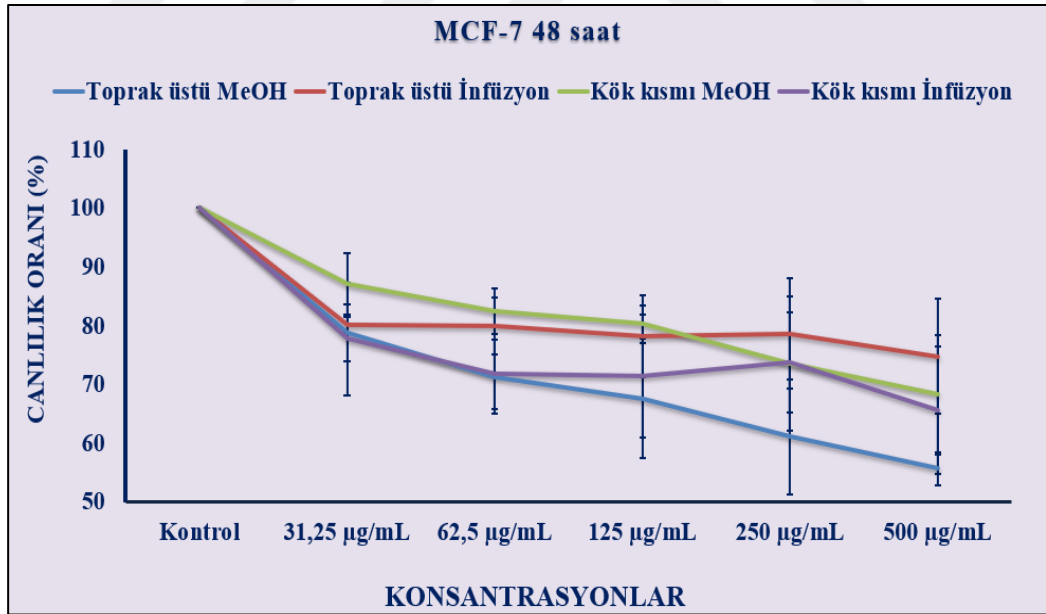
Şekil 4.7 MCF-7 hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 48. saatindeki morfolojik görüntüleri.



Grafik 4.5 A Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 24 saat sonra MCF-7 hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

Tablo 4.4 MCF-7 hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 24. saat canlılık oranı (%). Veriler±standart hata şeklinde sunulmuştur.

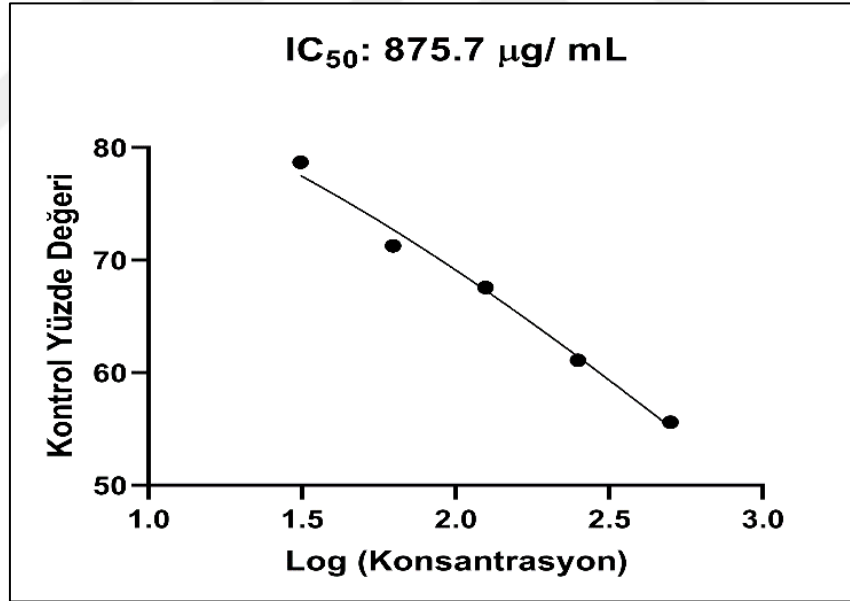
Hücre canlılığı %				
Ekstrakt konsantrasyonu (µg/mL)	Toprak üstü MeOH (%)	Toprak üstü infüzyon (%)	Kök kısmı MeOH (%)	Kök kısmı infüzyon (%)
Kontrol	100,0±00	100,0±00	100,0±00	100,0±00
31,25 µg/mL	75,2±3.3	889±0.9	89,1±3,1	93,7±5,7
62,5 µg/mL	69,5±5,0	81,8±2,1	83,8±8,3	73,2±7,9
125 µg/mL	68,3±1,1	82,1±4,9	80,9±6,0	69,8±5,8
250 µg/mL	59,4±7.4	84,4±6.0	71,7±9,3	64,6±2,2
500 µg/mL	61,7±4,5	83,8±1,9	66,2±8,0	70,0±2,9



Grafik 4.6 Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 48 saat sonra MCF-7 hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

Tablo 4.5 MCF-7 hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 48. saat canlılık oranı (%). Veriler±standart hata şeklinde sunulmuştur.

Hücre canlılığı %				
Ekstrakt konsantrasyonu (µg/mL)	Toprak üstü MeOH (%)	Toprak üstü infüzyon (%)	Kök kısmı MeOH (%)	Kök kısmı infüzyon (%)
Kontrol	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
31,25 µg/mL	78,7±4,9	80,1±1,4	87,1±5,2	77,7±5,2
62,5 µg/mL	71,3±6,3	80,0±4,8	82,5±3,9	71,7±3,9
125 µg/mL	67,6±10,1	78,1±7,0	80,2±3,1	71,5±3,1
250 µg/mL	61,1±9,8	78,6±9,5	73,5±11,4	73,7±11,4
500 µg/mL	55,6±2,7	74,7±9,8	68,2±10,2	65,6±10,2

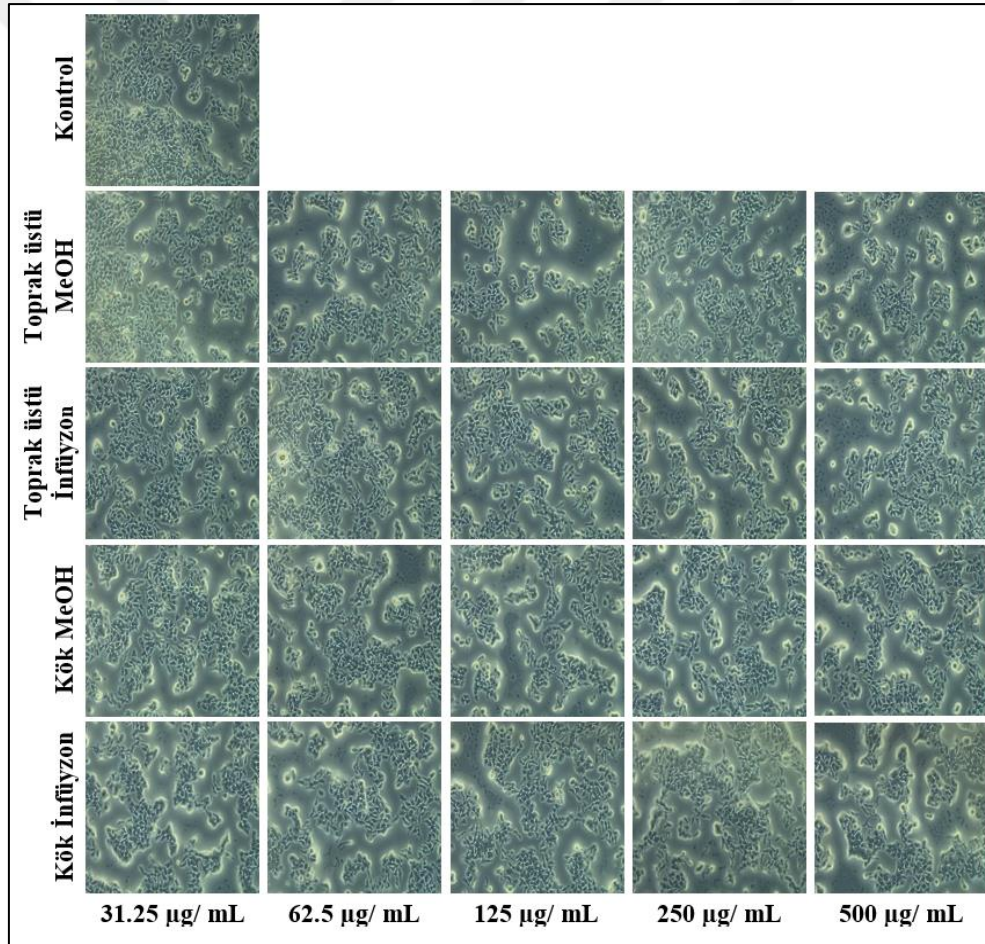


Grafik 4.7 Toprak üstü MeOH ekstraktının MCF-7 hücre hattı üzerinde 48. saat sonunda hesaplanan IC₅₀ değerleri.

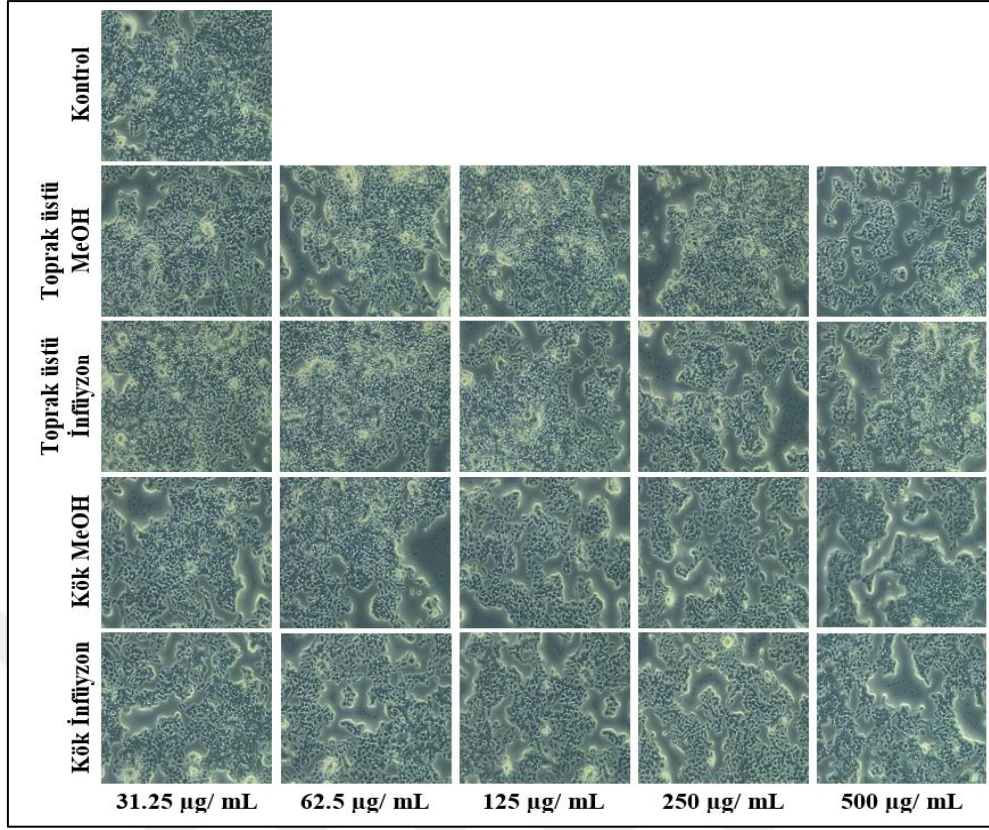
4.4.3 Bitki Ekstraktlarının HeLa Hücre Hattı Üzerindeki Antiproliferatif Aktivite Bulguları

HeLa hücrelerinin canlılık oranları ve morfolojik görüntüleri Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’de verilmiştir. HeLa hücre hatlarına karşı tüm ekstraktları ile muameleden 24 saat sonra önemli bir antiproliferatif etki gözlenmemiştir.

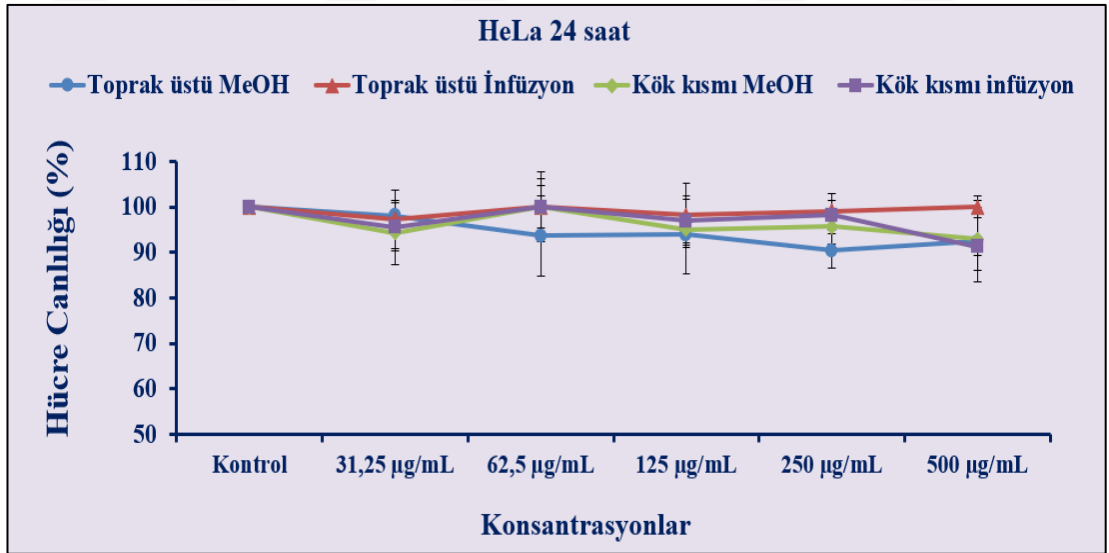
Ancak, toprak üstü kısmı MeOH ekstraktının HeLa hücre hatlarına karşı doza ve zamana bağlı bir antiproliferatif etkisi oluşmuştur. Uygulamanın yapıldığı konsantrasyonlarda 24. saatteki hücre canlılığı Grafik 4.8’de ve canlılık oranları (%) Tablo 4.6’da sırasıyla gösterilmiştir.



Şekil 4.8 HeLa hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 24. saatindeki morfolojik görüntüleri.



Şekil 4.9 HeLa hücrelerinin ekstraktlar ile muamelesinin 48. saatindeki morfolojik görüntüleri.

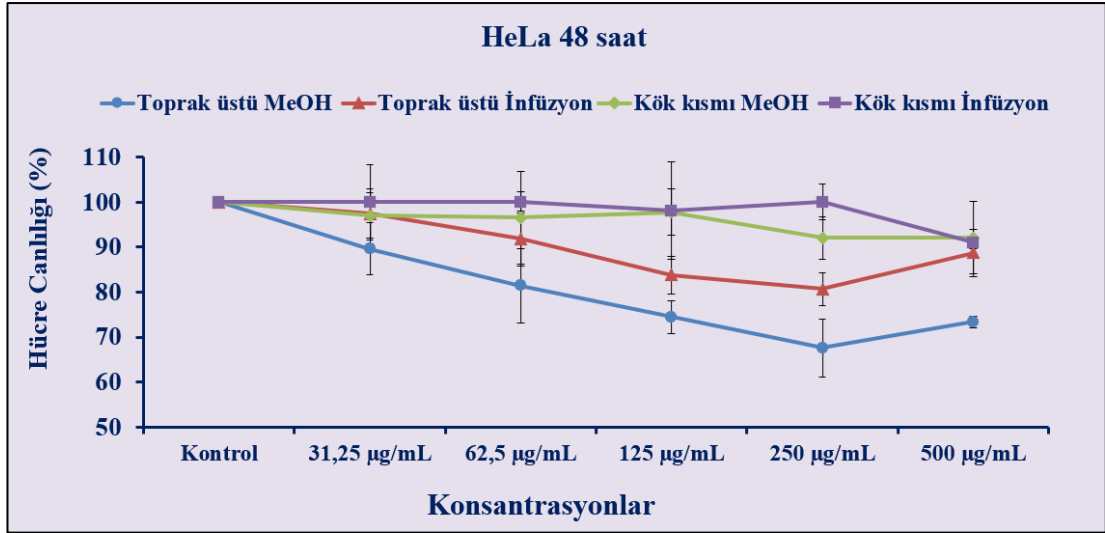


Grafik 4.8 Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 24 saat sonra HeLa hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

Tablo 4.6 HeLa hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 24. saat canlılık oranı (%). Veriler± standart hata şeklinde sunulmuştur.

Hücre canlılığı %				
Ekstrakt konsantrasyonu (µg/mL)	Toprak üstü MeOH (%)	Toprak üstü infüzyon (%)	Kök kısmı MeOH (%)	Kök kısmı infüzyon (%)
Kontrol	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
31,25 µg/mL	98,1±0,2	97,3±0,4	94,3±7,0	95,5±5,3
62,5 µg/mL	93,6±8,8	100,0±4,6	100,0±6,3	100,0±7,7
125 µg/mL	93,8±8,5	98,1±7,1	95,0±3,4	96,9±4,8
250 µg/mL	90,4±3,1	99,1±3,8	95,6±3,9	98,2±3,2
500 µg/mL	92,4±8,9	100,0±2,4	92,9±7,0	91,3±2,0

Toprak üstü kısmı MeOH ekstraktı, 48 saat sonra HeLa hücre canlılığını 250 µg/mL'de %67,6 ± %6,5 oranında azaltmıştır. Diğer taraftan, toprak üstü kısmı infüzyon ekstraktı HeLa hücrelerine karşı doza ve zamana bağımlı bir antiproliferatif etki sergilemiştir. Toprak üstü kısmının infüzyon ekstraktı, 48 saat sonra 250 µg/mL'de kontrole karşı HeLa hücre canlılığını %80,7 ± %3,6'ya kadar azaltmıştır. Uygulamanın yapıldığı konsantrasyonlarda 48. saatteki hücre canlılığı Grafik 4.9'de ve canlılık oranları (%) Tablo 4.7'de sırasıyla gösterilmiştir.



Grafik 4.9 Toprak üstü ve kök MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarda 48 saat sonra Hela hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

Tablo 4.7 HeLa hücre hattı üzerinde toprak üstü ve kök ekstraktının 48. saat canlılık oranı (%). Veriler standart hata şeklinde sunulmuştur.

Hücre canlılığı %				
Ekstrakt konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)	Toprak üstü MeOH (%)	Toprak üstü infüzyon (%)	Kök kısmı MeOH (%)	Kök kısmı infüzyon (%)
Kontrol	100,0\pm0,0	100,0\pm0,0	100,0\pm0,0	100,0\pm0,0
31,25 $\mu\text{g/mL}$	89,6\pm5,8	97,5\pm5,4	97,1\pm5,0	100,0\pm8,4
62,5 $\mu\text{g/mL}$	81,4\pm8,3	91,9\pm6,2	96,5\pm10,3	100,0\pm2,3
125 $\mu\text{g/mL}$	74,4\pm3,6	83,9\pm4,2	97,8\pm5,2	98,1\pm10,8
250 $\mu\text{g/mL}$	67,6\pm6,5	80,7\pm3,6	92,1\pm4,8	100,0\pm4,0
500 $\mu\text{g/mL}$	73,4\pm1,3	88,7\pm5,3	92,1\pm8,1	91,0\pm1,4

5. TARTIŞMA

Antibiyotiklere dirençli bakteriler, insan sağlığını tehdit eden en önemli unsurlardan biridir (Huemer vd., 2020; Murray vd., 2022). Günümüzde antibiyotik direncinin ciddi bir problem olmasında kuşkusuz antibiyotiklerin aşırı ve yanlış kullanılmaları önemli bir faktör olmuştur (Araç vd., 2019; Uc-Cachón vd., 2019; Yoon vd., 2021). Günümüzde mevcut antibiyotiklerin yetersiz kalması, enfeksiyon hastalarının tedavisinde zorlukların yaşanmasına neden olmaktadır. Bu durum hastanede yatış süresinin uzaması, ekonomik kayıplar ve en önemlisi de mortalite oranlarının yükselmesi ile sonuçlanmaktadır. Antibiyotiklere karşı direnç doğal veya kazanılmış direnç mekanizmaları ile ortaya çıkabilir (Alavi vd., 2021). Antibiyotiklerin aşırı kullanımı nedeniyle mikroorganizmalar uyum sağlamak zorunda kaldığında antimikrobiyal direnç artar. Antibiyotiklere direnç geliştirmiş mikroorganizmalar hayatta kalır ve zamanla çoğalarak popülasyonda baskın hale gelirler. Hayatta kalan bu mikroorganizmaların genetik materyallerinde bulunan direnç genleri diğer bakterilere horizontal olarak yayılabilir. Bu da antibiyotiklere dirençli bakteri kökenlerinin yaygınlaşmasına neden olur. Antibiyotiklere direnç geliştirmiş bakterilere karşı mücadele sırasında bilinen antibiyotiklerin yetersiz kalması, yeni ve daha etkili antibakteriyel ilaçların keşfini zorunlu hale getirmiştir (Uddin vd., 2021). Bu nedenle, doğal ve güvenilir bileşiklerin keşfedilmesi önemlidir (Gorlenko vd., 2020). Bitkiler değişik iyileştirici özelliklere sahiptir ve bu sebeple çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaları binlerce yıl öncesine dayanmaktadır (İskender vd., 2019). Bitkiler, ikincil metabolitleri ile yeni ve etkili antibakteriyel ajanların geliştirilmesi için yüksek potansiyele sahiptirler (Acet ve Özcan, 2018). . Türkiye çok zengin bir floraya sahip olup, birçok tıbbi, ekonomik ve aromatik bitkiye ev sahipliği yapmaktadır. Bu amaçla bitkilerin, morfolojik, taksonomik, fitokimyasal ve farmakolojik açılarından test edilmesi ve potansiyellerinin keşfi önemlidir (Abak, 2018). Biyoaktif etkileri olduğu bilinen ve uçucu yağ asitleri içeriği bakımından zengin olmasının yanı sıra çay ve baharat olarak da ticareti yoğun olarak yapılan bitkiler, çoğunlukla Lamiaceae ailesi içerisinde yer almaktadır (Kocabas ve Karaman, 2001; Özkan, 2007). Lamiaceae ailesindeki türler sahip oldukları etken bileşikler nedeniyle çoklu ve yüksek biyolojik ve farmakolojik aktivitelere sahiptir (Abak, 2018). Lamiaceae ailesinin üyelerinde farklı biyoaktif bileşikler arasında

bulunan ekdisteroidler, flavonoidler, iridoidler, terpenoidler, fenoliklerin yanı sıra farklı antimikrobiyal (antibakteriyel, antifungal), sitotoksik ve antioksidan etkiler sergileyen alkaloidlerin varlığı doğrulanmıştır (Mamadalieva vd., 2021).

Phlomoides moluccelloides (Bunge) Salmakı bitkisi de Lamiaceae ailesi içerisinde yer alır. Bu tez çalışmasında ise, *Phlomoides moluccelloides* (Bunge) Salmakı bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlarından elde edilen MeOH ve infüzyon ekstraktlarının biyolojik aktivitesi kapsamlı şekilde değerlendirilmiştir.

Çalışmamız kapsamındaki biyolojik aktivite testlerinden ekstraktların referans bakteri suşlarına karşı minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Çalışmada dört bitki ekstraktının üç Gram-pozitif (*E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633), ve dokuz Gram negatif (*E. coli* ATCC 25922, *E. coli* NCTC 13846, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *K. pneumoniae* NCTC 13440, *S. typhimurium* ATCC 14028, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. aerogenes* ATCC 13048, *A. haemolyticus* ATCC 19002) referans bakteri suşuna karşı antibakteriyel etkinliği araştırılmıştır. Hiçbir ekstraktın bu bakterilere karşı çalışılan konsantrasyonları için MİK değeri (> 2000 µg/mL) tespit edilememiştir. Bununla birlikte *P. moluccelloides*'in de üyesi olduğu Lamiaceae ailesi, tarih boyunca çoğunlukla ilaç olarak kullanılmıştır. Eski kayıtlara göre, Lamiaceae familyasının çeşitli türleri kaygı ve depresyonu azaltmak ve baş ağrılarının tedavisi için kullanılmıştır (Abdelhalim ve Hanrahan, 2021). Literatürde çeşitli *Eremostachys* türlerinin antibakteriyel aktivitesini araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin *Eremostachys macrophylla* Montbret & Aucher Benth. toprak üstü kısımlarının N-hekzan, diklorometan ve MeOH ekstraktları ile *E. azerbaijanica* rizomlarının MeOH ekstraktlarının test edilen bakterilere karşı bizim çalışmamızda olduğu gibi antibakteriyel aktivite sergilemediği rapor edilmektedir (Asgharian vd., 2017 ; Asnaashari vd., 2017). Başka bir çalışmada ise *Phlomis pungens*'in yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen MeOH ekstraktlarının 9 farklı bakteri (*K. pneumoniae* ATCC 4352, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Salmonella enteritidis* KUEN 349, *Proteus mirabilis* CCM1944, *E. coli* ATCC 25922) suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteleri test

edilmiştir. Buna göre ekstraktların *B. cereus* ATCC 11778 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine karşı antibakteriyel etkileri saptanmıştır (Özkan vd., 2009). Başka bir çalışmada, *E. azerbaijanica*'nın rizomlarının diklorometan ve N-hekzan ekstraktlarının *S. aureus* ve *S. epidermidis*'e (Gram-pozitif bakteriler) karşı antibakteriyel aktivite sergilediği gösterilmiştir (Asgharian vd., 2017). Ayrıca *E. laevigata*'nın kök, gövde ve çiçek kısımlarından elde edilen uçucu yağların da yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Esmaceli, 2012). Ek olarak, *E. laciniata*'dan saflaştırılan iridoid glikozitlerin özellikle *B. cereus*, *S. aureus* (Gram-pozitif bakteriler) ve *E. coli*, *P. mirabilis* (Gram-negatif bakteriler)'e karşı dikkat çekici bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Modaressi vd., 2009).

Mevcut çalışmada, *P. moluccellides*'in toprak üstü ve kök kısımlarının MeOH ve infüzyon ekstraktlarının yüksek konsantrasyonlarda bile test edilen Gram pozitif (*S. aureus*, *E. faecalis* ve *B. subtilis*) ve Gram negatif (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *A. haemolyticus*) bakterilere karşı herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermediği belirlenmiştir. Çalışmamızda kullanılan MeOH ve infüzyon ekstraktlarının çalışılan on iki bakteri suşuna karşı MİK değerinin hesaplanamamasının nedeni, kimyasal içerik miktarlarının düşük olmasından, bitkinin yetiştiği coğrafi bölgeden, hasat zamanı veya ekstraksiyon yönteminden kaynaklanıyor olabilir. Çünkü bitkinin sahip olduğu kimyasal içeriği; geliştiği mevsime, coğrafi koşullara, toprak şartlarına, hasat zamanına, farklı kurutma tekniklerine ve distilasyon yöntemine göre değişim gösterebilmektedir (Baydar vd., 2004).

Quorum sensing, bakteriyel dirençle mücadele etmeyi amaçlayan antibakteriyel ilaç keşif programlarında alternatif bir terapötik strateji olarak araştırılmaktadır. Bakterilerde 'Quorum Sensing' ya da 'çevreyi algılama' olarak da isimlendirilen bu mekanizma, bakteri hücrelerinde toksin üretimi, biyofilm oluşumu ve çeşitli virülans faktörlerinin sentezi gibi bir takım fenotipik ve patojenik özelliklerini regüle eder. Son çalışmalarda, bakteri hücrelerinde yeni ve önemli terapötik hedefler saptanmıştır (Medarametla vd., 2021). QS sistemleri quorum sensing moleküllerinin (QSM) üretimini ve tespitini içermektedir. Bu bileşiklerin sentez yapısını ve stabilitesini anlamak, bu sistemlerin terapötik olarak hedeflenmesi için stratejiler geliştirmek bakımından önemlidir (Falà, vd., 2022). Nitekim son yıllarda antibiyotikler

etkinliğini kaybetmeye başlamıştır ve bu sebeple, bakteri direncine karşı alternatif tedavi ve yeni stratejilerin bulunması gerekli hale gelmiştir (Ibrahim, 2022). Günümüzde yapılan araştırmalar, bitkilere ait potansiyel QS sistemi inhibitörlerinin, bakteriyel patojeniteyi hafifletebileceğini ve bakteri hücrelerini öldürmek yerine bakteriyel QS sistemlerini hedefleyip, direnç geliştirmek için selektif baskıyı azaltacağı veya yavaşlatabileceğini göstermiştir (Önem ve Çevikbaş, 2018). Özellikle bitkilerden elde edilen ekstraktlardaki bazı doğal maddelerin, Gram-negatif bakterilerin QS sistemlerini inhibe etme konusunda büyük bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (Bosgelmez-Tinaz vd., 2007). Bu nedenle, QS inhibitörleri kullanılarak patojenik bakterilerin QS sistemine müdahale etmek, bulaşıcı hastalıkların yönetimi ve tedavisi için yeni bir yol oluşturmaktadır (Uğurlu vd., 2016).

Bildiğimiz kadarıyla bu tez çalışması, *P. moluccelloides* bitki türünün anti-QS sistemi aktivitesinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışma kapsamında *P. moluccelloides*'in toprak üstü ve kök kısımlarından hazırlanan MeOH ve infüzyon ekstraktlarının QS mekanizması ile swarming hareketi, piyosiyanın ve viyolasin pigmentlerinin üretimi ve biyofilm oluşumu üzerine inhibitör etkileri araştırılmıştır. Piyosiyanın, *P. aeruginosa* suşları tarafından üretilen ikincil bir metabolittir ve konakçı hücrelerde oksidatif stresi indükleyerek, sitotoksisite sergiler (Gonçalves ve Vasconcelos, 2021). *P. aeruginosa*'nın neden olduğu hastalığın nedenlerinden biri olan piyosiyanın gibi pek çok virülans faktörünün ekspresyonu, QS sisteminin kontrolünde gerçekteşir (Kostylev vd., 2019). *P. aeruginosa*'da virülans faktörlerinin üretimi, düzenlenmesi ve denetimi, büyük oranda QS sistemlerine, homoserin laktona (AHL) dayalı küçük sinyal moleküllerine ve özellikle transkripsiyonel aktivatör proteinlerine bağlıdır (Stein, 2005; Venturi, 2006). QS virülans faktör sisteminin düzenleyici mekanizması, hücre yoğunluğu ile koordineli çalışır ve bakteri hücrelerini antibiyotiklere karşı daha dirençli hale getirir (Stein, 2005).

P. aeruginosa QS sistemini hedef alan yeni teknikler, MDR *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına karşı yeni anti-enfektif ilaçların geliştirilmesine yardımcı olabilmektedir (Li vd., 2004). Çalışmamızın sonuçlara göre, *P. moluccelloides* toprak üstü kısmına ait metanol (MeOH) ekstraktının, bakteri üremesine müdahale etmeden piyosiyanın üretimini $81,7 \pm 0,2$ oranında (kontrole karşı $p < 0,05$) inhibe ettiği

gözlenmiştir. Bununla birlikte diğer ekstraktlar, test edilen konsantrasyonda piyosiyenin üretimini engelleyememiştir. Bu, *P. molucelloides*'in toprak üstü kısmında piyosiyenin pigmentinin üretimini engelleyen bileşiklerin var olduğu anlamına gelmektedir. İnfüzyon ekstraktlarında inhibisyon tespit edilmediği için, söz konusu bileşiklerin muhtemelen metanol (MeOH) ile ekstrakte edildiği düşünülmektedir.

Flavonoidler, *P. aeruginosa* QS tarafından düzenlenen virülans faktörlerinin üretiminin bir inhibitörüdür. LasR'ye flavonoid bağlanması, bu flavonoidin, 3OC12-HSL'ye benzer görünen bir afinite ile tercihen 3OC12-HSL ile aynı bölgeye bağlandığını tahmin etmektedir. LasR, oligomerize olabilen fonksiyonel bir monomer yapısının oluşumu için gerekli olan tüm amino asit kalıntıları ile temas kuramayacaktır. Böylece flavonoid bileşiği bağlayan yeni oluşan LasR zinciri oligomerize edilmemektedir. 3OC12-HSL, bu flavonoidin varlığında aktif LasR kompleksleri oluşturamamaktadır. Ayrıca, afinitelerdeki benzerlik, iki molekülün her birinin, bir kez LasR'ye bağlıyken diğerinin yerini almakta neden zorluk çektiğini açıklayabilir (Hernando-Amado vd., 2020; Paczkowski vd., 2017).

Fenolik bileşikler bu cinsin aktif bileşenleridir, bu nedenle başka bir çalışmada test edilen fenolik bileşikler, normal kültürler ile karşılaştırıldığında büyümeyi etkilemeksizin piyosiyenin üretimini ve biyofilm oluşumunu azaltmıştır (Ugurlu vd., 2016). Bu sonuç bulgularımız ile benzerlik göstermektedir. Bakteri üremesini engellemeyen veya mikroorganizmaları öldürmeyen QS inhibitör bileşiklerin, dirençli bakterilerin gelişimi için seçici bir baskı oluşturma olasılığı daha düşüktür. Başka bir çalışmada, *Ocimum sanctum*'dan (Lamiaceae) elde edilen infüzyon ekstraktının da, *P. aeruginosa* PAO1'de AHL aracılı piyosiyenin pigment üretiminde önemli azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Musthafa vd., 2010). Diğer bir çalışmada, *P. aeruginosa* PAO1'de piyosiyenin üretimi üzerinde farklı flavonoid konsantrasyonları test edilmiş ve 100 ve 400 µg/mL'lik konsantrasyonların, *P. aeruginosa* PAO1 büyümesini etkilemeden piyosiyenin üretimi üzerinde önemli bir olumsuz etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. 300 µg/mL uygulamada piyosiyenin üretiminde %75'lik bir düşüş meydana gelmiş ve 400 mg/mL'de piyosiyenin üretiminin neredeyse tamamen inhibisyonu gözlenmiştir (Vasavi vd., 2016). Başka bir çalışmada apigenin (Isoflavonoids) için %57 ve akasetin (Isoflavonoids) için

piyosiyenin sentezinde %53 inhibisyon oranı ile önemli bir düşüş belirlenmiştir (Pachaiappan vd., 2022). Hispidulin (HPD) (flavonoid bileşik), sub-MİK konsantrasyonunda (75 µg/mL), *P. aeruginosa* suşlarında piyosiyenin pigment üretimini $71,69 \pm 3,46$ 'ya düşürmüştür (Pachaiappan vd., 2022).

Swarming hareketi, *P. aeruginosa* suşlarının biyotik veya abiyotik yüzeylere bağlanmasını ve biyofilm oluşturmalarını sağlayan bir virülans faktörüdür. Ayrıca bakteriler, ortamdaki hareketlilikleri ile içinde buldukları ortama adapte olurlar (Alam vd., 2020). *P. aeruginosa*'da yayılma hareketliliği, uygulanan çoğu antibiyotiğe karşı artan direnç ve lokal enfeksiyon bölgelerinden uzak organlara bakteriyel yayılmaya dahil olmasıyla ilişkilidir (Coleman vd., 2020). Piyosiyaninde olduğu gibi, *P. aeruginosa* PAO1 swarming hareketliliği, C4-AHL sinyal molekülleri kullanılarak rhl sistemi tarafından düzenlenir (Tapia-Rodriguez vd., 2019). Sunulan çalışma, tüm ekstraktların *P. aeruginosa* PAO1 suşunda swarming hareketini kısmen baskıladığını göstermiştir. Piyosiyenin pigment üretiminin de rhl sistemi tarafından düzenlendiği göz önüne alındığında, *P. moluccelloides*'in rhl sistemine müdahale ettiği söylenebilir.

Lamiaceae ailesi, çeşitli gıda patojenleri ile mücadelede anti-QS özelliklerine sahip bileşenleri içeren önemli aromatik bitkiler olarak kabul edilir (Camele vd., 2019). Önceki bir çalışmada, 0,2 µl/mL tarçın yağı içeren swarming agarda *P. aeruginosa* PAO1'e karşı yayılma inhibisyonu gözlemlenebilmiştir (Mahmud, 2021). Önceki başka bir çalışmada, *Lamiaceae* familyasına ait *Coridothymus capitatus* EO (CCEO) varlığında, test edilen tüm suşlar için piyosiyenin üretiminde (%84 ile %100 arasında) ciddi bir azalma olduğu gösterilmiştir. Ayrıca hemen hemen tüm test edilen suşlar için *P. aeruginosa* yayılma ve yüzme hareketliliğini güçlü bir şekilde etkileyebilir (Vrenna vd., 2021). Swarming hareketinin inhibisyonu testi için, tarçın (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) ve fesleğen (*Ocimum basilicum* Linn)'den elde edilen ekstraktlar, 100–50 µg/mL konsantrasyonlarda *P. aeruginosa* PAO1 kullanılarak test edilmiş ve 50 µg/mL'lik en düşük konsantrasyonda hiçbir inhibisyon gözlenmemiştir. Bu nedenle, populasyon hareketliliğinin inhibisyonu, yüzeylerin ve ekipmanın patojenik mikroplar tarafından kolonize olmasını ve ardından biyofilmler oluşturmalarını önleyebilir (Tamfu vd., 2021). Bakteriler, yüzeyleri kolonize etmek için swarming hareketlerini kullanır ve bu adım, mikrobiyal direncin ana

nedenlerinden biri olan yüzeylerde biyofilm formasyonlarının oluşmasını sağlar (Tamfu vd., 2021; Kocak vd., 2021). Daha önceki çalışmalardaki gözlemin aksine, bu çalışmada kullanılan bitki ekstraktlarının çoğu, daha yüksek konsantrasyonlarda bile herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermemiştir. Bu, ekstraktların içerdiği bileşiklerin, bakterilerin QS sistemini engelleyebilen bileşiklere sahip olduğunu göstermiştir.

P. aeruginosa, ekzopolisakkaritler (EPS'ler), nükleik asitler ve proteinlerden oluşan karmaşık bir biyofilm matrisi üretir (Jacobs vd., 2022). Biyofilm tabakası bakteri hücrelerini dezenfektanlar, antibiyotikler ve konakçının bağışıklık sistemi gibi çeşitli çevresel streslere karşı korumaktadır (Maurice vd., 2018). *P. aeruginosa* biyofilm oluşturmak için iki sistem kullanmaktadır. LasI sistemi, sinyal molekülü olarak N-(3-oksododekanoyl) -L-homoserin (OdDHL) laktonlarını (3OC12-HSL), RhlI sistemi ise sinyal molekülü olarak N-bütiril-L-homoserin (BHL) laktonlarını (C4-AHL) kullanır (Sırıken ve Veli, 2017). Bununla, birlikte test edilen ekstraktların, çalışılan konsantrasyonlarda biyofilm oluşumu üzerinde herhangi bir inhibitör aktivitesi tespit edilmemiştir. Bunun sebebinin ise ekstraktların, *P. aeruginosa*'da biyofilm sentezi için QS yollarını inhibe edememesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. *P. moluccelloides* bitkisi için literatürde biyofilm inhibisyonunu araştıran bir çalışma olmadığı gözönüne alındığında, mevcut çalışmanın bu konuda fikir verici nitelikte olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte bazı çalışmalarda fenollerin ve flavonoid bileşiklerinin biyofilm oluşumunu engelleyebileceği gösterilmiştir. Bir çalışmada, flavonoidler *P. aeruginosa*'da tip IV pili ve flagella motilitesi üzerinde bir etki göstererek, bu bileşiklerin QS inhibisyonu ve biyofilm direnci özelliklerini bildirmiştir. Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan hispidulin (HPD), *P. aeruginosa*'da virülans ve biyofilm gelişimini baskılamıştır (Anju ve., 2022). Başka bir çalışmada rutin, *P. aeruginosa*'da biyofilm oluşumunu inhibe etmiş ve bu etkinin, fitokimyasalın bir antibiyotik ile kombine edildiğinde daha da etkili olacağı düşünülerek gentamisin ile birlikte biyofilm inhibisyonu aktivitesinin konsantrasyona bağlı bir şekilde değiştiği bulunmuştur (Deepika vd., 2018).

Çalışmada test edilen ekstraktların hiçbirinin viyolasin pigment üretimini engelleyemediği gözlenmiştir. Bu sonuçlar, *P. moluccelloides* ekstraktlarının, *cvi* sistemi üzerinde herhangi bir inhibitör etkisinin olmadığını göstermiştir. *P.*

moluccelloides bitkisi için literatürde viyolasin inhibisyonunu araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte yapılan bir çalışmada, fenolik bileşiklerin *C. violaceum* 12472'de viyolasin sentezini engelleyebildiği, bakterilerde QS aracılı işlemlerde sinyal üretimini ve sinyal alımını önleyebildiği bulunmuştur (Tamfu vd., 2021). Bir çalışmada, hispidulin (HPD) sub-MİK konsantrasyonunda (75 µg/mL), raportör bakterilerin ve test bakterilerinin viyolasin pigment üretimini sırasıyla %81,92 ± 1,90 ve %71,69 ± 3,46'ya düşürmüştür (Anju vd., 2022). Bir çalışmada, naringenin (flavonoid), etkisini QS düzenleyicisi LasR'yi doğrudan bağlayarak ürettiğini, dolayısıyla fizyolojik aktivatörü N-(3-oxo-dodecanoyl)-L-homoserine lactone (3OC12-HSL) ile rekabet ettiğini göstermektedir. Bu bulgulara göre, 3OC12-HSL miktarının düşük olduğu erken üstel büyüme fazında naringenin, *P. aeruginosa* QS yanıtını etkin bir şekilde inhibe etmektedir. Büyümenin sonraki aşamalarında, 3OC12-HSL konsantrasyonu LasR'yi bağlamak için yeterli bir eşiğe ulaştığında, naringenin QS yanıtını etkili bir şekilde inhibe etmeyecektir (Hernando-Amado vd., 2020).

LasR'ye flavonoid bağlanmasının modellenmesi, bu flavonoidin, 3OC12-HSL'ninkine benzer bir afinite ile tercihen 3OC12-HSL ile aynı bölgeye bağlandığını tahmin eder. LasR, oligomerize olabilen fonksiyonel bir monomerin yapısının oluşumu için gerekli olan tüm amino asit kalıntıları ile temas kuramayacaktı, bu nedenle flavonoid bileşiği bağlayan yeni oluşan LasR zinciri oligomerleşmeyecek ve 3OC12-HSL olmayacaktı. Bu flavonoidin varlığında ise aktif LasR kompleksleri oluşabilir. Ayrıca, afinitelerdeki benzerlik, yalnızca daha yüksek afiniteler sunan ligandların, orijinal olarak bağlı ligandın yerini alabileceği belirtilmiş olduğundan, iki molekülden her birinin, bir kez LasR'ye bağlandığında diğerini değiştirmekte neden zorluk çektiğini açıklayabilir (Paczkowski vd., 2017). Ayrıca, *P. aeruginosa* ve *C. violaceum* suşlarının Gram negatif bakteriler olması, lipofilik ester tabakası olan yüksek konsantrasyondaki etil pirüvatın hücre duvarından geçişini zorlaştırdığı (Wang vd., 2021) ve konsantrasyona bağlı olarak anti-QS etkilerinin eksilmesine sebep olduğu düşünülmüştür (Kaya vd., 2021).

Kullanılan *C. violaceum* ATCC 12472 bakteri suşu viyolasin pigment üretiminde, *P. aeruginosa* PAO1 bakteri suşu biyofilm oluşumunda uzun zincirli AHL moleküllerini kullanır. Sonuçlarımız, test edilen ekstraktların bu sinyal

moleküllerinin sentezini veya hedef reseptöre bağlanmasını durduramadığını işaret etmektedir. Çalışmamız *P. moluccelloides* türünün toprak üstü ve kök kısımlarından hazırlanan MeOH ve infüzyon ekstraktlarının swarming hareketi, piyosiyanın pigment üretimi ve viyolasin pigment üretiminin engellenmesi ve anti-biyofilm etkisi bakımından QS inhibitör etkinliğini değerlendiren ilk çalışma niteliğindedir. Çalışmada ekstraktların, viyolasin pigment üretimini ve biyofilm oluşumunu inhibe etmediği, ancak piyosiyanın pigment üretimi ve swarming hareketi üzerine inhibitör etkinliklerinin bulunduğu tespit edilmiştir.

Meme ve servikal kanserleri, dünya genelinde insanlar arasında en sık görülen kanser türleri arasındadır (Rawat ve Reddy, 2022). Kanser tedavisinde kemoterapi, immün terapi, hormonla tedavi, radyasyon tedavisi, hedefe yönelik tedavi, cerrahi müdahale gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (National Cancer Institute, 2022). İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2), östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve Ki67 ekspresyonuna bağlı olarak meme kanseri 4 temel alt türde sınıflandırılmaktadır (Vignoli vd., 2020). Kemoterapötik ilaçların kanser hücrelerinin yanı sıra normal hücrelere de sitotoksik etki göstermesi ciddi bir problem olmaktadır. Bu nedenle kanserle mücadelede daha güvenilir ve etkili materyallerin bulunması veya geliştirilmesi gerekmektedir (Altunoglu vd., 2022; Can vd., 2020; Sharif vd., 2021). Kanser kök hücrelerinin mevcudiyeti, meme kanserinde hem tedavi direncinden hem de heterojeniteden ve ayrıca hastalık nüksetmesinden sorumlu ana faktörlerden biridir (Kusoglu vd., 2020).

Mevcut tez çalışması kapsamında, *P. moluccelloides* bitkisinin toprak üstü ve kök bölümlerinden elde edilen MeOH ve infüzyon ekstraktlarının, MDA-MB-231 (ER-/PR-/HER2-), MCF-7 (ER+/PR+) meme kanseri hücreleri ve HeLa (insan servikal kanseri) hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisi belirlenmiştir. Antiproliferatif aktivite, MTT testi ile çalışılmış olup, 24 ve 48 saat sonunda beş farklı konsantrasyonun (31.25, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL) etkisi araştırılmıştır.

MTT analizi sonuçlarına göre tüm ekstraktların sırasıyla 24. saatte HeLa ve MDA-MB-231 hücrelerine yönelik önemli bir antiproliferatif aktivitesi gözlenmemiştir. Bununla birlikte, toprak üstü kısmının MeOH ekstraktının MDA-MB-231 ve HeLa hücre hatlarına karşı doza ve zamana bağlı hafif bir antiproliferatif etkisi vardır.

Ayrıca, toprak üstü kısmına ait infüzyon ekstraktı, HeLa hücrelerine karşı doza ve zamana bağlı hafif bir antiproliferatif etki sergilemiştir. Toprak üstü kısmının infüzyon ekstraktı, kontrole kıyasla HeLa hücre canlılığını azaltmıştır. Öte yandan, tüm ekstraktlar 24. ve 48. saatlerde MCF-7 hücrelerine karşı doza bağımlı bir antiproliferatif aktivite sergilemiştir. Ayrıca MCF-7 hücreleri üzerinde hücre canlılığını en fazla azaltan ekstrakt, her iki periyot için de toprak üstü kısmı MeOH ekstraktı olmuştur. Diğer ekstraktların IC₅₀ değerleri >1000 µg/mL iken, en düşük IC₅₀ değeri (875,7 µg/mL) 48. saatte MCF-7 hücrelerine karşı toprak üstü kısmının MeOH ekstraktında hesaplanmıştır.

Önceki bir çalışmada *E. macrophylla*'nın kök kısmından hazırlanan DCM ve N-heksan ekstraktlarının, HT-29 ve A549 hücre hatlarına karşı IC₅₀ değerleri sırasıyla, 195 ile 229 µg/mL ve 253,2 µg/mL ile >1000 olarak bildirilmiştir. MeOH ekstraktının her iki hücre hattına karşı IC₅₀ değerleri ise mevcut çalışmada olduğu gibi >1000 µg/mL olarak belirlenmiştir (Asgharian vd., 2017b). Bu çalışmada, *P. molucelloides*'in kök kısmından hazırlanan MeOH ekstraktlarının MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarına karşı IC₅₀ değerleri >1000 µg/mL olarak bulunmuştur.

Literatürde rosmarinik asit (RA), krizoerol, osthol ve pinocembrin'in MDA-MB-231, MCF-7 ve HeLa dahil olmak üzere çeşitli kanser hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivitesini bildiren birçok çalışma bulunmaktadır (Amrutha vd., 2014; Berdowska vd., 2013; Chou vd., 2007; Zhu vd., 2021). Krizoerol, kimyasal olarak luteolin'in 3'-metoksi türevi olan bir flavondur. A549 hücre hattına karşı yapılan bir çalışmada, krizoerolün kanser hücrelerinde LC3II ve Beclin-1 ekspresyonunu artırarak otofajiyi indüklediği bildirilmiştir. Ayrıca krizoerolün MAPK/ERK yolunu inhibe ettiği ve A549 hücrelerinin göçünü ve yayılımını sınırladığı belirtilmiştir (Wei vd., 2019). Osthol, Apiaceae ailesinden izole edilen doğal bir kumarindir. Farmakolojik çalışmalar, ostholün bazı kolon, prostat, beyin, akciğer, lösemi, serviks, yumurtalık, böbrek, karaciğer ve meme kanseri hücre hatlarına karşı antikanser aktivite sergilediğini göstermiştir. Kanser hücresinin tipine ve kullanılan doza göre değişmekle birlikte ostholün etki mekanizmalarının, apoptozu indükleyerek, anti-anjiyogenez yaparak, metastazı inhibe ederek, hücre proliferasyonunu ve göçünü bloke ederek çalıştığı belirlenmiştir (Shokoohinia vd., 2018). Pinocembrin, birçok bitki türünde bulunan birincil bir flavonoiddir. Kolon ve insan lösemi hücre hatları

üzerinde yapılan çalışmalar, pinocembrinin kanser hücrelerinde apoptozu indüklediğini göstermiştir. Ayrıca, pinocembrinin, kolon kanseri hücre hatları olan HT-29 ve HCT-116'da süperoksit anyon radikallerini ve nitrojen dioksiti aşağı yönlü regüle ettiği bulunmuştur (Rasul vd., 2013).

In vitro ve *in vivo* çalışmalar, flavonoidlerin güçlü antikanser aktiviteler sergileyebileceğini göstermiştir (Abotaleb vd., 2018; Rodríguez-García ve Sanchez-Quesada, 2019). Flavonoidler, antikanser etkileri sergileyen çok çeşitli bileşiklerdir. ROS süpürücü enzim aktivitelerini modüle ederler, hücre döngüsünün durdurulmasına katılırlar, apoptozu indüklerler, otofaji ve kanser hücresi çoğalmasını ve istilacılığını engellerler (Chirumbolo vd., 2018; Perez-Vizcaino ve Fraga, 2018). Hem antioksidan hem de prooksidan aktiviteler, flavonoidlerin antikanser etkilerinde yer almaktadır (Oliveira-Marques vd., 2009). Genistein izoflavonlar, G2/M fazında meme kanseri hücresi tutuklanmasını ve ardından ROS'a bağlı apoptozu desteklemiştir (Kaushik vd., 2019). Başka bir çalışmada Daidzein (izoflavonlar), ROS oluşumu nedeniyle meme kanseri MCF-7 hücrelerinde apoptozu desteklemiştir (Jin vd., 2010). Flavanon hesperetin, ROS üretimini artırarak mitokondriyal apoptotik yolu aktive edip (Kopustinskiene vd., 2020) insan meme kanseri MCF-7 hücrelerinde apoptozu indüklemiştir (Palit vd., 2015). İzoflavonoidler, östrojen reseptörü-a ekspresyonunu düzenleyebilir ve MCF-7 hücre hattında proliferasyonu, farklılaşmayı ve aktive edici apoptozu aşağı yönlü düzenleyebilir (Choi vd., 2014). Gerçekte, flavonoidlerin, normal hücreler üzerinde çok az etkili veya hiç etkili olmayan çeşitli insan kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteyi ortaya çıkardığı gösterilmiştir. Bu gerçek, antikanser tedavisi için potansiyel flavonoid bazlı kemoterapötiklerin geliştirilmesi açısından büyük ilgi uyandırmıştır (Plochmann vd., 2007; Sghaier vd., 2011). Önceki çalışmalar, *E. moluccelloides*'in toprak üstü MeOH ekstraktının çeşitli biyolojik etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Ekstrakt içerisinde, iridoid glikozitler, 6b-hidroksi-7-epiloganin, lamalbide, lamalbidik asit, şanzhisid metil ester, sesamosid bileşenleri belirlenmiştir (Çalış vd., 2007). Ayrıca, 5-hidroksi-4',7-dimetoksiflavon, klorojenik asit, ekinakozit, p-kumarik asit, vanilik asit (12), fliyosid II)'ye ek olarak, apigenin-7-O-(3'',6''-Ep-dikumaroil)- β -glukozit ve 2 β ,14-dihidroksi -11-formil-12-karboksi-13-des-izopropil-13- hidroksimetil-abieta-

8,11,13-trien- 16- lakton, *E. moluccelloides*'in toprak üstü kısmından elde edilen bileşikler arasındadır (Qiu vd., 2019).

Bu bileşenlerin kanseri önlemede veya kanserle mücadelede yüksek potansiyele sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bu bilgiye dayanarak, bu çalışmada tespit edilen toprak üstü kısma ait MeOH ekstraktının antiproliferatif aktivitesinin, yukarıda belirtilen kimyasallardan kaynaklanması muhtemeldir.

Özetlenecek olursa mevcut çalışma göstermiştir ki;

- I. *P. moluccelloides*'in antibakteriyel ve anti-biyofilm aktiviteleri bulunmamıştır. Bununla birlikte, swarming hareketliliği üzerindeki inhibitör etkinlikleri dikkat çekicidir. Özellikle, *P. moluccelloides*'in toprak üstü kısmının MeOH ekstraktı, piyosiyanın üretimi üzerinde güçlü inhibitör aktiviteye sahiptir.
- II. *P. moluccelloides*'in toprak üstü ve kök kısımlarının MeOH ve infüzyon ekstraktları, MCF-7 hücrelerine karşı doza bağlı antiproliferatif aktiviteye sahiptir.
- III. Toprak üstü kısmının MeOH ve infüzyon ekstraktları, HeLa hücrelerine karşı doza ve zamana bağlı antiproliferatif etkiye sahiptir.
- IV. Toprak üstü kısmının MeOH ekstraktı, MDA-MB-231 hücrelerine karşı doza ve zamana bağlı antiproliferatif etkiye sahiptir.
- V. Sonuç olarak, *P. moluccelloides* ekstraktları, özellikle toprak üstü kısmına ait MeOH ekstraktı, serviks ve meme kanserleriyle mücadelede faydalı etkilere sahip olma potansiyeli taşımaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırma, *P. moluccelliodes*'in toprak üstü ve kök kısımlarının MeOH ve infüzyon ekstraktlarının *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi, anti-QS aktivitesi ve antiproliferatif etkileri hakkında kapsamlı ön sonuçlar sağlamaktadır. Sonuçlara göre, *P. molucelloides*'in antibakteriyel ve anti-biyofilm aktiviteleri bulunmamıştır. Bu araştırma, *P. molucellides*'in toprak üstü ve kök kısımlarının MeOH ve infüzyon ekstraktlarının *in vitro* antibakteriyel ve anti-QS etkilerine dayanan bir ön çalışma olarak rapor edilmiştir. Bulgular, MeOH ekstraktlarının anti-piyosiyanın ve anti-swarming ajanların geliştirilmesi için yüksek potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

Diğer yandan, bitkinin özellikle toprak üstü kısmına ait MeOH ekstraktının kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif bir etkiye sahip olduğunu ve kansere karşı mücadelede umut verici bir terapötik yaklaşım sunabileceğini göstermektedir. *P. molucelloides* ekstraktlarının uygulanmasından sonra antiproliferatif aktivite sağlayan mekanizmaları göstermek için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır. Bu bitki ekstraktlarının antiproliferatif etkilerinin ortaya konulmasının, dünya genelinde kadınlardaki görülme sıklığı yüksek olan meme kanserine karşı yeni ilaç etken madde oluşturma potansiyeli hakkında fikir edinilmesini sağladığı düşünülmektedir.

Son olarak, çeşitli güçlü avantajlara rağmen, tıbbi bitkilerin güvenliği ve toksisitesi ile ilgili bazı endişeler vardır. Tıbbi bitkilerden elde edilen ilaçların kullanımıyla ilişkili toksikolojik zorlukların hafife alınması ciddi sağlık sorunlarına yol açabileceğinden, güvenli kullanımları için de ileri testlerin yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abak, F. (2018). Şanlıurfa ili Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasının florası bazı taksonların fitokimyasal ve etnobotanik özellikleri. *Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi: Yayınlanmamış Doktora Tezi*.
- Abdelhalim, A., & Hanrahan, J. (2021). Biologically active compounds from Lamiaceae family: Central nervous system effects. *Studies in Natural Products Chemistry*, 68, 255–315.
- Abotaleb, M., Samuel S.M., Varghese E., Varghese, S., Kubatka P., Liskova A., Busselberg D. (2018). Flavonoids in Cancer and Apoptosis. *Cancers*, 11, 28.
- Ahator, S. Dela, & Zhang, L. (2019). Small Is Mighty—Chemical Communication Systems in *Pseudomonas aeruginosa*. *Annual Review of Microbiology*, 73, 559–578.
- Ahmad, S., Fergus, K., & McCarthy, M. (2015). Psychosocial issues experienced by young women with breast cancer: the minority group with the majority of need. *Current Opinion in Supportive and Palliative Care*, 9(3), 271–278.
- Akşahin, M. (2020). *PhTAD türevli dihidropirol bileşiklerinin anti-kanser aktivitelerinin araştırılması*. Amasya Üniversitesi.
- Al-Ansari, M., Al-Humaid, L. A., Vijayaraghavan, P., Ravindran, B., Chang, S. W., Agastian, P., Rathi, M. A., & Balamuralikrishnan, B. (2019). Identification of phytochemical components from *Aerva lanata* (Linn.) medicinal plants and its in-vitro inhibitory activity against drug resistant microbial pathogens and antioxidant properties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1129–1133.
- Al-Maharik, N., & Jaradat, N. (2021). Phytochemical Profile, Antimicrobial, Cytotoxic, and Antioxidant Activities of Fresh and Air-Dried *Satureja nabateorum* Essential Oils. *Molecules*, 27(1), 125.
- Al-Thoubaity, F. K. (2020). Molecular classification of breast cancer: A retrospective cohort study. *Annals of Medicine and Surgery*, 49, 44–48.
- Alam, K., Al Farraj, D. A., Mah-e-Fatima, S., Yameen, M. A., Elshikh, M. S., Alkufeidy, R. M., Mustafa, A. E.-Z. M. A., Bhasme, P., Alshammari, M. K., & Alkubaisi, N. A. (2020). Anti-biofilm activity of plant derived extracts against infectious pathogen-*Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of Infection and Public Health*, 13(11), 1734–1741.
- Alatraktchi, F. A., Svendsen, W. E., & Molin, S. (2020). Electrochemical detection of pyocyanin as a biomarker for *Pseudomonas aeruginosa*: A focused review. *Sensors*, 20(18), 5218.

- Alavi, M., Dehestaniathar, S., Mohammadi, S., Maleki, A., & Karimi, N. (2021). Antibacterial activities of phytofabricated ZnO and CuO NPs by Mentha pulegium leaf/flower mixture extract against antibiotic resistant bacteria. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 11(3), 497.
- Amrutha, K., Nanjan, P., Shaji, S. K., Sunilkumar, D., Subhalakshmi, K., Rajakrishna, L., & Banerji, A. (2014). Discovery of lesser known flavones as inhibitors of NF- κ B signaling in MDA-MB-231 breast cancer cells—A SAR study. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(19), 4735–4742.
- Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., & Rijo, P. (2018). Rosmarinus officinalis L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Future Science OA*, 4(4), FSO283.
- Anju, V. T., Busi, S., Mohan, M. S., Ranganathan, S., Ampasala, D. R., Kumavath, R., & Dyavaiah, M. (2022). In vivo, in vitro and molecular docking studies reveal the anti-virulence property of hispidulin against Pseudomonas aeruginosa through the modulation of quorum sensing. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 174, 105487.
- Anju, V. T., Busi, S., Ranganathan, S., Ampasala, D. R., Kumar, S., Suchiang, K., Kumavath, R., & Dyavaiah, M. (2021). Sesamin and sesamol rescues Caenorhabditis elegans from Pseudomonas aeruginosa infection through the attenuation of quorum sensing regulated virulence factors. *Microbial Pathogenesis*, 155, 104912.
- Anjum, S., & Abbasi, B. H. (2016). Biomimetic synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using in vitro-propagated plantlets of a medicinally important endangered species: Phlomis bracteosa. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 1663.
- Antonioli, L., Blandizzi, C., Pacher, P., Williams, M., & Haskó, G. (2018). Quorum sensing in the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 18(9), 537–538.
- Araç, E., Kaya, Ş., Parlak, E., Büyüktuna, S. A., Baran, A. İ., Akgül, F., Gökler, M. E., Akgöz, S., Tartar, A. S., & Tekin, R. (2019). Yoğun Bakım Ünitelerindeki Enfeksiyonların Değerlendirilmesi: Çok Merkezli Nokta Prevalans Çalışması [Evaluation of Infections in Intensive Care Units: A Multicentre Point-Prevalence Study]. *Mikrobiyol Bul*, 53(4), 364–373.
- Arbyn, M., Gultekin, M., Morice, P., Nieminen, P., Cruickshank, M., Poortmans, P., Kelly, D., Poljak, M., Bergeron, C., & Ritchie, D. (2021). The European response to the WHO call to eliminate cervical cancer as a public health problem. *International Journal of Cancer*, 148(2), 277–284.
- Arkani, T., Firoznia, A., & Izanloo, C. (2022). Green Synthesis of Silver Chloride Nanoparticles using Phlomis Labiosa (Bunge) Adylov, Kamelin & Makhm Herbal Extract by Investigating Antioxidant Properties and Antibacterial Effects. *Nanoscience & Nanotechnology-Asia*, 12(1), 55–66.

- Asgharian, P., Delazar, A., Lotfipour, F., & Asnaashari, S. (2017a). Bioactive properties of *eremostachys macrophylla* montbr. & auch. Rhizomes growing in iran. *Pharmaceutical Sciences*, 23(3), 238–243.
- Asgharian, P., Delazar, A., Vatankhah, A. M., Javadzadeh, M., & Asnaashari, S. (2017b). In vitro bioactivity and phytochemical evaluation of extracts from aerial parts of *Eremostachys macrophylla* Montbr. & Auch. growing in Iran. *Research Journal of Pharmacognosy*, 4(2), 65–73.
- Asnaashari, S., Delazar, A., Asgharian, P., Lotfipour, F., Moghaddam, S. B., & Afshar, F. H. (2017). In-vitro Bioactivity and Phytochemical Screening of Extracts from Rhizomes of *Eremostachys azerbaijanica* rech. f. Growing in Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 16(1), 306.
- Åvall Lundqvist, E., Fujiwara, K., & Seoud, M. (2015). Principles of chemotherapy. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 131, S146–S149.
- Ayama-Canden, S., Tondo, R., Piñeros, L., Ninane, N., Demazy, C., Dieu, M., Fattaccioli, A., Tabarrant, T., Lucas, S., & Bonifazi, D. (2022). IGDQ motogenic peptide gradient induces directional cell migration through integrin (α v) β 3 activation in MDA-MB-231 metastatic breast cancer cells. *Neoplasia*, 31, 100816.
- Ayaz, A., Zaman, W., Saqib, S., Ullah, F., & Mahmood, T. (2020). Phylogeny and diversity of lamiaceae based on rps14 gene in Pakistan. *Genetika*, 52(2), 435–452.
- Ayaz, A., Zaman, W., Ullah, F., Saqib, S., Jamshed, S., Bahadur, S., Shakoore, A., & Arshad, B. (2020). Systematics study through scanning electron microscopy; a tool for the authentication of herbal drug *Mentha suaveolens* Ehrh. *Microscopy Research and Technique*, 83(1), 81–87.
- Babaç, M. T. (2004). Possibility of an information system on plants of South-West Asia with particular reference to the Turkish plants data service (TUBIVES). *Turkish Journal of Botany*, 28(1), 119–127.
- Bagci, E. (2007). Fatty acids and tocopherol patterns of some Turkish Apiaceae (Umbelliferae) plants; a chemotaxonomic approach. *Acta Botanica Gallica*, 154(2), 143–151.
- Battle, E., & Clevers, H. (2017). Cancer stem cells revisited. *Nature Medicine*, 23(10), 1124–1134.
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., & Karadoğan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15(3), 169–172.
- Behlil, F., Samiullah, K. N., Akbar, A., Tareen, R. B., Achakazai, A. K. K., Ali, I., & Rehman, A. (2019). Phytochemical screening and antioxidant activity determination of some medicinally important plants of Balochistan. *Pakistan Journal of Botany*, 51(2), 1–8.

- Bekut, M., Brkić, S., Kladar, N., Dragović, G., Gavarić, N., & Božin, B. (2018). Potential of selected Lamiaceae plants in anti (retro) viral therapy. *Pharmacological Research*, *133*, 301–314.
- Bello-Martínez, G., García-Ramírez, G., Olea-Flores, M., Navarro-Tito, N., Hernández-Moreno, A., Avila-Caballero, L. P., Torres-Moreno, H., & Bello-Martínez, J. (2022). Biological activity of *Haematoxylum brasiletto* in MCF7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines. *South African Journal of Botany*, *146*, 528–537.
- 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 Chemistry*, *141*(2), 1313–1321.
- Blackadar, C.B.(2016). Historical review of the causes of cancer. *World Journal Clinic Oncol*; *7*, 54–86.
- Bosgelmez-Tinaz, G., Ulusoy, S., Ugur, A., & Ceylan, O. (2007). Inhibition of quorum sensing–regulated behaviors by *Scorzonera sandrasica*. *Current Microbiology*, *55*(2), 114–118.
- Brabletz, T., Kalluri, R., Nieto, M. A., & Weinberg, R. A. (2018). EMT in cancer. *Nature Reviews Cancer*, *18*(2), 128–134.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *68*(6), 394–424.
- Brindhadevi, K., LewisOscar, F., Mylonakis, E., Shanmugam, S., Verma, T. N., & Pugazhendhi, A. (2020). Biofilm and Quorum sensing mediated pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. *Process Biochemistry*, *96*, 49–57.
- Broniewski, J. M., Chisnall, M. A. W., Høyland-Kroghsbo, N. M., Buckling, A., & Westra, E. R. (2021). The effect of Quorum sensing inhibitors on the evolution of CRISPR-based phage immunity in *Pseudomonas aeruginosa*. *The ISME Journal*, *15*(8), 2465–2473.
- Bugde, P., Biswas, R., Merien, F., Lu, J., Liu, D.-X., Chen, M., Zhou, S., & Li, Y. (2017). The therapeutic potential of targeting ABC transporters to combat multi-drug resistance. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, *21*(5), 511–530.
- Bukowski, K., Kciuk, M., & Kontek, R. (2020). Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(9), 3233.
- Bulzomi, P., Galluzzo, P., Bolli, A., Leone, S., Acconcia, F., & Marino, M. (2012). The pro-apoptotic effect of quercetin in cancer cell lines requires ER β -dependent signals. *Journal of Cellular Physiology*, *227*(5), 1891–1898.

- Byler, S., Goldgar, S., Heerboth, S., Leary, M., Housman, G., Moulton, K., & Sarkar, S. (2014). Genetic and epigenetic aspects of breast cancer progression and therapy. *Anticancer Research*, *34*(3), 1071–1077.
- Calis, I., Guevenc, A., Armagan, M., Koyuncu, M., Gotfredsen, C., & Jensend, S. (2008). Secondary metabolites from *Eremostachys laciniata*. *Natural Product Communications*, *3*(2).
- Çalış, İ., & Başer, K. H. C. (2021). Review of Studies on *Phlomis* and *Eremostachys* Species (Lamiaceae) with Emphasis on Iridoids, Phenylethanoid Glycosides, and Essential Oils. *Planta Medica*.
- Çalış, İ., Güvenç, A., Armağan, M., Koyuncu, M., Gotfredsen, C. H., & Jensen, S. R. (2007). Iridoid glucosides from *Eremostachys moluccelloides* Bunge. *Helvetica Chimica Acta*, *90*(8), 1461–1466.
- Camarillo, I. G., Xiao, F., Madhivanan, S., Salameh, T., Nichols, M., Reece, L. M., Leary, J. F., Otto, K. J., Natarajan, A., & Ramesh, A. (2014). Low and high voltage electrochemotherapy for breast cancer: An in vitro model study. *Electroporation-Based Therapies for Cancer*, 55–102.
- Camele, I., Elshafie, H. S., Caputo, L., & De Feo, V. (2019). Anti-quorum sensing and antimicrobial effect of Mediterranean plant essential oils against phytopathogenic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2619.
- Can, T. H., Tufekci, E. F., Altunoglu, Y. C., Baloglu, M. C., Llorent-Martínez, E. J., Stefanucci, A., Mollica, A., Cichelli, A., & Zengin, G. (2020). Chemical characterization, computational analysis and biological views on *Daphne gnidioides* Jaub. & Spach extracts: Can a new raw material be provided for biopharmaceutical applications? *Computational Biology and Chemistry*, *87*, 107273.
- Carović-Stanko, K., Petek, M., Grdiša, M., Pintar, J., Bedeković, D., & Satovic, Z. (2016). Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods—a review. *Czech Journal of Food Sciences*, *34*(5), 377–390.
- Celik Altunoglu, Y., Can, T. H., Tufekci, E. F., Altunoglu, B. D., Baloglu, M. C., Llorent-Martínez, E. J., & Zengin, G. (2022). Comprehensive approaches on chemical composition and biological properties of *Daphne pontica* L. extracts. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, *156*(1), 116–129.
- Çelik, G., Kılıç, G., Kanbolat, Ş., Özlem Şener, S., Karaköse, M., Yaylı, N., & Karaoğlu, Ş. A. (2021). Biological activity, and volatile and phenolic compounds from five Lamiaceae species. *Flavour and Fragrance Journal*, *36*(2), 223–232.
- Cendra Gascón, M. del M., & Torrents Serra, E. (2021). *Pseudomonas aeruginosa*'s biofilms and their partners in crime. *Biotechnology Advances*, *2021*, Vol. 49, p. 107734.

- Chakraborty, C., Sharma, A. R., Sharma, G., Sarkar, B. K., & Lee, S.-S. (2018). The novel strategies for next-generation cancer treatment: miRNA combined with chemotherapeutic agents for the treatment of cancer. *Oncotarget*, *9*(11), 10164.
- Chamkhi, I., El Omari, N., Benali, T., & Bouyahya, A. (2020). Quorum Sensing and Plant-Bacteria Interaction: Role of Quorum Sensing in the Rhizobacterial Community Colonization in the Rhizosphere. In *Quorum Sensing: Microbial Rules of Life* (pp. 139–153). ACS Publications.
- Chirumbolo, S., Bjorklund, G., Lysiuk, R., Vella, A., Lenchyk, L., Upyr, T. (2018). Targeting Cancer with Phytochemicals via Their Fine Tuning of the Cell Survival Signaling Pathways. *International Journal Molecular Science*; *19*(11), 3568.
- Choi, E.J., Jung, J.Y., Kim, G.H. (2014). Genistein inhibits the proliferation and differentiation of MCF-7 and 3T3-L1 cells via the regulation of ER α expression and induction of apoptosis. *Experimental and therapeutic medicine*; *8*(2); 454-458.
- Choi, S. Y., Lim, S., Cho, G., Kwon, J., Mun, W., Im, H., & Mitchell, R. J. (2020). *Chromobacterium violaceum* delivers violacein, a hydrophobic antibiotic, to other microbes in membrane vesicles. *Environmental Microbiology*, *22*(2), 705–713.
- Chou, S., Hsu, C., Wang, K., Wang, M., & Wang, C. (2007). Antitumor effects of Osthol from *Cnidium monnieri*: an in vitro and in vivo study. *Phytotherapy Research*, *21*(3), 226–230.
- Cinghu, S., Anandharaj, A., Lee, H., Yu, J., & Park, W. (2011). FTS (fused toes homolog) a novel oncoprotein involved in uterine cervical carcinogenesis and a potential diagnostic marker for cervical cancer. *Journal of Cellular Physiology*, *226*(6), 1564–1572.
- Cocan, I., Alexa, E., Danciu, C., Radulov, I., Galuscan, A., Obistioiu, D., Morvay, A. A., Sumalan, R. M., Poiana, M., & Pop, G. (2018). Phytochemical screening and biological activity of Lamiaceae family plant extracts. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *15*(2), 1863–1870.
- Coleman, S. R., Blimkie, T., Falsafi, R., & Hancock, R. E. W. (2020). Multidrug adaptive resistance of *Pseudomonas aeruginosa* swarming cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *64*(3), e01999-19.
- Cooper, W. A., Lam, D. C. L., O'Toole, S. A., & Minna, J. D. (2013). Molecular biology of lung cancer. *Journal of Thoracic Disease*, *5*(Suppl 5), S479.
- Costerton, J. W. (2001). Cystic fibrosis pathogenesis and the role of biofilms in persistent infection. *Trends in Microbiology*, *9*(2), 50–52.
- Crosbie, E. J., Einstein, M. H., Franceschi, S., & Kitchener, H. C. (2013). Human papillomavirus and cervical cancer. *The Lancet*, *382*(9895), 889–899.

- da Silva, L. E., Confortin, C., & Swamy, M. K. (2021). Antibacterial and Antifungal Plant Metabolites from the Tropical Medicinal Plants. In *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications* (pp. 263–285). Springer.
- Das, K., & Gezici, S. (2018). Secondary plant metabolites, their separation and identification, and role in human disease prevention. *Ann. Phytomedicine*, 7, 13–24.
- Deep, A., Chaudhary, U., & Gupta, V. (2011). Quorum sensing and bacterial pathogenicity: from molecules to disease. *Journal of Laboratory Physicians*, 3(01), 4–11.
- Deepika, M. S., Thangam, R., Sakthidhasan, P., Arun, S., Sivasubramanian, S., & Thirumurugan, R. (2018). Combined effect of a natural flavonoid rutin from *Citrus sinensis* and conventional antibiotic gentamicin on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *Food Control*, 90, 282–294.
- Delazar, A. (2005). Antioxidant phenylethanoid glycosides from the rhizomes of *Eremostachys glabra* (Lamiaceae). *Biochem Syst Ecol*, 33, 87–90.
- Delazar, A., Asgharian, P., & Asnaashari, S. (2017). Biological and phytochemical screening of *Eremostachys azerbaijanica* Rech. f. aerial parts. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 12(3 (Supp)).
- Delazar, A., Byres, M., Gibbons, S., Kumarasamy, Y., Modarresi, M., Nahar, L., Shoeb, M., & Sarker, S. D. (2004). Iridoid Glycosides from *Eremostachys glabra*. *Journal of Natural Products*, 67(9), 1584–1587.
- DeSantis, C. E., Miller, K. D., Goding Sauer, A., Jemal, A., & Siegel, R. L. (2019). Cancer statistics for african Americans, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(3), 211–233.
- Deziel, E., Lepine, F., Milot, S., & Villemur, R. (2003). rhlA is required for the production of a novel biosurfactant promoting swarming motility in *Pseudomonas aeruginosa*: 3-(3-hydroxyalkanoyloxy) alkanolic acids (HAAs), the precursors of rhamnolipids. *Microbiology*, 149(8), 2005–2013.
- Dhayalan, M., Jegadeeshwari, L. A., & Gandhi, N. N. (2015). Biological activity sources from traditionally used tribe and herbal plants material. *Asian J Pharm Clin Res*, 8(6), 11–23.
- Dickens, E., & Ahmed, S. (2018). Principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery (Oxford)*, 36(3), 134–138.
- Diggie, S. P., Cruz, S. A., & Cámara, M. (2007). Quorum sensing. *Current Biology*, 17(21), R907–R910.
- Dinç, H., Yiğın, A., Koyuncu, İ., & Aslan, M. (2022). Investigation of the anticancer and apoptotic effect of *Micromeria congesta* under in vitro conditions and detection of related genes by real-time PCR. *Veterinary Research Forum*, 13(1), 7.

- dos Santos Filho, L. G. A., dos Reis, R. B., de Queiroz Souza, A. S., Canuto, K. M., de Carvalho Castro, K. N., Pereira, A. M. L., & Diniz, F. M. (2022). Essential oil composition, antioxidant and antibacterial activity against *Vibrio parahaemolyticus* from five Lamiaceae species. *Journal of Essential Oil Research*, 1–9.
- dos Santos, K. P., Sedano-Partida, M. D., Sala-Carvalho, W. R., Loureiro, B. O. S. J., da Silva-Luz, C. L., & Furlan, C. M. (2018). Biological activity of *Hyptis Jacq.*(Lamiaceae) is determined by the environment. *Industrial Crops and Products*, 112, 705–715.
- Doustimotlagh, A. H., Taheri, S., Mansourian, M., & Eftekhari, M. (2020). Extraction and identification of two flavonoids in *phlomooides hyoscyamoides* as an endemic plant of iran: the role of quercetin in the activation of the glutathione peroxidase, the improvement of the hydroxyproline and protein oxidation in bile duct-ligated rats. *Current Computer-Aided Drug Design*, 16(5), 629–640.
- Duanis-Assaf, D., Steinberg, D., Chai, Y., & Shemesh, M. (2016). The LuxS based quorum sensing governs lactose induced biofilm formation by *Bacillus subtilis*. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1517.
- Edmondson, J. R., & Davis, P. H. (1982). *Eremostachys* Bunge. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 7, 100–102.
- Engbrecht, J., & Silverman, M. (1984). Identification of genes and gene products necessary for bacterial bioluminescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(13), 4154–4158.
- Engel, N., Lisec, J., Piechulla, B., & Nebe, B. (2012). Metabolic profiling reveals sphingosine-1-phosphate kinase 2 and lyase as key targets of (phyto-) estrogen action in the breast cancer cell line MCF-7 and not in MCF-12A. *PLoS One*, 7(10), e47833.
- Esmaeili, A. (2012). Biological activities of *Eremostachys laevigata* Bunge. grown in Iran. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(4).
- Falà, A K., Álvarez-Ordóñez, A., Filloux, A., Gahan, C. G. M ve Cotter, P.D. (2022). Quorum sensing in human gut and food microbiomes: Significance and potential for therapeutic targeting. *Frontiers in Microbiology*. 4389.
- Farrow III, J. M., & Pesci, E. C. (2007). Two distinct pathways supply anthranilate as a precursor of the *Pseudomonas* quinolone signal. *Journal of Bacteriology*, 189(9), 3425–3433.
- Fathima, K. (2022). The Effectiveness of Various Chemotherapeutic Agents in Cancer Treatment. *Current Pharmacology Reports*, 1–17.
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2021). Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International Journal of Cancer*, 149(4), 778–789.

- Fuqua, C., Winans, S. C., & Greenberg, E. P. (1996). Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum-sensing transcriptional regulators. *Annual Review of Microbiology*, *50*, 727–752.
- Fuqua, W. C., Winans, S. C., & Greenberg, E. P. (1994). Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *Journal of Bacteriology*, *176*(2), 269–275.
- Fuster, M. G., Carissimi, G., Montalbán, M. G., & Villora, G. (2021). Antitumor activity of rosmarinic acid-loaded silk fibroin nanoparticles on HeLa and MCF-7 cells. *Polymers*, *13*(18), 3169.
- Geng, H., Liu, Y.-C., Li, D.-S., Xiao, C.-J., Liu, Y., Li, X.-N., & Li, S.-H. (2020). Unusual glycosidic labdane diterpenoids with cytotoxicity from the root of *Phlomis betonicoides*. *Phytochemistry*, *173*, 112325.
- Gest, C., Joimel, U., Huang, L., Pritchard, L.-L., Petit, A., Dulong, C., Buquet, C., Hu, C.-Q., Mirshahi, P., & Laurent, M. (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.
- Gezici, S., & Şekeroğlu, N. (2019). Current perspectives in the application of medicinal plants against cancer: novel therapeutic agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, *19*(1), 101–111.
- Ghosh, R., Das, A., & Mallik, S. (2019). Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: a review. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *81*(5), 797–806.
- Godone, R. L. N., Leitão, G. M., Araújo, N. B., Castelletti, C. H. M., Lima-Filho, J. L., & Martins, D. B. G. (2018). Clinical and molecular aspects of breast cancer: Targets and therapies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *106*, 14–34.
- Gokhan, A. (2022). Investigation of the Apoptotic and Membrane Effects of Essential Oils Obtained from Wild and Cultured Forms of *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Ietswaart on Epidermoid Cancer (A-431) Cells. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, *56*(1), 85–93.
- Gonzalez, J. E., Keshavan, N. D. (2006). Messing with bacterial quorum sensing. *Microbiol Molecular Biology Review*, *70*(4): 859-875.
- Gorlenko, C. L., Kiselev, H. Y., Budanova, E. V, Zamyatnin Jr, A. A., & Ikryannikova, L. N. (2020). Plant secondary metabolites in the battle of drugs and drug-resistant bacteria: new heroes or worse clones of antibiotics? *Antibiotics*, *9*(4), 170.
- Govindarajan, M., Kadaikunnan, S., Alharbi, N. S., & Benelli, G. (2016). Acute toxicity and repellent activity of the *Origanum scabrum* Boiss. & Heldr. (Lamiaceae) essential oil against four mosquito vectors of public health importance and its biosafety on non-target aquatic organisms. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(22), 23228–23238.

- Guarino, M., Rubino, B., & Ballabio, G. (2007). The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology. *Pathology*, 39(3), 305–318.
- Guo, M., Gamby, S., Zheng, Y., Sintim, H. O. (2013). Small molecule inhibitors of AI-2 signaling in bacteria: state-of-the-art and future perspectives for anti-quorum sensing agents. *International Journal Molecular Science*, 14(9): 17694-17728.
- Hadipour, A., Azizi, M., Badi, N. H., Panahandeh, J., Delazar, A., & Aroei, H. (2016). Phytochemical diversity of *Eremostachys laciniata bunge* populations in Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 15(57), 9–18.
- Hamed, A. N. E., Abdelaty, N. A., Attia, E. Z., Amin, M. N., Ali, T. F. S., Afifi, A. H., Abdelmohsen, U. R., & Desoukey, S. Y. (2021). Antiproliferative potential of *moluccella laevis* L. aerial parts family lamiaceae (labiatae), supported by phytochemical investigation and molecular docking study. *Natural Product Research*, 1–5.
- Hamidi, S. (2013). *Bazı sentetik kimyasal maddelerin ve doğal ekstraktların antimikrobiyal ve anti-quorum sensing aktivitelerinin araştırılması*. (Yüksek Lisans tezi, Trabzon Üniversitesi (Türkiye). (Referansı kontrol et)
- Hao, X., Huang, L., Zhao, C., Chen, S., Lin, W., Lin, Y., Zhang, L., Miao, C., Lin, X., & Chen, M. (2021). Antibacterial activity of positively charged carbon quantum dots without detectable resistance for wound healing with mixed bacteria infection. *Materials Science and Engineering: C*, 123, 111971.
- Hernando-Amado, S., Alcalde-Rico, M., Gil-Gil, T., Valverde, J. R., & Martínez, J. L. (2020). Naringenin inhibition of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing response is based on its time-dependent competition with N-(3-oxo-dodecanoyl)-L-homoserine lactone for LasR binding. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 25.
- Hongbao, M. (2017). Hela cells and immortality. *Cancer Biology*, 3(7), 71–78.
- Huang, H., Peng, C., Peng, P., Lin, Y., Zhang, X., & Ren, H. (2019). Towards the biofilm characterization and regulation in biological wastewater treatment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(3), 1115–1129.
- Huang, Z., Yu, P., & Tang, J. (2020). Characterization of triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cell spheroid model. *OncoTargets and Therapy*, 13, 5395.
- Huemer, M., Mairpady Shambat, S., Brugger, S. D., & Zinkernagel, A. S. (2020). Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO Reports*, 21(12), e51034.
- Husain, F. M., Ahmad, I., Al-Thubiani, A. S., Abulreesh, H. H., AlHazza, I. M., & Aqil, F. (2017). Leaf extracts of *Mangifera indica* L. Inhibit quorum sensing-regulated production of virulence factors and biofilm in test bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8, 727.

- Ibrahim, B. (2022). Pinus nigra L. ve Pinus brutia L.(Çam) Alkollü Kabuk Ekstraktlarının Pseudomonas aeruginosa ve Chromobacterium violaceum'a Karşı Anti-QS Aktivitesi Yoluyla Virülans Faktörlerinin Üretim Potansiyeli Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 171–178.
- İpek, H. O. (2018). Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryum'undaki (Ank) Salvia (Lamiaceae) Cinsinin Revizyonu. *Ankara Üniversitesi: Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi*.
- İskender, İ., ÇIĞIRGİL, N., Gümüştaş, B., Güldü, Ö. K., Karaman, D., Medine, E. İ., Güler, G., & Karasulu, E. (2019). Geleneksel Olarak Yara Tedavisinde Kullanılan Kudret Narı (Momordica charantia L.) Zeytinyağı Maseratı Kullanılarak Krem Formunun Geliştirilmesi ve İn Vitro Yara İyi Edici Etkisinin Araştırılması. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 12(1), 38–48.
- Jacobs, H. M., O'Neal, L., Lopatto, E., Wozniak, D. J., Bjarnsholt, T., & Parsek, M. R. (2022). Mucoïd pseudomonas aeruginosa can produce calcium-gelled biofilms independent of the matrix components Psl and CdrA. *Journal of Bacteriology*, e00568-21.
- Jin, S.; Zhang, Q.Y.; Kang, X.M.; Wang, J.X.; Zhao, W.H. (2010). Daidzein promoted apoptosis in breast cancer MCF-7 cells due to the ROS generation. *Annals of Oncology*; 21, 263–268.
- Jones, P. J. H., Jew, S., & AbuMweis, S. (2008). The effect of dietary oleic, linoleic, and linolenic acids on fat oxidation and energy expenditure in healthy men. *Metabolism*, 57(9), 1198–1203.
- Kadereit, J. W. (2004). *Flowering Plants· Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae)* (Vol. 7). Springer Science & Business Media.
- Kalia M, Yadav VK, Singh PK, Sharma D, Pandey H, Narvi SS, Agarwal V (2015). Effect of cinnamon oil on quorum sensing-controlled virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLOS ONE* 10(8): e0135495.
- Kaler, K. M. R., Nix, J. C., & Schubot, F. D. (2021). RetS inhibits Pseudomonas aeruginosa biofilm formation by disrupting the canonical histidine kinase dimerization interface of GacS. *Journal of Biological Chemistry*, 297(4).
- Kanelli, M., Mandic, M., Kalakona, M., Vasilakos, S., Kekos, D., Nikodinovic-Runic, J., & Topakas, E. (2018). Microbial production of violacein and process optimization for dyeing polyamide fabrics with acquired antimicrobial properties. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1495.
- Kaushik, S., Shyam, H., Agarwal, S., Sharma, R., Nag, T.C., Dwivedi, A.K., Balapure, A.K. (2019). Genistein potentiates Centchroman induced antineoplasticity in breast cancer via PI3K/Akt deactivation and ROS dependent induction of apoptosis. *Life Science*; 117073.

- Karakaya, S., Yilmaz, S. V., Özdemir, Ö., Koca, M., Pınar, N. M., Demirci, B., Yıldırım, K., Sytar, O., Turkez, H., & Baser, K. H. C. (2020). A caryophyllene oxide and other potential anticholinesterase and anticancer agent in *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm.(Lamiaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 32(6), 512–525.
- Karavelioğulları, F., Ekici, M., Çelik, S., Başer, B., Uzunhisarcıklı, M., Ocak, A., Özbek, M., & Bani, B. (2008). The revision of the genus *Eremostachys* (Labiatae) in Turkey. *Acta Botanica Hungarica*, 50(3–4), 345–361.
- Kariminik, A., Baseri-Salehi, M., & Kheirkhah, B. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing modulates immune responses: an updated review article. *Immunology Letters*, 190, 1–6.
- Kaya, B., Zorba, N. N., & Caner, C. (2021). Kitosan Bazlı Etil Pirüvat Filmlerin Fizikokimyasal, Antioksidan, Antimikrobiyal Ve Anti-Quorum Sensing Özelliklerinin Belirlenmesi. *Gıda/The Journal Of Food*, 46(6).
- Kelly, K. (2009). *The history of medicine*. New York: Facts On File. Inc.
- Kendall, M. M., & Sperandio, V. (2016). What a dinner party! Mechanisms and functions of interkingdom signaling in host-pathogen associations. *MBio*, 7(2), e01748-15.
- Keskin, M. (2018). Türkiye’de yayılış gösteren *Cerastium brachypetalum* Pers. Caryophyllaceae türü üzerine notlar ve Türkiye florasına yeni bir alttür kaydı. *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 5(3), 17–24.
- Khan, F., Pham, D. T. N., Oloketuyi, S. F., & Kim, Y.-M. (2020). Regulation and controlling the motility properties of *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(1), 33–49.
- Kiselova, Y., Ivanova, D., Chervenkov, T., Gerova, D., Galunska, B., & Yankova, T. (2006). Correlation between the in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(11), 961–965.
- Kılıç, N., Aras, S., & Cansaran-Duman, D. (2018). Determination of vulpinic acid effect on apoptosis and mRNA expression levels in breast cancer cell lines. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 18(14), 2032–2041.
- Kocabas, Y. Z., & Karaman, S. (2001). Essential oils of Lamiaceae family from south east Mediterranean region (Turkey). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4(10), 1221–1223.
- Kocak, G., Tamfu, A. N., Bütün, V., & Ceylan, O. (2021). Synthesis of quaternary piperazine methacrylate homopolymers and their antibiofilm and anti-quorum sensing effects on pathogenic bacteria. *Journal of Applied Polymer Science*, 138(21), 50466.

- Kohler, T., Curty, L. K., Barja, F., Van Delden, C., & Pechère, J.-C. (2000). Swarming of *Pseudomonas aeruginosa* is dependent on cell-to-cell signaling and requires flagella and pili. *Journal of Bacteriology*, *182*(21), 5990–5996.
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients*;12(2); 457.
- Kostylev, M., Kim, D. Y., Smalley, N. E., Salukhe, I., Greenberg, E. P., & Dandekar, A. A. (2019). Evolution of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing hierarchy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *116*(14), 7027–7032.
- Kothari, V., Sharma, S., & Padia, D. (2017). Recent research advances on *Chromobacterium violaceum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *10*(8), 744–752.
- Ku, L., Wu, Y., Zhang, X., & Wang, Z. (2010). Investigation of antimicrobial activity of *Phlomis umbrosa* Turcz. *Progress in Modern Biomedicine*, *10*(8), 1543–1545.
- Kusoglu, A., Bagca, B. G., Ay, N. P. O., Gunduz, C., & Avci, C. B. (2020). Telomerase inhibition regulates EMT mechanism in breast cancer stem cells. *Gene*, *759*, 145001.
- Lai, S., Tremblay, J., & Déziel, E. (2009). Swarming motility: a multicellular behaviour conferring antimicrobial resistance. *Environmental Microbiology*, *11*(1), 126–136.
- Lal, A.F., Singh, S., Franco, F.C., Bhatia, S. (2021). Potential of polyphenols in curbing quorum sensing and biofilm formation in gram-negative pathogens. *Asian Pac J Trop Biomed*;11:231-43.
- Le, D. D., Nguyen, D. H., Zhao, B. T., Kim, J. A., Kim, S. K., Min, B. S., Choi, J. S., & Woo, M. H. (2018). 28-Noroleanane-derived spirocyclic triterpenoids and iridoid glucosides from the roots of *Phlomis umbrosa* (Turcz.) Kamelin & Makhm with their cytotoxic effects. *Phytochemistry*, *153*, 138–146.
- Le, D. D., Nguyen, D. H., Zhao, B. T., Kim, J. A., Kim, S. K., Min, B. S., Choi, J. S., & Woo, M. H. (2019). Quantitation and Radical Scavenging Activity Evaluation of Iridoids and Phenylethanoids from the Roots of *Phlomis umbrosa* (Turcz.) using DPPH Free Radical and DPPH-HPLC Methods, and their Cytotoxicity. *Natural Product Sciences*,25(2),122-129.
- Lee, D., Kim, Y.-S., Song, J., Kim, H. S., Lee, H. J., Guo, H., & Kim, H. (2016). Effects of *Phlomis umbrosa* root on longitudinal bone growth rate in adolescent female rats. *Molecules*, *21*(4), 461.
- Lehbili, M., Magid, A. A., Hubert, J., Kabouche, A., Voutquenne-Nazabadioko, L., Renault, J.-H., Nuzillard, J.-M., Morjani, H., Abedini, A., & Gangloff, S. C. (2018). Two new bis-iridoids isolated from *Scabiosa stellata* and their antibacterial, antioxidant, anti-tyrosinase and cytotoxic activities. *Fitoterapia*, *125*, 41–48.

- Leung, E., Kim, J. E., Askarian-Amiri, M., Finlay, G. J., & Baguley, B. C. (2014). Evidence for the existence of triple-negative variants in the MCF-7 breast cancer cell population. *BioMed Research International*, 2014.
- Lewis, T. C., Pizzitola, V. J., Giurescu, M. E., Eversman, W. G., Lorans, R., Robinson, K. A., & Patel, B. K. (2017). Contrast-enhanced Digital Mammography: A Single-Institution Experience of the First 208 Cases. *The Breast Journal*, 23(1), 67–76.
- Li, H., Liu, Q., Zhou, X., Sui, H., & Fu, X. (2021). *Phlomis umbrosa* (Turcz.) Kamelin & Makhm: A review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and clinical research. *Journal of Ethnopharmacology*, 278, 114252.
- Li, H., Wu, X., & Cheng, X. (2016). Advances in diagnosis and treatment of metastatic cervical cancer. *Journal of Gynecologic Oncology*, 27(4).
- Li, L., Hooi, D., Chhbara, S. R., Pridchard, D., Show, P. E. (2004). Bacterial N-acylhomoserine lactone-induced apoptosis in breast carcinoma cells correlated with down-modulation of STAT3. *Oncogene*, 23(28); 4894-4902.
- Li, Z., Fan, Y., & Xi, J. (2019). Recent advances in high voltage electric discharge extraction of bioactive ingredients from plant materials. *Food Chemistry*, 277, 246–260.
- Lichota, A., & Gwozdziński, K. (2018). Anticancer activity of natural compounds from plant and marine environment. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3533.
- Lim, M. C., Won, Y.-J., Lim, J., Kim, Y.-J., Seo, S. S., Kang, S., Lee, E. S., Oh, J. H., Kim, J.-Y., & Park, S.-Y. (2016). Second primary cancer after diagnosis and treatment of cervical cancer. *Cancer Research and Treatment: Official Journal of Korean Cancer Association*, 48(2), 641–649.
- Liu, P., Deng, R.-X., Duan, H.-Q., Yin, W.-P., & Zhao, T.-Z. (2009). Phenylethanoid glycosides from the roots of *Phlomis umbrosa*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 11(1), 69–74.
- Liu, Q., Huang, Y., Zhang, R., Cai, T., & Cai, Y. (2016). Medical application of *Spirulina platensis* derived C-phycoyanin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016.
- Luz, T. R. S. A., Leite, J. A. C., de Mesquita, L. S. S., Bezerra, S. A., Silveira, D. P. B., de Mesquita, J. W. C., Gomes, R. E. C., Vilanova, C. M., de Sousa Ribeiro, M. N., & do Amaral, F. M. M. (2020). Seasonal variation in the chemical composition and biological activity of the essential oil of *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze. *Industrial Crops and Products*, 153, 112600.
- Lyapun, I. N., Andryukov, B. G., & Bynina, M. P. (2019). HeLa cell culture: Immortal heritage of henrietta lacks. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 34(4), 195–200.

- Majolo, F., Delwing, L. K. de O. B., Marmitt, D. J., Bustamante-Filho, I. C., & Goettert, M. I. (2019). Medicinal plants and bioactive natural compounds for cancer treatment: Important advances for drug discovery. *Phytochemistry Letters*, *31*, 196–207.
- Malami, I., Jagaba, N. M., Abubakar, I. B., Muhammad, A., Alhassan, A. M., Waziri, P. M., Yahaya, I. Z. Y., Mshelia, H. E., & Mathias, S. N. (2020). Integration of medicinal plants into the traditional system of medicine for the treatment of cancer in Sokoto State, Nigeria. *Heliyon*, *6*(9), e04830.
- Mamadalieva, N. Z. Z., Akramov, D. K., Wessjohann, L. A. A., Hussain, H., Long, C., Tojibaev, K. S., Alshammari, E., Ashour, M. L. L., & Wink, M. (2021). The Genus *Lagochilus* (Lamiaceae): A Review of Its Diversity, Ethnobotany, Phytochemistry, and Pharmacology. *Plants*, *10*(1), 132.
- Mansoori, B., Mohammadi, A., Davudian, S., Shirjang, S., & Baradaran, B. (2017). The different mechanisms of cancer drug resistance: A brief review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, *7*(3), 339–348. <https://doi.org/10.15171/apb.2017.041>
- Maraolo, A. E., Mazzitelli, M., Trecarichi, E. M., Buonomo, A. R., Torti, C., & Gentile, I. (2020). Ceftolozane/tazobactam for difficult-to-treat *Pseudomonas aeruginosa* infections: a systematic review of its efficacy and safety for off-label indications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *55*(3), 105891.
- Martinez-Torres, A.-C., Quiney, C., Attout, T., Boulet, H., Herbi, L., Vela, L., Barbier, S., Chateau, D., Chapiro, E., & Nguyen-Khac, F. (2015). CD47 agonist peptides induce programmed cell death in refractory chronic lymphocytic leukemia B cells via PLC γ 1 activation: evidence from mice and humans. *PLoS Medicine*, *12*(3), e1001796.
- Mathiesen, C. (2006). *Phylogeny and biogeography of the lamioid mint genus Phlomis L.*
- Maurice, N. M., Bedi, B., & Sadikot, R. T. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: host response and clinical implications in lung infections. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, *58*(4), 428–439.
- McClellan, K. H., Winson, M. K., Fish, L., Taylor, A., Chhabra, S. R., Camara, M., Daykin, M., Lamb, J. H., Swift, S., & Bycroft, B. W. (1997). Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acylhomoserine lactones. *Microbiology*, *143*(12), 3703–3711.
- Medarametla, P., Kronenberger, T., Laitinen, T., & Poso, A. (2021). Structural Characterization of LsrK as a Quorum Sensing Target and a Comparison between X-ray and Homology Models. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *61*(3), 1346–1353.

- Mehrgou, A., Ebadollahi, S., Seidi, K., Ayoubi-Joshaghani, M. H., Yazdi, A. A., Zare, P., Jaymand, M., & Jahanban-Esfahlan, R. (2021). Roles of miRNAs in colorectal cancer: therapeutic implications and clinical opportunities. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, *11*(2), 233.
- Mesquita, L. S. S. de, Luz, T. R. S. A., Mesquita, J. W. C. de, Coutinho, D. F., Amaral, F. M. M. do, Ribeiro, M. N. de S., & Malik, S. (2019). Exploring the anticancer properties of essential oils from family Lamiaceae. *Food Reviews International*, *35*(2), 105–131.
- Miller, M. A., & Zachary, J. F. (2017). Mechanisms and morphology of cellular injury, adaptation, and death. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*, *2*.
- Miller, M. B., & Bassler, B. L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, *55*(1), 165–199.
- Mion, S., Carriot, N., Lopez, J., Plener, L., Ortalo-Magné, A., Chabrière, E., Culioli, G., & Daudé, D. (2021). Disrupting quorum sensing alters social interactions in *Chromobacterium violaceum*. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, *7*(1), 1–16.
- Mladenova, T., Batsalova, T., Dzhambazov, B., Mladenov, R., Teneva, I., Stoyanov, P., & Bivolarska, A. (2022). Antitumor and Immunomodulatory Properties of the Bulgarian Endemic Plant *Betonica bulgarica* Degen et Neič.(Lamiaceae). *Plants*, *11*(13), 1689.
- Modaressi, M., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Fathi-Azad, F., Smith, E., Rahman, M. M., Gibbons, S., Nahar, L., & Sarker, S. D. (2009). Antibacterial iridoid glucosides from *Eremostachys laciniata*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *23*(1), 99–103.
- Moghaddam, M. M., Khodi, S., & Mirhosseini, A. (2014). Quorum Sensing in Bacteria and a Glance on *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbial*, *3*(4), 156.
- Mohammadhosseini, M., Frezza, C., Venditti, A., & Akbarzadeh, A. (2019a). Ethnobotany and phytochemistry of the genus *Eremostachys* Bunge. *Current Organic Chemistry*, *23*(17), 1828–1842.
- Mohammadhosseini, M., Frezza, C., Venditti, A., & Akbarzadeh, A. (2019b). Ethnobotany and Phytochemistry of the genus *Eremostachys* Bunge. *Current Organic Chemistry*, *23*(17), 1828–1842. <https://doi.org/10.2174/1385272823666191007161550>
- Mohammadi, S., Valizadeh, H., Khaleseh, F., Bastani, S., Delazar, A., & Asgharian, P. (2022). Biological activities of extract-loaded nanocarriers: A comparison of aerial part, seed, and rhizome of *Phlomis labiosa*. *European Journal of Integrative Medicine*, *52*, 102135.
- Monnet, V., ve Gardan, R. (2015). Quorum-sensing regulators in Gram-positive bacteria: 'cherchez le peptide'. *Molecular microbiology*, *97*(2), 181–184.

- Moradi, F., & Hadi, N. (2021). Quorum-quenching activity of some Iranian medicinal plants. *New Microbes and New Infections*, 42, 100882.
- Morohoshi T, Kato M, Fukamachi K, Kato N, Ikeda T. (2008). N-Acylhomoserine Lactone Regulates Violacein Production in *Chromobacterium violaceum* Type Strain ATCC 12472. *FEMS Microbiology Letters*, 279(1): 124-13.
- Morohoshi, T., Fukamachi, K., Kato, M., Kato, N., & Ikeda, T. (2010). Regulation of the violacein biosynthetic gene cluster by acylhomoserine lactone-mediated quorum sensing in *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74(10), 2116–2119.
- Mu, Y., Zeng, H., & Chen, W. (2020). Okanin in *Coreopsis tinctoria* Nutt is a major quorum-sensing inhibitor against *Chromobacterium violaceum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 260, 113017.
- Muhamad Mahmud, Z. (2021). *Effect of some natural products on pathogenicity of pseudomonas aeruginosa*. Salahaddin university-Erbil.
- Mükemre, M., Behçet, L., & Çakılcıoğlu, U. (2015). Ethnobotanical study on medicinal plants in villages of Çatak (Van-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 166, 361–374.
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., & Wool, E. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655.
- Musthafa, K. S., Ravi, A. V., Annapoorani, A., Packiavathy, I. S. V., & Pandian, S. K. (2010). Evaluation of anti-quorum-sensing activity of edible plants and fruits through inhibition of the N-acyl-homoserine lactone system in *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemotherapy*, 56(4), 333–339.
- Nadal Jimenez, P., Koch, G., Thompson, J. A., Xavier, K. B., Cool, R. H., & Quax, W. J. (2012). The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(1), 46–65.
- Nadar, S. S., Patil, P. D., & Rohra, N. M. (2020). Magnetic nanobiocatalyst for extraction of bioactive ingredients: A novel approach. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 225–238.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed, S. M., & Ghorbani, A. (2022). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2), 63–79.
- Nain, Z., Sayed, S. Bin, Karim, M. M., Islam, M. A., & Adhikari, U. K. (2020). Energy-optimized pharmacophore coupled virtual screening in the discovery of quorum sensing inhibitors of LasR protein of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 38(18), 5374–5388.

- National Cancer Institute (NIH). Cancer treatment. National Institutes of Health, Bethesda, MD (accessed 6 September 2022). <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment>.
- Nature, 2022, "The 'war on cancer' isn't yet won", *The international journal of science* / 20 January, p 297, 31 August 2022.
- Nazar, N., Howard, C., Slater, A., & Sgamma, T. (2022). Challenges in Medicinal and Aromatic Plants DNA Barcoding—Lessons from the Lamiaceae. *Plants*, 11(1), 137.
- Ng, W.L. ve Bassler, B.L.(2009). Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annual Review of Genetics*, 43, 197–222.
- Nieto, M. A., Huang, R. Y.-J., Jackson, R. A., & Thiery, J. P. (2016). EMT: 2016. *Cell*, 166(1), 21–45.
- Nievas, F., Bogino, P., Sorroche, F., & Giordano, W. (2012). Detection, characterization, and biological effect of quorum-sensing signaling molecules in peanut-nodulating bradyrhizobia. *Sensors*, 12(3), 2851–2873.
- Nigussie, D., Davey, G., Legesse, B. A., Fekadu, A., & Makonnen, E. (2021). Antibacterial activity of methanol extracts of the leaves of three medicinal plants against selected bacteria isolated from wounds of lymphoedema patients. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03183-0>
- Noel, B., Singh, S. K., Lillard Jr, J. W., & Singh, R. (2020). Role of natural compounds in preventing and treating breast cancer. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, 12, 137.
- O'Loughlin, C. T., Miller, L. C., Siryaporn, A., Drescher, K., Semmelhack, M. F., & Bassler, B. L. (2013). A quorum-sensing inhibitor blocks *Pseudomonas aeruginosa* virulence and biofilm formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(44), 17981–17986.
- Ohue, Y. (2019). Current topics of cancer antigen. *Gan to Kagaku Ryoho. Cancer & Chemotherapy*, 46(10), 1467–1472.
- Olennikov, D. N., & Chirikova, N. K. (2017). Phlotuberosides I and II, new iridoid glycosides from *Phlomis tuberosa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 53(2), 269–272.
- Oliveira-Marques, V., Marinho, H.S., Cyrne, L., Antunes, F. (2009). Modulation of NF-kappaB-dependent gene expression by H2O2: A major role for a simple chemical process in a complex biological response. *Antioxid Redox Signal*; 11, 2043–2053.
- Önem, E., & Çevikbaş, H. (2018). *Hypericum atomarium* Boiss. Farklı Çözücü Ekstraktlarının Klinik Stafilokok Türleri Üzerine Antibakteriyel Etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 13(2), 164–172.

- Osorio-Tobón, J. F. (2020). Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 57(12), 4299–4315.
- Ouakouak, H., Benchikha, N., Hassani, A., & Ashour, M. L. (2019). Chemical composition and biological activity of *Mentha citrata* Ehrh., essential oils growing in southern Algeria. *Journal of Food Science and Technology*, 56(12), 5346–5353.
- Özkan, G. (2007). Türkiye’de Lamiaceae (Labiatae) Familyasına Ait Baharat veya Çeşni Olarak Kullanılan Bazı Bitkilerin Fenolik Bileşenleri ile Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*.
- Özkan, O., Aydın, H., & Bağcıgil, A. F. (2009). *Salvia verticillata* ve *Phlomis pungens*’ in vitro antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15(4), 587–590.
- Pachaiappan, R., Rajamuthu, T. P., Sarkar, A., Natrajan, P., Krishnan, N., Sakthivelu, M., Velusamy, P., Ramasamy, P., & Gopinath, S. C. B. (2022). N-acyl-homoserine lactone mediated virulence factor (s) of *Pseudomonas aeruginosa* inhibited by flavonoids and isoflavonoids. *Process Biochemistry*, 116, 84–93.
- Paczkowski, J. E., Mukherjee, S., McCready, A. R., Cong, J.-P., Aquino, C. J., Kim, H., Henke, B. R., Smith, C. D., & Bassler, B. L. (2017). Flavonoids suppress *Pseudomonas aeruginosa* virulence through allosteric inhibition of quorum-sensing receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 292(10), 4064–4076.
- Palit, S., Kar, S., Sharma, G., Das, P.K. (2015). Hesperetin Induces Apoptosis in Breast Carcinoma by Triggering Accumulation of ROS and Activation of ASK1/JNK Pathway. *Journal of cellular Physiology*; 230, 1729–1739.
- Papenfort, K., & Bassler, B. L. (2016). Quorum sensing signal–response systems in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 576–588.
- Patel, A., & West, H. J. (2020). What does my stage of cancer mean? *JAMA Oncology*, 6(8), 1308.
- Patrick, J. E., & Kearns, D. B. (2012). Swarming motility and the control of master regulators of flagellar biosynthesis. *Molecular Microbiology*, 83(1), 14–23.
- Perez-Vizcaino, F. and Fraga, C.G. (2018). Research trends in flavonoids and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*; 646,107–112.
- Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants’ usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6(11), 1.
- Plochmann, K., Korte, G., Koutsilieri, E., Richling, E., Riederer, P., Rethwilm, A., Schreier, P., & Scheller, C. (2007). Structure–activity relationships of flavonoid-induced cytotoxicity on human leukemia cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 460(1), 1–9.

- Popović-Djordjević, J., Cengiz, M., Ozer, M. S., & Sarikurkcü, C. (2019). Calamintha incana: essential oil composition and biological activity. *Industrial Crops and Products*, 128, 162–166.
- Prakash, O. M., Chandra, M., Pant, A. K., & Rawat, D. S. (2016). Mint (*Mentha spicata* L.) oils. In *Essential oils in food preservation, flavor and safety* (pp. 561–572). Elsevier.
- Prazdnova, E. V, Gorovtsov, A. V, Vasilchenko, N. G., Kulikov, M. P., Statsenko, V. N., Bogdanova, A. A., Refeld, A. G., Brislavskiy, Y. A., Chistyakov, V. A., & Chikindas, M. L. (2022). Quorum-Sensing Inhibition by Gram-Positive Bacteria. *Microorganisms*, 10(2), 350.
- Qin, D., & Xi, J. (2021). Flash extraction: An ultra-rapid technique for acquiring bioactive compounds from plant materials. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 581–591.
- Qiu, F., Khutsishvili, M., Fayvush, G., Tamanyan, K., Atha, D., & Borris, R. P. (2019). Phytochemical investigation of *Eremostachys moluccelloides* Bunge (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 48; 17-20.
- Quecan, B. X. V., Santos, J. T. C., Rivera, M. L. C., Hassimotto, N. M. A., Almeida, F. A., & Pinto, U. M. (2019). Effect of quercetin rich onion extracts on bacterial quorum sensing. *Frontiers in Microbiology*, 10, 867.
- Rader, B.A., Campagna, S. R., Semmelhack, M. F., Basslar, B.L., Guillemin, K. (2007) The quorum-sensing molecule auto-inducer 2 regulates motility and flagellar morphogenesis in *Helicobacter pylori*. *Journal of Bacteriology*, 189, 6109–6117.
- Ramos da Silva, L. R., Ferreira, O. O., Cruz, J. N., de Jesus Pereira Franco, C., Oliveira dos Anjos, T., Cascaes, M. M., Almeida da Costa, W., Helena de Aguiar Andrade, E., & Santana de Oliveira, M. (2021). Lamiaceae Essential Oils, Phytochemical Profile, Antioxidant, and Biological Activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.
- Rani, A., Chauhan, S., & Azmi, W. (2018). Production and antimicrobial, antioxidant and anticancer applications of pyocyanin from isolated *Pseudomonas aeruginosa*. *SciFed J. Ferment. Microbial Technol.*, 1.
- Rasul, A., Millimouno, F. M., Ali Eltayb, W., Ali, M., Li, J., & Li, X. (2013). Pinocembrin: a novel natural compound with versatile pharmacological and biological activities. *BioMed Research International*, 2013.
- Rawat, A., & Reddy, A. V. B. (2022). Recent advances on anticancer activity of coumarin derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 100038.
- Reygaert WC. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*. 26;4(3):482-501.

- Rivera. (2019). Effect of *Capsicum frutescens* extract, capsaicin, and luteolin on quorum sensing regulated phenotypes. *Journal of Food Science*, 84(6), 1477–1486.
- Rodriguez-Garcia, C. ve Sanchez-Quesada, C. (2019). Dietary Flavonoids as Cancer Chemopreventive Agents: An Updated Review of Human Studies. *Antioxidants*, 8, 137.
- Rossi, E., La Rosa, R., Bartell, J. A., Marvig, R. L., Haagensen, J. A. J., Sommer, L. M., Molin, S., & Johansen, H. K. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. *Nature Reviews Microbiology*, 19(5), 331–342.
- Rustaiyan, A., & Sadat, Z. (n.d.). *CONSTITUENTS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SELECTED GENERA OF THE IRANIAN LABIATAE (LAMIACEAE) FAMILY-A REVIEW (PART ONE)*.
- Salehi, B., Stojanović-Radić, Z., Matejić, J., Sharopov, F., Antolak, H., Kręgiel, D., Sen, S., Sharifi-Rad, M., Acharya, K., & Sharifi-Rad, R. (2018). Plants of genus *Mentha*: From farm to food factory. *Plants*, 7(3), 70.
- Saliha, E., ESERTAŞ, Ü. Z. Ü., Kilic, A. O., Ejder, N., & Uzunok, B. (2020). Determination of the antimicrobial and antibiofilm effects and ‘Quorum Sensing’ inhibition potentials of *Castanea sativa* Mill. extracts. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(1), 66–78.
- Salmaki, Y., Zarre, S., Ryding, O., Lindqvist, C., Scheunert, A., Bräuchler, C., & Heubl, G. (2012). Phylogeny of the tribe Phlomideae (Lamioideae: Lamiaceae) with special focus on *Eremostachys* and *Phlomoideae*: new insights from nuclear and chloroplast sequences. *Taxon*, 61(1), 161–179.
- Santos, K. P., Sedano-Partida, M. D., Sala-Carvalho, W. R., Loureiro, B. O. S. J., da Silva-Luz, C. L., & Furlan, C. M. (2018). Biological activity of *Hyptis Jacq.*(Lamiaceae) is determined by the environment. *Industrial Crops and Products*, 112, 705–715.
- Sarkar, S., Horn, G., Moulton, K., Oza, A., Byler, S., Kokolus, S., & Longacre, M. (2013). Cancer development, progression, and therapy: an epigenetic overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(10), 21087–21113.
- Sarma, N. (2017). Emerging and re-emerging infectious diseases in South East Asia. *Indian Journal of Dermatology*, 62(5), 451.
- Schniederberend, M., Williams, J. F., Shine, E., Shen, C., Jain, R., Emonet, T., & Kazmierczak, B. I. (2019). Modulation of flagellar rotation in surface-attached bacteria: A pathway for rapid surface-sensing after flagellar attachment. *PLoS Pathogens*, 15(11), e1008149.
- Serletti, J. M., Fosnot, J., Nelson, J. A., Disa, J. J., & Bucky, L. P. (2011). Breast reconstruction after breast cancer. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 127(6), 124e-135e.

- Seyfried, T. N., & Huysentruyt, L. C. (2013). On the origin of cancer metastasis. *Critical ReviewsTM in Oncogenesis*, 18(1–2).
- Sghaier, M. Ben, Skandrani, I., Nasr, N., Franca, M.-G. D., Chekir-Ghedira, L., & Ghedira, K. (2011). Flavonoids and sesquiterpenes from *Teucrium ramosissimum* promote antiproliferation of human cancer cells and enhance antioxidant activity: A structure–activity relationship study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(3), 336–348.
- Shaker, M. M., & Al-Hadrawi, H. A. N. (2021). Measuring the effectiveness of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* that isolated from urinary tract infection patients in Al-Najaf city in Iraq. *Materials Today: Proceedings*.
- Sharif, K. O. M., Tufekci, E. F., Ustaoglu, B., Altunoglu, Y. C., Zengin, G., Llorent-Martínez, E. J., Guney, K., & Baloglu, M. C. (2021). Anticancer and biological properties of leaf and flower extracts of *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Food Bioscience*, 41, 101005.
- Sharifi-Rad, M., Ozelik, B., Altın, G., Daşkaya-Dikmen, C., Martorell, M., Ramírez-Alarcón, K., Alarcón-Zapata, P., Morais-Braga, M. F. B., Carneiro, J. N. P., & Leal, A. L. A. B. (2018). *Salvia* spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 242–263.
- Sheet, S., Sathishkumar, Y., Choi, M. S., Lee, Y.S. (2019). Insight into *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin production under low-shear modeled microgravity. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 42:267–277.
- Shirazi, F. H., Zarghi, A., Ashtarinezhad, A., Kobarfard, F., Nakhjavani, M., Anjidani, N., Zendehtel, R., Arfaiee, S., Shoeibi, S., & Mohebi, S. (2011). *Remarks in successful cellular investigations for fighting breast cancer using novel synthetic compounds*. INTECH Open Access Publisher Croatia.
- Shokoohinia, Y., Jafari, F., Mohammadi, Z., Bazvandi, L., Hosseinzadeh, L., Chow, N., Bhattacharyya, P., Farzaei, M. H., Farooqi, A. A., & Nabavi, S. M. (2018). Potential anticancer properties of osthonol: A comprehensive mechanistic review. *Nutrients*, 10(1), 36.
- Siddiqui, A. J., Danciu, C., Ashraf, S. A., Moin, A., Singh, R., Alreshidi, M., Patel, M., Jahan, S., Kumar, S., & Alkhinjar, M. I. M. (2020). Plants-derived biomolecules as potent antiviral phytomedicines: new insights on ethnobotanical evidences against coronaviruses. *Plants*, 9(9), 1244.
- Siddiqui, A. J., Jahan, S., Singh, R., Saxena, J., Ashraf, S. A., Khan, A., Choudhary, R. K., Balakrishnan, S., Badraoui, R., & Bardakci, F. (2022). Plants in anticancer drug discovery: from molecular mechanism to chemoprevention. *BioMed Research International*, 2022.
- Singh, K. N., & Lal, B. (2008). Ethnomedicines used against four common ailments by the tribal communities of Lahaul-Spiti in western Himalaya. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(1), 147–159.

- Sırıken, B., & Veli, Ö. Z. (2017). *Pseudomonas aeruginosa*: özellikleri ve quorum sensing mekanizması. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 18, 42–52.
- Small Jr, W., Bacon, M. A., Bajaj, A., Chuang, L. T., Fisher, B. J., Harkenrider, M. M., Jhingran, A., Kitchener, H. C., Mileskin, L. R., & Viswanathan, A. N. (2017). Cervical cancer: a global health crisis. *Cancer*, 123(13), 2404–2412.
- Smith, D., Wang, J.-H., Swatton, J. E., Davenport, P., Price, B., Mikkelsen, H., Stickland, H., Nishikawa, K., Gardiol, N., & Spring, D. R. (2006). Variations on a theme: diverse N-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing mechanisms in gram-negative bacteria. *Science Progress*, 89(3–4), 167–211.
- Stein, G. E. (2005). Antimicrobial resistance in the hospital setting: impact, trends, and infection control measures. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 25(10P2), 44S-54S.
- Sun, E., Liu, S., & Hancock, R. E. W. (2018). Surfing motility: a conserved yet diverse adaptation among motile bacteria. *Journal of Bacteriology*, 200(23), e00394-18.
- Sun, J., Sun, P., Kang, C., Zhang, L., Guo, L., & Kou, Y. (2022). Chemical composition and biological activities of essential oils from six lamiaceae folk medicinal plants. *Frontiers in Plant Science*, 13, 919294.
- 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.
- Talib, W. H., Alsalahat, I., Daoud, S., Abutayeh, R. F., & Mahmud, A. I. (2020). Plant-derived natural products in cancer research: extraction, mechanism of action, and drug formulation. *Molecules*, 25(22), 5319.
- Tamfu, A. N., Kucukaydin, S., Ceylan, O., Sarac, N., & Duru, M. E. (2021). Phenolic composition, enzyme inhibitory and anti-quorum sensing activities of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) and basil (*Ocimum basilicum* Linn). *Chemistry Africa*, 4(4), 759–767.
- Tan, M.-W., Rahme, L. G., Sternberg, J. A., Tompkins, R. G., & Ausubel, F. M. (1999). *Pseudomonas aeruginosa* killing of *Caenorhabditis elegans* used to identify *P. aeruginosa* virulence factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(5), 2408–2413.
- Taniguchi, K., & Karin, M. (2018). NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nature Reviews Immunology*, 18(5), 309–324.
- Tapia-Rodriguez, M. R., Bernal-Mercado, A. T., Gutierrez-Pacheco, M. M., Vazquez-Armenta, F. J., Hernandez-Mendoza, A., Gonzalez-Aguilar, G. A., Martinez-Tellez, M. A., Nazzaro, F., & Ayala-Zavala, J. F. (2019). Virulence of *Pseudomonas aeruginosa* exposed to carvacrol: Alterations of the Quorum sensing at enzymatic and gene levels. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 13(4), 531–537.

- Tarighi, S., & Taheri, P. (2011). Different aspects of bacterial communication signals. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(6), 1267–1280.
- Thomas, C., & Tampé, R. (2020). Structural and mechanistic principles of ABC transporters. *Annual Review of Biochemistry*, 89, 605–636.
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler Jr, V. G. (2015). Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603–661.
- Tremblay, J., Richardson, A., Lépine, F., & Déziel, E. (2007). Self-produced extracellular stimuli modulate the Pseudomonas aeruginosa swarming motility behaviour. *Environmental Microbiology*, 9(10), 2622–2630.
- Tuba, A., & ÖZCAN, K. (2018). Aslanpençesi (Alchemilla Ellenbergiana) ekstrelerinin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 113–121.
- Tüfekci, E.F., Al kateeb, A., Akar, S., Çorum, O., Çelik Altunoğlu, Y., Baloğlu, M. C., Kiraz, M., Çöplü, N. (2020). Antimicrobial and anti-quorum sensing activities of giant fennel (Ferula elaeochytris Korovin) from the Hatay region. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 36 (3), 214-220.
- Uc-Cachón, A. H., Gracida-Osorno, C., Luna-Chi, I. G., Jiménez-Guillermo, J. G., & Molina-Salinas, G. M. (2019). High prevalence of antimicrobial resistance among gram-negative isolated bacilli in intensive care units at a tertiary-care hospital in Yucatán Mexico. *Medicina*, 55(9), 588.
- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. M. R. M., Mitra, S., Emran, T. Bin, Dhama, K., Ripon, M. K. H., Gajdacs, M., & Sahibzada, M. U. K. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), 1750–1766.
- Ugurlu, A., Yagci, A. K., Ulusoy, S., Aksu, B., & Bosgelmez-Tinaz, G. (2016). Phenolic compounds affect production of pyocyanin, swarming motility and biofilm formation of Pseudomonas aeruginosa. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(8), 698–701.
- Uritu, C. M., Mihai, C. T., Stanciu, G.-D., Dodi, G., Alexa-Stratulat, T., Luca, A., Leon-Constantin, M.-M., Stefanescu, R., Bild, V., & Melnic, S. (2018). Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: A review. *Pain Research and Management*, 2018.
- URL-1 <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:77118440-1>. Erişim Tarihi:20.09.2022.
- URL-2 <https://www.gazetebilkent.com/bilim-teknoloji/elifbusra/hastaliklarin-pencesinde-bir-gelecek-antibiyotik-direnci/> Erişim Tarihi:24.09.2022.

- Usmanov, D., Azamatov, A., Baykuziyev, T., Yusupova, U., & Rasulev, B. (2022). Chemical constituents, anti-inflammatory and analgesic activities of iridoids preparation from *Phlomis labiosa bunge*. *Natural Product Research*, 1–5.
- Vagia, E., Mahalingam, D., & Cristofanilli, M. (2020). The landscape of targeted therapies in TNBC. *Cancers*, 12(4), 916.
- Vasavi, H. S., Arun, A. B., & Rekha, P. D. (2016). Anti-quorum sensing activity of flavonoid-rich fraction from *Centella asiatica* L. against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 49(1), 8–15.
- Ventre, I., Goodman, A. L., Vallet-Gely, I., Vasseur, P., Soscia, C., Molin, S., Bleves, S., Lazdunski, A., Lory, S., & Filloux, A. (2006). Multiple sensors control reciprocal expression of *Pseudomonas aeruginosa* regulatory RNA and virulence genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(1), 171–176.
- Venturi, V. (2006). Regulation of quorum sensing in *Pseudomonas*. *FEMS Microbiology Reviews*, 30(2), 274–291.
- Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L. (2020). Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. *Antibiotics*, 9(2), 59.
- Vetrivel, A., Ramasamy, M., Vetrivel, P., Natchimuthu, S., Arunachalam, S., Kim, G.-S., & Murugesan, R. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and its control. *Biologics*, 1(3), 312–336.
- Vidaillac, C., & Chotirmall, S. H. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* in bronchiectasis: infection, inflammation, and therapies. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 15(5), 649–662.
- Vignoli, A., Muraro, E., Miolo, G., Tenori, L., Turano, P., Di Gregorio, E., Steffan, A., Luchinat, C., & Corona, G. (2020). Effect of estrogen receptor status on circulatory immune and metabolomics profiles of HER2-positive breast cancer patients enrolled for neoadjuvant targeted chemotherapy. *Cancers*, 12(2), 314.
- Vipin, C., Saptami, K., Fida, F., Mujeeburahiman, M., Rao, S. S., Arun, A. B., & Rekha, P. D. (2020). Potential synergistic activity of quercetin with antibiotics against multidrug-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One*, 15(11), e0241304.
- Vrenna, G., Artini, M., Ragno, R., Relucenti, M., Fiscarelli, E. V., Tuccio Guarna Assanti, V., Papa, R., & Selan, L. (2021). Anti-virulence properties of *coridothymus capitatus* essential oil against *pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from cystic fibrosis patients. *Microorganisms*, 9(11), 2257.
- Wagner, V. E., Filiatrault, M. J., Picardo, K. F., & Iglewski, B. H. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* virulence and pathogenesis issues. *Pseudomonas Genomics and Molecular Biology*, 129–158.

- Wang, B., Sui, J., Yu, B., Yuan, C., Guo, L., Abd El-Aty, A. M., & Cui, B. (2021). Physicochemical properties and antibacterial activity of corn starch-based films incorporated with *Zanthoxylum bungeanum* essential oil. *Carbohydrate Polymers*, *254*, 117314.
- Wang, D., Zhu, K., Tian, J., Li, Z., Du, G., Guo, Q., Wu, T., & Li, J. (2018). Clinicopathological and ultrasonic features of triple-negative breast cancers: a comparison with hormone receptor-positive/human epidermal growth factor receptor-2-negative breast cancers. *Ultrasound in Medicine & Biology*, *44*(5), 1124–1132.
- Wang, M., Zhu, P., Jiang, J., Zhu, H., Tan, S., & Li, R. (2020). Signaling molecules of quorum sensing in bacteria. *Reviews in Biotechnology and Biochemistry*.
- Wang, S., Payne, G. F., & Bentley, W. E. (2020). Quorum sensing communication: molecularly connecting cells, their neighbors, and even devices. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, *11*(1).
- Wang, Y., Li, S., Jin, M., Han, Q., Liu, S., Chen, X., & Han, Y. (2020). Enhancing the Thermo-Stability and Anti-Bacterium Activity of Lysozyme by Immobilization on Chitosan Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(5), 1635.
- Wei, W., He, J., Ruan, H., & Wang, Y. (2019). In vitro and in vivo cytotoxic effects of chrysoeriol in human lung carcinoma are facilitated through activation of autophagy, sub-G1 cell cycle arrest, cell migration and invasion inhibition and modulation of MAPK/ERK signalling pathway. *JOURNAL OF BUON*, *24*(3), 936–942.
- Weiland-Bräuer, N. (2021). Friends or foes—microbial interactions in Nature. *Biology*, *10*(6), 496.
- Whiteley, M., Diggle, S. P., & Greenberg, E. P. (2017). Progress in and promise of bacterial quorum sensing research. *Nature*, *551*(7680), 313–320.
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, *3*(2), 163–175.
- Williams, F., & Jeanetta, S. C. (2016). Lived experiences of breast cancer survivors after diagnosis, treatment and beyond: qualitative study. *Health Expectations*, *19*(3), 631–642.
- Williams P. (2007). Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world. *Microbiology* *15* (12): 3923-3938.
- Winstanley, C., O'Brien, S., & Brockhurst, M. A. (2016). *Pseudomonas aeruginosa* evolutionary adaptation and diversification in cystic fibrosis chronic lung infections. *Trends in Microbiology*, *24*(5), 327–337.

- Wright, G. D. (2019). Unlocking the potential of natural products in drug discovery. *Microbial Biotechnology*, 12(1), 55–57.
- Xiao, J., Chen, G., & Li, N. (2018). Ionic liquid solutions as a green tool for the extraction and isolation of natural products. *Molecules*, 23(7), 1765.
- Xuan, G., Lin, H., Li, X., Kong, J., & Wang, J. (2022). RetS Regulates Phage Infection in *Pseudomonas aeruginosa* via Modulating the GacS/GacA Two-Component System. *Journal of Virology*, 96(8), e00197-22.
- Yin, W., Wang, Y., Liu, L., & He, J. (2019). Biofilms: the microbial “protective clothing” in extreme environments. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14), 3423.
- Yoon, Y., He, H., Dodd, M. C., & Lee, Y. (2021). Degradation and deactivation of plasmid-encoded antibiotic resistance genes during exposure to ozone and chlorine. *Water Research*, 202, 117408.
- Zamani Taghizadeh Rabe, S., Mahmoudi, M., Ahmadsimab, H., Zamani Taghizadeh Rabe, S. S., & Emami, A. (2014). Investigation of the biological activity of methanol extract from *Eremostachys labiosa* Bunge. *Food and Agricultural Immunology*, 25(4), 578–585.
- Zhang, H., Xu, H., Ashby Jr, C. R., Assaraf, Y. G., Chen, Z., & Liu, H. (2021). Chemical molecular-based approach to overcome multidrug resistance in cancer by targeting P-glycoprotein (P-gp). *Medicinal Research Reviews*, 41(1), 525–555.
- Zhang, X., Zuo, Z., Yu, P., Li, T., Guang, M., & Wang, L. (2021). Rice peptide nanoparticle as a bifunctional food-grade Pickering stabilizer prepared by ultrasonication: Structural characteristics, antioxidant activity, and emulsifying properties. *Food Chemistry*, 343, 128545.
- Zhu, X., Li, R., Wang, C., Zhou, S., Fan, Y., Ma, S., Gao, D., Gai, N., & Yang, J. (2021). Pinocembrin Inhibits the Proliferation and Metastasis of Breast Cancer via Suppression of the PI3K/AKT Signaling Pathway. *Frontiers in Oncology*, 11, 661184.