



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***MORUS NIGRA* L. (KARADUT) MEYVE EKSTRAKTLARININ
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN VE ANTİBİYOTİKLERLE SİNERJİSTİK
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Osman AKMEŞE

**MAYIS 2019
GÜMÜŞHANE**

**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

***MORUS NIGRA L. (KARADUT) MEYVE EKSTRAKTLARININ
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN VE ANTİBİYOTİKLERLE SİNERJİSTİK
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ***

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Osman AKMEŞE

**Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
“Biyoteknoloji Anabilim Dalı”**

Yüksek Lisans Programında Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 16.05.2019

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 20.06.2019

MAYIS 2019



KABUL ve ONAY



Dr. Öğr. Üyesi Tuba ACET ve Dr. Öğr. Üyesi Kadriye ÖZCAN (2. danışman) danışmanlığında **Osman AKMEŞE** tarafından hazırlanan “**MORUS NIGRA L. (KARADUT) MEYVE EKSTRAKTLARININ ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN VE ANTİBİYOTİKLERLE SİNERJİSTİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**” isimli bu çalışma jürimiz tarafından Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoteknoloji** Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak Oy Birliği ile kabul edilmiştir.

Başkan

: Doç. Dr. Cemalettin BALTAÇI

Üye (Danışman)

: Dr. Öğr. Üyesi Tuba ACET

Üye

: Doç. Dr. Aykut SAĞLAM

ONAY

Bu tez 24.7.19 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ferkan SİPAHİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BEYANNAMESİ

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlamış olduğum "*MORUS NIGRA* L. (KARADUT) MEYVE EKSTRAKTLARININ ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN VE ANTİBİYOTİKLERLE SİNERJİSTİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ" isimli tez çalışmasında; bütün bilgi ve belgeleri genel akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel ve yazılı bütün bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğumu, başka kaynaklardan yararlandığım bilgileri metin ve kaynaklarda eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksi durumda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

16/05/2019


Osman AKMEŞE

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MORUS NIGRA L. (KARADUT) MEYVE EKSTRAKTLARININ
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN VE ANTİBİYOTİKLERLE SİNERJİSTİK
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Osman AKMEŞE

Gümüşhane Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Tuba ACET
İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kadriye ÖZCAN
2019, 99 sayfa

Antimikrobiyal ajan olarak kullanılan ilaçların olası yan etkileri ve mikroorganizmaların bu ilaçlara karşı direnç kazanması, insan sağlığı için büyük tehlike oluşturmaktadır. Bu durum bilim çevrelerini yeni arayışlara itmiştir. Bitkilerin hastalıkların tedavisi veya hastalıklardan korunma amacıyla kullanılması eski çağlara kadar dayanmaktadır. Bitkilerin süregelen bu kullanım amaçları nedeniyle çalışmalar özellikle bitkilerle ilaç etkileşimleri üzerine yoğunlaşmıştır. Son yıllarda yapılan biyoteknolojik çalışmalar ve keşifler sonucu bitki sekonder metabolitlerinin farmakoloji için zengin ve gelecek vadeden bir kaynak olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma kapsamında Elazığ ilinden toplanan ve yöre halkı tarafından geleneksel ilaç olarak kullanılan *Morus nigra* L. (karadut) meyve örnekleri taze olarak çalışıldı. Örneklerin pomolojik özellikleri, toplam fenolik, toplam flavonoid değerleri ve toplam antioksidan kapasiteleri belirlendi. Ayrıca meyve örneklerinin antimikrobiyal özellikleri ve antibiyotiklerle olan sinerjileri, seçilen altı gram pozitif bakteri, altı gram negatif bakteri ve iki maya-küf olmak üzere test mikroorganizmaları kullanılarak değerlendirildi. Örneklerin fenolik bileşik içerik analizi ise LC-MS/MS cihazı ile yapıldı. Etanol, metanol ve etil asetat kullanılarak üç farklı ekstraksiyon yapıldı. Etanol ekstresi; 2.54 ± 0.11 mg/g (GAE/TM) toplam fenolik, 6.96 ± 0.36 mg/g (AAE/TM) DPPH ve 5.22 ± 0.01 mg/g (AAE/TM) ABTS değeriyle en verimli sonuçları sergiledi. Ayrıca karadut meyve ekstraktlarının kloramfenikol, novobiosin ve nalidiksik asit ile olan sinerjistik etkileri çalışıldı. Ekstraktlar test mikroorganizmalarına karşı yüksek MIC ve MBC değerleri gösterdi. Diğer taraftan ise ekstraktlar ile antibiyotikler arasında sinerjizm tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, Antioksidan, LC-MS/MS, *Morus nigra* L. Polifenolik bileşik, Sinerjistik etki

ABSTRACT
MS THESIS

**DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND SYNERGISTIC
EFFECT WITH ANTIBIOTICS OF *MORUS NIGRA* L. (BLACK MULBERRY)
FRUIT EXTRACTS**

Osman AKMEŞE

Gümüşhane University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology

Supervisor: Asst. Prof. Tuba ACET
Co-Supervisor: Asst. Prof. Kadriye ÖZCAN
2019, 99 pages

The possible side effects of the drugs used as antimicrobial agents and the gained resistance of microorganisms to these drugs pose a great danger to human health. This event has coerced scientific community into new quests. The use of plants for the treatment of diseases or protection from diseases dates back to ancient times. Due to these end-use purposes of plants, it is inevitable for the studies to concentrate on plants with the drug interaction with plants. With the committed recent years of biotechnological studies and discoveries, plant secondary metabolites are considered to be a rich and promising resource for pharmacology.

In scope this study, Fresh samples of the fruits of *Morus nigra* L. (black mulberry) collected from the province Elazığ province and used as traditional medicinal plant by the local residents were studied. Pomological characteristics, total phenolic, total flavonoid and total antioxidant capacity amounts of the fruit samples were determined. In addition, the antimicrobial properties of the fruit samples and their existing synergistic effects with antibiotics were evaluated using test microorganisms including six gram positive bacteria, six gram negative bacteria and two yeasts-molds. Phenolic compounds content of the samples was analyzed by LC-MS/MS. Fresh samples of the fruits collected from Elazığ province were studied. Three different extractions were made using ethanol, methanol and ethyl acetate. Ethanol extract showed the most efficient results with 2.54 ± 0.11 mg/g (GAE/TM) total phenolic, 6.97 ± 0.36 mg/g (AAE/TM) DPPH and 5.22 ± 0.01 mg/g (AAE/TM) ABTS value. In addition, synergistic effects of black mulberry fruit extracts with chloramphenicol, novobiocin and nalidixic acid were analyzed. The extracts showed high MIC and MBC values against test microorganisms. On the other hand, synergism was detected between extracts and antibiotics.

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant, LC-MS/MS, *Morus nigra* L., Polyphenolic compound, Sinergistic effect

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Tez çalışmalarım boyunca değerli katkıları, yol gösterici fikirleri ve beni sürekli ayakta tutmak adına sağladıkları moral ve motivasyon için sevgili Tez Danışmanlarım Dr. Öğr. Üyesi Tuba ACET ve Dr. Öğr. Üyesi Kadriye ÖZCAN'a teşekkür ederim.

Dualarıyla her zaman yanımda olan ve emeklerinin karşılığını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim annem Şuhret AKMEŞE ve babam Zülfükar AKMEŞE'ye minnet ve şükranlarımı sunuyorum.

Ayrıca yardımlarını benden esirgemeyen çok değerli arkadaşım Hakan ÇAM'a ve bu süreç boyunca bana destek olan arkadaşlarım Murat DAĞ, Gökhan UZUNDERE, Cevdet TİRYAKİ, Emre AYER ve yüksek lisans arkadaşım Deniz KOTİLOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Osman AKMEŞE
GÜMÜŞHANE, 2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
TEŞEKKÜR	VIII
İÇİNDEKİLER.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
TABLolar DİZİNİ.....	XIV
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XVI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Dut.....	4
1.3. Serbest Radikaller	5
1.4. Antioksidan Sistem	8
1.5. Bitki Sekonder Metabolitleri.....	10
1.5.1. Polifenollerin Yapısal Çeşitliliği ve Sınıflandırılması	12
1.5.1.1. Flavonoidler	15
1.5.1.2. Fenolik Asitler	15
1.5.1.3. Liganlar	16
1.5.1.4. Stilbenler	16
1.6. Antibiyotikler	16
1.6.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması.....	19
1.6.1.1. β -Laktam Antibiyotikler	21
1.6.1.2. Glikopeptitler	22
1.6.1.3. Lipopeptitler.....	23
1.6.1.4. Aminoglikozitler	24

1.6.1.5.	Tetrasiklinler	24
1.6.1.6.	Makrolitler	25
1.6.1.7.	Oksazolidinonlar	26
1.6.1.8.	Kinolonlar	27
1.7.	Antibiyotik Direnci	28
1.7.1.	Antibakteriyel Direnç Mekanizmaları	30
1.7.1.2.	PBP Modifikasyonları.....	32
1.7.1.3.	Porin Modifikasyonları	33
1.7.1.4.	Efluks Pompaları.....	34
1.8.	Amaç	35
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	37
2.1.	Materyal	37
2.1.1.	Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar.....	37
2.1.2.	Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Sarf Malzemeler	37
2.1.3.	Örneklerin Toplanması	38
2.2.	Metot	38
2.2.1.	Örneklerin Pomolojik Özellikleri	38
2.2.2.	Örneklerin Ekstraksiyonu	39
2.2.3.	Çözeltilerin Hazırlanması	40
2.2.4.	Toplam Polifenol İçeriğinin Belirlenmesi.....	42
2.2.5.	Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi	43
2.2.6.	Antioksidan Aktivite Analizleri	44
2.2.6.1.	DPPH Radikali Yakalama Yöntemi.....	44
2.2.6.2.	ABTS Radikali Yakalama Yöntemi.....	47
2.2.6.3.	Toplam Antioksidan Kapasite Yöntemi.....	49
2.2.7.	Polifenolik Bileşik İçerik Analizi	50

2.2.8.	Dut Ekstraktlarının Antimikrobiyal Özelliklerinin ve Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi.....	52
2.2.8.1.	Disk Difüzyon Yöntemi.....	52
2.2.8.2.	Dut Ekstraktlarının Antimikrobiyal MIC ve MBC Değerlerinin Belirlenmesi	52
2.2.8.3.	Dut Ekstraktlarının Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi.....	53
2.2.9.	İstatistiksel Analizler	54
3.	BULGULAR.....	55
3.1.	Pomolojik Özellikler.....	55
3.2.	Toplam Polifenol İçerik Analiz Sonuçları	56
3.3.	Toplam Flavonoid İçerik Analiz Sonuçları.....	57
3.4.	Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	58
3.4.1.	DPPH (2,2-difenil-1 pikrilhidrazil) Radikali Yakalama Analiz Sonuçları....	58
3.4.2.	ABTS Radikali Yakalama Yöntemi Analiz Sonuçları.....	61
3.4.3.	Toplam Antioksidan Kapasite Yöntemi Analiz Sonuçları.....	64
4.5.	Polifenolik Bileşik İçerik Analiz Sonuçları	65
4.6.	Dut Ekstraktlarının Antimikrobiyal Özelliklerinin ve Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi.....	66
4.6.1.	Disk Difüzyon Yöntemi Analiz Sonuçları.....	66
3.6.2.	Dut Ekstraktlarının Antimikrobiyal MIC ve MBC Sonuçları.....	68
4.6.3.	Dut Ekstraktlarının Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi.....	69
4.	TARTIŞMA	71
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER	77
6.	KAYNAKLAR	80
	ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1.	Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu lipid peroksidasyonu ile oluşan ürünler (Özcan vd., 2015).	7
Şekil 1.2.	Fenol halkalarının sayısına ve yapı elemanlarına dayalı olarak farklı bitki polifenoller ve polifenolik sınıfları (Belščak-Cvitanović vd., 2018).....	14
Şekil 1.3.	β -laktam antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singh vd., 2017).	22
Şekil 1.4.	Bazı glikopeptitlerin ve lipopeptit antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singha, 2017).	23
Şekil 1.5.	Bazı aminoglikozit antibiyotiklerin kimyasal yapısı (Singha vd., 2017)..	24
Şekil 1.6.	Bazı tetrasiklin antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singha vd., 2017).	25
Şekil 1.7.	Bazı tetrasiklin antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singha vd., 2017).	26
Şekil 1.8.	Oksazolidinon antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singha vd., 2017).	27
Şekil 1.9.	Bazı kinolon ve kinolon olmayan DNA topoizomera II inhibitörü antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singha vd., 2017).....	28
Şekil 1.10.	Gram negatif bakterilerde en yaygın bakteriyel direnç mekanizmaları (de Sousa Oliveira vd., 2016).....	31
Şekil 2.1.	Tez çalışmasında kullanılan örneklerin toplandığı ağaç	38
Şekil 2.2.	Pomolojik özelliklerin belirlenmesinde kullanılan renk ölçer cihazı.....	39
Şekil 2.3.	<i>Morus nigra</i> L. meyve örnekleri ekstraktları	40
Şekil 2.4.	Toplam polifenol analizi askorbik asit standart eğri grafiği	43
Şekil 2.5.	Toplam flavonoid analizi için kuersetin standart eğri grafiği	44
Şekil 2.6.	DPPH radikal yakalama analizi için askorbik asit standart eğri grafiği....	45
Şekil 2.7.	DPPH radikal yakalama analizi için troloks standart eğri grafiği.....	45
Şekil 2.8.	DPPH radikal yakalama analizi MN1 (1. tekerrür) % inhibisyon grafiği	47
Şekil 2.9.	ABTS radikali yakalama analizi için askorbik asit standart eğri grafiği...	48
Şekil 2.10.	ABTS radikali yakalama analizi için troloks standart eğri grafiği.....	48

Şekil 2.11.	ABTS radikali yakalama analizi MN1 (1. tekerrür) % inhibisyon grafiği	49
Şekil 2.12.	Toplam antioksidan kapasite analizi için askorbik asit standart eğri grafiği	50
Şekil 2.13.	LC-MS/MS cihazı polifenolik bileşik standart kromatogramı.....	51
Şekil 3.1.	Ekstrelerin toplam polifenol içerik analiz sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi.....	56
Şekil 3.2.	Ekstrelerin toplam flavonoid içerik analiz sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi.....	57
Şekil 3.3.	Ekstraktların askorbik asit standart eğri grafiğine göre DPPH analiz sonuçları	59
Şekil 3.4.	Ekstraktların troloks standart eğri grafiğine göre DPPH analiz sonuçları	59
Şekil 3.5.	Ekstraktların ve standartların DPPH analizi IC ₅₀ sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi	60
Şekil 3.6.	Ekstraktların askorbik asit standart eğri grafiğine göre ABTS analiz sonuçları	62
Şekil 3.7.	Ekstraktların troloks standart eğri grafiğine göre ABTS analiz sonuçları	62
Şekil 3.8.	Ekstraktların ve standartların ABTS analizi IC ₅₀ sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi	63
Şekil 3.9.	Ekstraktların askorbik asit standart eğri grafiğine göre toplam antioksidan kapasite analiz sonuçları	64
Şekil 3.10.	LC-MS/MS sisteminden elde edilen MN1'e ait kromatogram	65

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.1.	Potansiyel serbest radikal türler (Gupta vd., 2016).....	6
Tablo 1.2.	Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma (Sies, 1985).....	9
Tablo 1.3.	Doğal antibiyotiklerin keşfi ve kaynağı (Finch vd., 2010).	19
Tablo 1.4.	Sistemik tedavide kullanılan başlıca antibakteriyeller (Singh vd., 2017).....	21
Tablo 2.1.	Tez çalışmasında kullanılan cihazlar.....	37
Tablo 2.2.	Karadut ekstraktlarının seyreltme katsayıları.....	46
Tablo 3.1.	Meyve örneklerinin boy-en ve ağırlık ölçümleri.....	55
Tablo 3.2.	Meyve örneklerinin renk ölçüm değerleri.....	55
Tablo 3.3.	Ekstraktların toplam polifenol içerik analiz sonuçları	56
Tablo 3.4.	Ekstraktların toplam flavonoid içerik analiz sonuçları	57
Tablo 3.5.	Ekstraktların standart grafik eğrilerine göre DPPH analiz sonuçları	58
Tablo 3.6.	Ekstraktların ve standartların DPPH analizi IC ₅₀ sonuçları	60
Tablo 3.7.	Ekstraktların standart grafik eğrilerine göre ABTS analiz sonuçları	61
Tablo 3.8.	Ekstraktların ve standartların ABTS analizi IC ₅₀ sonuçları	63
Tablo 3.9.	Ekstraktların grafik eğrisine göre toplam antioksidan kapasite analiz sonuçları	64
Tablo 3.10.	MN1 ekstresi polifenolik içerik analiz sonuçları	66
Tablo 3.11.	Ekstraktların patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisi	67
Tablo 3.12.	Ekstraktlar ve antibiyotiklerin patojen mikroorganizmalara karşı MIC değerleri.....	68
Tablo 3.13.	Ekstraktların patojen mikroorganizmalara karşı MBC değerleri.....	69
Tablo 3.14.	Ekstrakt ve antibiyotik kombinasyonu FICI değerleri	70
Tablo 4.1.	Antioksidan aktivite analiz sonuçları	72
Tablo 4.2.	Ekstraktların patojen mikroorganizmalara karşı MIC ve MBC değerleri.....	75

Tablo 4.3. Ekstrakt ve antibiyotik kombinasyonlarının gösterdiği sinerjizm.....	76
---------------------------------------------------------------------------------	----

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AbS _{Ekstre}	: Örnek ekstrenin absorbans değeri
AbS _{Kontrol}	: Kontrol absorbans değeri
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
ATP	: Adenozin trifosfat
BHA	: Bütillenmiş hidroksianizol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitolüen
Da	: Dalton
DPPH	: 2,2-difenil-1 pikrilhidrazil
DSMZ	: Alman Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu
ESI	: Elektrosprey iyonlaştırma
FICI	: Fraksiyon inhibitör konsantrasyon indeksi
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside olmuş glutasyon
MBC	: Minimal bakterisidal konsantrasyon
MIC	: Minimum inhibitör konsantrasyonu
MICA	: Dut ekstraktlarının MIC değeri
MICA/B	: Dut ekstraktlarının kombinasyon içindeki MIC değerleri
MICB	: Antibiyotiklerin MIC değeri
MICB/A	: Antibiyotiklerin kombinasyon içindeki MIC değerleri
MN1	: Etanol ile yapılan <i>Morus nigra</i> L. meyve ekstresi
MN2	: Metanol ile yapılan <i>Morus nigra</i> L. meyve ekstresi
MN3	: Etil asetat ile yapılan <i>Morus nigra</i> L. meyve ekstresi
MRM	: Çoklu reaksiyon görüntüleme
MRSA	: Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
Omps	: Dış zar porinleri
PBP	: Penisilin bağlayıcı protein
QE	: Kuersetin eşdeğeri
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
TE	: Troloks eşdeğeri
TM	: Taze meyve
VRE	: Vankomisin dirençli enterokoklar
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Bitkilerin hastalıkları iyileştirme gücüne olan inanç neredeyse insanlık tarihi kadar eskidir (Cowan, 1999). Dünya genelinde geleneksel ve modern tıbbi sistemlerde 50.000 ile 70.000 arası bitki türünün kullanıldığı tahmin edilmektedir (Schippmann vd., 2006). Antik çağlardan beri bitkilerden elde edilen ilaçlar, soğuk algınlığından kansere kadar çeşitli rahatsızlıkların tedavisi için kullanılmaktadır. Geleneksel bitkisel ilaçlar, Türkiye'nin de içinde bulunduğu gelişmekte olan ülkelerde birinci basamak sağlık sisteminin önemli bir bileşenidir (Sowjanya vd., 2013). Özellikle geleneksel şifalı bitkiler birçok ülkede yaygın olarak kullanılmaktadır. İyi bilinen aktif metabolit kaynağı oluşturdıklarından dolayı bitkilerin biyolojik özelliklerinden sorumlu bileşikler izole etmek için birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların bazıları yeni ilaçların bulunmasını sağlamıştır (Newman ve Cragg, 2016). Ayrıca bu doğal bileşiklerin, farmakolojik ve etnobotanik bilgilerle birlikte biyoteknolojik bir bakış açısıyla, geleneksel kullanım amaçlarıyla eşgüdümlü olarak incelenmesinin, bu bileşiklerin insanlığın hizmetine sunulması yolunda önemli katkısı olacaktır (Wiart, 2006).

Her bitki türü tarafından çok sayıda doğal ürün sentezlenmektedir. Ayrıca coğrafi dağılımları, büyüme koşulları ve hasat zamanları bitkinin sentezlediği bu doğal ürünlerin çeşit ve miktarını önemli ölçüde etkileyebilmektedir (Chan vd., 2010). Türkiye'nin yedi coğrafi bölgesinden en büyüğü (170.000 km²) olan Doğu Anadolu, onu deniz meltemlerinin ılımlı etkisinden koruyan dağlık bölgeler ile çevrilidir. Bu bölgede, soğuk, uzun ve aylarca süren kar yağışlı kışlar, ardından çok kısa yağışlı baharlar, sıcak ve kurak yazlar izlenmektedir. Dağlık ve kuvvetli bir şekilde parçalanmış olan bu bölge, farklı bitki örtüsünün gelişmesi için uygun koşullar sağlayan birkaç mikro iklimsel ve ekolojik bölge sunmaktadır (Tan, 1998; Özgökçe ve Özçelik, 2004; Altundağ ve Öztürk, 2011). Tez çalışmasında kullanılan karadut meyvelerinin toplandığı Elazığ ili, İran-Turan bitki coğrafya bölgesinde yer almakta ve Davis tarafından geliştirilen Grid sınıflandırma sistemine göre B7 ızgara alanına girmektedir. Ayrıca Elazığ ili, Türkiye'nin başlıca endemizm merkezlerinden biri olan Anadolu Diyagonalı'nın güneydoğusunda bulunmaktadır (Davis, 1965-1985). Elazığ, sahip olduğu topoğrafik özellikler sayesinde

Doğu Anadolu Bölgesi'nin diğer kesimlerine göre farklı bir iklime sahiptir (Erinç, 1953; Tonbul, 1990).

Antibiyotikler, '1928'de penisilinin keşfi ile başlayarak' tıpta devrim yaratan yaşam kurtarıcı temel ilaçlardır (Singh ve Barrett, 2006). Antibiyotiklerin ve diğer antimikrobiyal ajanların keşfi, bakterilere karşı mücadelede bir dönüm noktası olmuştur ve gelişmiş ülkelerde antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılmasının insan yaşam süresine 30 yıl kattığı tahmin edilmektedir (Laxminarayan vd., 2016). Penisilinin keşfinden bu yana bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde klinik kullanım için birçok etkili antibiyotik keşfedilmiş ve geliştirilmiştir (Singh, 2006; Brown ve Wright, 2016). Antibiyotik keşfinin 'Altın Dönemi' olarak adlandırılan bu zaman zarfı, 1940'ların ortalarıyla-1970'lerin başlarında yaşanmıştır ve bu dönemde birçok antibiyotik sınıfı keşfedilmiştir. Ancak son 40 yılda sadece iki yeni antibiyotik sınıfı bulunabilmiştir (Singh ve Barrett, 2006; Mundy vd., 2016). Bu duruma ilave olarak insan ve hayvan tıbbında, hayvancılıkta ve tarımda yıllarca süren aşırı antibiyotik kullanımından dolayı antibiyotik direncinin gelişimi ve küresel yayılımı, halk sağlığı için büyük bir tehdit haline gelmiştir. Çünkü bu durum bulaşıcı hastalıkları tedavi etme yeteneğimizi tehlikeye atmaktadır (Almakkia vd., 2019). Antibiyotiklerin aşırı kullanımı bakteriler üzerinde baskı oluşturmakta ve sonuçta antibiyotiğe dirençli bakterilerin ve antibiyotik direnç genlerinin seçilimine yol açmaktadır (Hughes, 2014). Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanmaları kaçınılmaz bir durumdur ve bakteriler çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmişlerdir (Frieden, 2013; Pillar ve Sahm, 2012; Blair vd., 2015). Bu direnç mekanizmaları, ilacın bağlanmasını engellemek için hedef bölge modifikasyonunu, ilaç hedefi olarak alternatif mekanizmaların üretilmesini, ilacın etkisiz hale getirilmesini, ilaç girişinin azaltılmasını ve ilaçların bakteriyel hücrelerin içinden atılması için akış pompalarının ifadesini içermektedir (Blair vd., 2015). Bazı durumlarda bakteriler yalnızca bir sınıf antibiyotiğe değil, aynı anda birkaç sınıfa direnç kazanabilmektedir ve bu, tedavi seçeneklerini önemli ölçüde sınırlandırmaktadır. Örneğin, MRSA (metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*) sadece penisilinlere değil, aynı zamanda sefalosporin ve karbapenemlere karşı dirençlidir (Blair vd., 2015). Aslında antimikrobiyal ajanların aşırı ve bilinçsiz kullanımı, büyük bir küresel sağlık tehdidi haline gelme potansiyeline sahiptir (WHO, 2015). Antimikrobiyal dirençteki mevcut eğilim, küresel bir önleme stratejisi uygulanmadığı sürece dünya çapında ölüm oranlarında önemli bir artış gösterecektir (de Kraker vd., 2016; O'Neill, 2014).

Dut, Moraceae familyasından *Morus* L. cinsine aittir (Chen vd., 2015). Meyveleri genellikle taze olarak, şaraba dönüştürülerek, meyve suyu veya reçel olarak tüketilmektedir (Ercişli ve Orhan, 2007; Wang vd., 2015; Zou vd., 2016; Kim vd., 2015). Daha önce yapılan çalışmalar, dut meyvesinin yüksek miktarda fenolik asit, flavonoid, polisakkarit ve askorbik asit içerdiğini ortaya koymaktadır (Yu vd., 2014; Ercişli ve Orhan, 2007; Ying vd., 2011; Ercişli ve Orhan, 2008). Ayrıca karadutun, hepatoprotektif, antioksidan, antibakteriyel, hipolipidemik, immüno-modüle edici, antienflamatuvar, anti-apoptotik ve antiproliferatif etki gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir (Tang vd., 2013; Du vd., 2008; Yang ve Lee, 2012; Yang vd., 2010; Lee vd., 2013; Liu ve Lin, 2013; Kim vd., 2010; Turan vd., 2017). Bununla birlikte, dut meyvelerinin polifenoller hakkında sistemli bir literatür taraması hala azdır (Khalifa vd., 2018). Bu çalışmada kullanılan *Morus nigra* L. (karadut) bitkisi Türkiye’de özellikle Asya’da geleneksel tıbbi ilaç olarak kullanılmaktadır (Koyu vd., 2018; Wen vd., 2019). Karadut meyveleri ve onlardan elde edilen ürünler Türkiye’de geleneksel olarak ağız ve boğaz hastalıklarının, özellikle çocuklarda tonsillit ve oral kandidiyazis tedavisinde kullanılmaktadır (Erdurak Kılıç, 2011). Çin ve Kore’de ise ateş, anemi, boğaz ağrısı ve hipertansiyon tedavisinde geleneksel halk ilacı olarak kullanılmaktadır (Lee vd., 2013; Ma vd., 2015). Ayrıca geleneksel Çin tıbbına göre, dut meyvesi böbrek ve karaciğer hasarına karşı koruma sağlayabilmekte, görme yeteneğini arttırabilmekte, eklemleri güçlendirebilmekte ve yaşlanma karşıtı etkilere sahip olabilmektedir (Wattanathorn vd., 2012).

Her ne kadar mikrobiyolojik araştırmalarda ve bakteriler gibi bulaşıcı organizmaların neden olduğu birçok hastalığın kontrolünde önemli ilerleme kaydedilmiş olsa da, ilaca dirençli bakteriler nedeniyle tekrarlayan salgınlar ve yeni bakteriyel patojenik türlerin ortaya çıkması, yeni antibiyotiklerin keşfedilmesini gerektirmektedir (Sharma vd., 2017). İleri teknolojiler kullanılarak şifalı bitkilerin araştırılması, yaygın halk sağlığı problemlerini çözmek adına yeni biyoaktif ajanların keşfedilmesi için uygun bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir (Cos vd., 2006, Harvey vd., 2015). Bitki doğal ürünlerinin enfeksiyon kontrolü için araştırılmasının bir başka avantajı ise belirli bir bitki ekstraktındaki farklı bileşikler arasında yüksek etkili sinerjilerin keşfedilme potansiyelidir (Patwardhan ve Mashelkar, 2009). Bu tür sinerjiler, ilaç etkinliğinin artırılmasına ve bakteriyel direnç evrim trendinin azalan bir eğilime dönüştürülmesini sağlayabilir (Wagner ve Ulrich-Merzenich, 2009). Günümüzde birçok ülke bulaşıcı hastalıklarda dahil olmak

üzere farklı hastalıkların tedavisi için bitkileri kullanmaktadır (Rios ve Recio, 2005). Ayrıca 21. yy.ın başlarında 62 milyar ABD Doları olduğu tahmin edilen uluslararası bitkisel ürün pazarının 2050 yılında 5 trilyon ABD dolarına çıkması beklenmektedir ve bu durum, tıbbi bitkilerin ticari olarak kullanımının sağlanmasının ulusların ekonomisine katkı sağlayacağını göstermektedir (WHO, 2002).

1.2. Dut

Çok yıllık yüksek yapılı bir bitki olan dut (Urticales, Moraceae, *Morus* spp. L.), Asya'nın ılıman bölgeleri orijinli olup geniş yayılım göstermektedir (Benavides vd., 1994). Bu bitki, yerkürenin çoğu coğrafik bölgeleri boyunca; tropiklerden alt-arktiklere ve deniz seviyesinden 4000 m yüksekliğe kadar görülmektedir (Machii vd., 2000; Tutin, 1996). Dut dünyanın ılıman, subtropikal veya tropik bölgelerinde yaygın olarak dağılmıştır. Ayrıca, çok çeşitli iklim ve toprak koşullarında yetişebilmektedir (Hosseini vd., 2018). Yüksek morfolojik değişkenliği, türlerin farklı ve olumsuz çevresel koşullara toleransı nedeniyle bilinen en eski kültür bitkilerinden birisidir (Gray, 1990; Winn, 1996). Dut, Türkiye'de de 400 yıldan uzun bir süredir bilinmekte ve yaygın olarak yetiştirilmektedir (Ercişli ve Orhan, 2007; Yaltırık, 1982).

Morus L. cinsinin yaklaşık 24 dut türü bulunmaktadır ve bununla birlikte çoğunlukla Güneydoğu Asya ülkelerinde ortaya çıkmış 1000'den fazla dut varyetesi vardır (Huo, 2002). Bunlar arasında *Morus nigra* L. (karadut), *Morus rubra* L. (kırmızı dut) ve *Morus alba* L. (beyaz dut) üç ana türdür ve dünyanın dört bir yanında yetişmektedir (Saadaoui ve Albouchi, 2008; Huo, 2002).

İran kökenli olan karadut, Güney Avrupa'da, Güneybatı Asya'da meyvesi için yetiştirilmektedir ve Akdeniz ülkelerindeki en önemli *Morus* L. türüdür (Tutin, 1996). Akdeniz koşullarının görüldüğü bölgelerin yanı sıra; Türkiye'nin kuzeydoğu kesimi, lezzetli yenilebilir meyveleri için yetiştirilen karadut popülasyonlarına sahiptir (Ercişli ve Orhan, 2008).

Geleneksel olarak karadut meyveleri, kökleri ve kabuğu; boğaz ağrısı, anemi, demir eksikliği, bademcik iltihabı, hipertansiyon, diyabet ve artrit tedavisinde; ateş düşürücü ve diüretik olarak karaciğeri koruma amaçlı, görme güçlüğüne tedavi edici, kan basıncını azaltma ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde geleneksel tıpta (özellikle Çin tıbbında) kullanılmaktadır (Jiang, 2011). Bununla birlikte Anadolu'da karadut

meyvesinden elde edilen şurup gargara olarak ağız ve boğaz hastalıklarının, özellikle de bebeklerde aftların tedavisinde kullanılmaktadır (Asimgil, 1997).

Morus nigra L., önemli miktarlarda toplam fenolik, toplam flavonoid ve askorbik asit içeren meyvelere sahip olan *Morus* L. cinsinin en önemli türlerinden biridir. Bu tür sadece kaliteli bir besin olarak ve farklı aromasıyla değil, aynı zamanda birçok biyoaktif maddenin iyi bir kaynağı olarak da bilinmektedir (Hojjatpanah vd., 2011). Karadut meyvesine koyu rengini veren antosiyaninler, bu meyvelerdeki ana flavonoid grubunu oluşturmaktadır (Gerasopoulos ve Stavroulakis, 1997). Daha önce yapılan çalışmalar, antioksidan aktivite ile karadut meyvelerinin antosiyanin içeriği arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermiştir (Thomas vd., 2015; Kalt vd., 1999). *Morus* L. bitki türleri tıbbi, ekonomik ve klinik alanlarda çok büyük öneme sahiptir (Andreoni, 2005; Sánchez, 2000). Ayrıca karadut meyveleri, ağız lezyonlarını tedavi etmek için kullanılmaktadır ve dut tüketiminin sadece antioksidatif, antienflamatuvar, antitümör ve antidiyabetik etki göstermediği, aynı zamanda kardiyovasküler, hepato ve nöro-koruyucu etkilerinin olduğu da bildirilmiştir (Özgen vd., 2009; Andallu vd., 2001; Huang vd., 2008; El-Beshbishy vd., 2006; Kimura vd., 2007; Isabelle vd., 2008; Wang vd., 2000).

1.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, eşleşmemiş bir elektron içeren herhangi bir atom veya molekül olarak tanımlanır ve üst indis “nokta” (A^{\bullet}) ile temsil edilir. Serbest radikaller kararlı bir duruma ulaşmak için başka bir elektron kazanma eğilimine sahiptir (Gutowski ve Kowalczyk, 2013). Bu atomların veya moleküllerin yüksek oranda reaktif olduğu düşünülür ve bunlar kararlı hale gelebilmek için radikal olmayan farklı moleküllerle reaksiyona girebilir. Radikal türlerin, atom veya molekülden bir elektronun kopması ya da molekülün çok yüksek enerjili bir durumda ayrılması gibi çeşitli oluşum mekanizmaları mevcuttur (Phaniendra vd., 2015). Aşağıda kimyasal denklemi verilen bir su molekülünün bir hidroksil radikaline ve bir hidrojen atomuna radyasyonla indüklenmesi olan homoliz durumu, radikal oluşumuna klasik bir örnek olarak verilebilir (Cameron vd., 2001).



Oluşan radikal iyonlar, yüksek ve dengesiz potansiyel enerji durumunda olduklarından çeşitli şekillerde tepki verebilirler. Örneğin, iki radikal tür birbiriyle reaksiyona girerek, radikal olmayan bir molekül oluşturabilirler (Neuman, 2013).

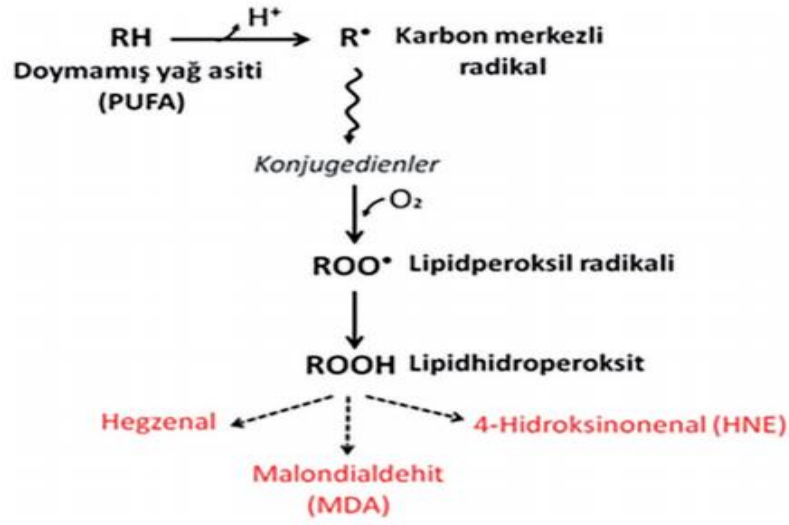
Biyolojik yapılarda hasara neden olan başlıca radikal bileşikler (Tablo 1.1.), ROS (reaktif oksijen türleri) ve RNS (reaktif nitrojen türleri) olarak tanımlanırlar (Di Meo vd., 2016). Fizyolojik sistemlerde temel hücrel matriks bileşenlerinin çoğu, radikal olmayan yapılara sahiptir ve düzenli olarak enerji üretimini ATP (Adenozin trifosfat) biçiminde gerçekleştirir. Bu bileşenler hücrel redoks dengesini sürdürür. Ancak serbest radikal moleküllerin temel seviyelerinin üzerinde oluşu hücrel biyomoleküllerin kimyasal bütünlüğünün bozulmasına neden olur (Halliwell, 1999; Halliwell ve Gutteridge, 1984).

Tablo 1.1. Potansiyel serbest radikal türler (Gupta vd., 2016).

ROS/RNS	Sembol	ROS/RNS	Sembol
Süperoksit	O_2^-	Hidroksil	OH^\bullet
Hidroperoksil	HOO^\bullet	Peroksil	ROO^\bullet
Nitrik oksit	NO^\bullet	Nitrojen oksit	NO_2^\bullet
Peroksinitrit	$ONOO^-$	Singlet oksijen	1O_2
Hipokloröz asit	$HOCl$		

Bu radikallerin lipit peroksidasyonu yolu ile sebep oldukları lipit membran hasarı iyi bilinen bir örnektir (Şekil 1.1.). Burada hidroksil radikalleri, hücrel membranın çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek hücrel membran hasarına neden olabilir (Mylonas ve Kouretas, 1999).

Oksidatif stres, oksidanların (ROS olarak adlandırılan iyonlar) ve bu ROS'u uzaklaştırmak için endojen antioksidanların üretilmesi arasındaki dengesizlik durumunu ifade etmek için kullanılan bir terimdir (Gutowski ve Kowalczyk, 2013; Neuman, 2013). Biyolojik sistemlerde üretilen ROS ve lipitler, proteinler ve DNA (deoksiribo nükleik asit) ile kolayca reaksiyona girebildiğinden aşırı ROS üretimi zararlı olabilmektedir. Yapılan çalışmalar, ROS'un zararlı etkisinin, biyomoleküllere doğrudan zarar vermesi veya proteinler ve genlerdeki modifikasyonlar yoluyla olduğunu göstermiştir (Nita ve Grzybowski, 2016; Cadet vd., 2010). Bu, çok sayıda patolojinin başlangıcına neden olmakta ve sonuçta, hücre hasarı ve ölümüne yol açan sinyal kaskadlarının tetiklenmesinde önemli rol oynamaktadır (Halliwell, 1999; Dröge, 2002).



Şekil 1.1. Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu lipid peroksidasyonu ile oluşan ürünler (Özcan vd., 2015).

ROS ve ara serbest radikallerin başlıca oksidatif hasar kaynağı olduğu iyi bilinmektedir. Buna karşılık ROS'un hücre büyümesi, proliferasyonu ve sağkalımı gibi fizyolojik işlevlerin sürdürülmesinde kritik sinyal molekülleri olarak hizmet ettiğini öne süren kapsamlı kanıtlar da mevcuttur (Trachootham vd., 2008; Babior, 2004). Endotel, enflamatuvar ve bağışıklık hücreleri gibi hücreler tarafından üretilen ROS, iki tür etkinliğe sahiptir; bu etkinliklerden biri redoks sinyaline katılımıdır, diğeri ise oksidatif stres veya yaralanmadaki rolüdür. Redoks sinyali, düşük ROS seviyelerinin biyolojik süreçleri başlatmak için sinyal yollarının aktivasyonunu tetiklerken ortaya çıkar, oksidatif stres ise biyomoleküllere zarar veren yüksek seviyede ROS üretimini tanımlamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, ROS'un birçok hastalığın patofizyolojisinde oksidatif stresi etkilese de ROS'un etkin rol oynadığı hem redoks sinyalleme hem de oksidatif stresin kardiyovasküler hastalıklardan nörodejeneratif hastalıklara kadar değişen koşullar altında gittikçe daha belirgin etkisinin olduğunu ortaya çıkarmaktadır (Jacobs vd., 1998). ROS kaynaklı oksidatif hasar ürünü olan protein ve DNA modifikasyonları, enflamatuvar bozuklukların merkezindeki sinyalin başlangıcına yol açabilmektedir. İnflamasyon, aktif enflamatuvar ve immün hücreleri tarafından gelişmiş veya yüksek seviyede ROS üretimini içeren, patojenlere karşı oluşturulan bir konak savunma mekanizmasıdır. Enflamatuvar yanıtın bir parçası olarak üretilen ROS, doku istilacı bakterilerinin temizlenmesini kolaylaştırır fakat uzun süreli olarak üretildiğinde oksidatif stres ve kronik iltihapla ilişkili bozukluklar gelişebilmektedir (Gupta vd., 2016).

1.4. Antioksidan Sistem

Reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonu aerobik yaşamın ön koşullarından biridir ve bu amaç doğrultusunda evrimleşen çok sayıda savunma hattı, Tablo 1.2’de listelenen antioksidan savunma sistemlerini oluşturur. Oksijen metabolitleri tarafından başlatılan potansiyel olarak tehlikeli reaksiyonları önlemek amacıyla evrimsel süreç boyunca gelişen bu savunma sistemleri tüm koruma seviyelerini içerir. Bu koruma seviyeleri önleme, müdahale ve onarımdır (Sies, 1985).

Antioksidan terimi daha dar anlamıyla nonenzimatik süpürücüleri, söndürücüleri ve ayrıca enzimatik sistemleri ifade eder. Bu enzimler, elbette süperoksit dismutazlar, glutatyon peroksidazlar, katalazlar ve diğer hemoprotein peroksidazlar gibi çeşitli hidroperoksidazlardır (Ighodaroab ve Akinloye, 2018). Genel olarak yüksek bir hücresel aktivite kapasitesi, spesifik organ ve hücre içi lokalizasyonlarıyla ve sıklıkla tamamlayıcı bir şekilde örtüşen ve bakır, çinko, manganez, demir ve selenyum dahil olmak üzere katalizde spesifik bir metal tutulumu formuyla karakterize edilir (Gill ve Tuteja, 2010; Karuppanapandian vd., 2011). Bu antioksidan sistemler doğada geniş bir dağılıma sahip olmakla birlikte canlıların biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen metabolitlerin zararlı etkileriyle başa çıkmadaki esaslarıdır. Bununla birlikte bazı ek veya yardımcı sistemlerin de çok önemli olduğu belirtilmektedir. Örneğin, hücrelerdeki radikal veya radikal olmayan reaksiyonların çoğu disülfid tiyol oksidasyonuna, yani GSSG (okside olmuş glutatyon) oluşturmak için glutatyonun oksidasyonuna yol açabilir.

Tablo 1.2. Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma (Sies, 1985).

Sistem	
Enzimatik olmayan	
E vitamini	Zara bağı; reseptörler
C vitamini	Kromanoksi radikalinden rejenerasyon
Flavonoidler	Suda çözünür.
Kimyasal	Bitki antioksidanları (rutin, kuersetin, vb.)
	Gıda katkı maddeleri, ör. BHA (bütillenmiş hidroksianizol),
	BHT (bütillenmiş hidroksitolüen)
Beta karoten, A vitamini	Singlet oksijen söndürücü
Ürat	Singlet oksijen söndürücü, radikal süpürücü
Plazma proteinleri	ör., Seruplasmin
Enzimatik	
Süperoksit dismutazlar	CuZn enzim, Mn enzim
GSH peroksidaz	Selenoenzim; non-Se enzimi: bazı GSH
	5transferazları,
	ör., izoenzimler B ve AA
	Sitosol ve mitokondriyal matris
Katalaz	Heme enzimi
	Ağırlıklı olarak peroksizomal matriks
Yardımcı enzimler	
NADPH-kinon oksidoredüktaz (DT diaforaz)	İki elektron indirgenme, dikumarol duyarlı
Epoksit hidrolaz	
Konjugasyon enzimleri	UDP-glusuroniltransferaz
GSSG redüktaz	Sulfotransferaz
	GSH S-transferaz
NADPH	Glikoz-6-fosfat dehidrojenaz
	6-Fosfoglukonat dehidrojenaz
	Izositrat dehidrojenazlar
	Malik enzim
	Enerji bağlantılı transhidrojenaz
Taşıma sistemleri	GSSG eksport
	Konjugat eksport

Bu nedenle GSSG redüktaz tarafından katalize edilen GSH'nin (glutatyon) tekrar indirgenmesi rejeneratif reaksiyonu, antioksidan savunmada odak hale gelebilmektedir (Sarangarajan vd., 2017). Benzer şekilde bu enzime eşdeğer indirgenme reaksiyonlarının sağlanması şarttır. Böylece NADPH (nikotinamid adenin dinükleotit fosfat) rejenerasyon sistemleri de (Tablo 1.2.) ilgi çekicidir. Reaktif oksijen türlerini üretebilen bileşiklerin reaktivlik düzeylerinin azaltılması da ayrıca azalan oksidatif stres ifadesi ile sonuçlanır. Bu bağlamda kinonların, NADPH-kinon oksidoredüktaz (DT diaforaz) ve hidrokinon

tarafından kataliz edilen sonraki konjugasyon reaksiyonları ile iki elektron azaltılması antioksidan savunmanın bir parçasıdır. Açıkçası, reaktif türlerin serbest veya konjuge formda ihracı da bir detoksifikasyon fonksiyonuna hizmet etmektedir ve böylece hücrelerden GSSG'nin yanı sıra konjugatların taşınması da burada ilgi çekicidir (Sies, 1985).

1.5. Bitki Sekonder Metabolitleri

Bitkiler alemindeki etkileyici ve büyük olarak ifade edilen kimyasal çeşitlilik, bitki genomlarının sahip olduğu yüksek kapasiteye, yani birçok metabolik enzimi kodlayabilen genlerin yüksek çeşitliliğine bağlıdır. Bu durum, bitkilerin memeliler ve bakteriler gibi diğer canlı organizmalardan daha fazla gene sahip olduklarını gösteren farklı bitki türleri üzerinde gerçekleştirilen genom dizileme çalışmalarıyla da teyit edilmiştir. Bitki türlerinden bugüne kadar izole edilmiş 200.000'den fazla sekonder metabolit, bu büyük biyolojik çeşitliliğin bir sonucudur. Ayrıca dünya çapında 400.000'den fazla bitki türünün sadece küçük bir kısmının fitokimyasal açıdan incelendiği göz önüne alınırsa, sekonder metabolitlerin sayısının hiç şüphesiz çok daha fazla olduğu aşıkardır (Yonekura-Sakakibara ve Saito, 2009; Macel vd., 2010). Aslında son yıllarda yapılan binlerce fitokimyasal çalışmanın çoğu, doğrudan veya dolaylı olarak, bitki kimyasının (sekonder metabolit profilleri) organizma ve çevresi ile sıkı sıkıya bağlı olduğunu göstermiştir (Ivanišević vd., 2011).

Daha önce bahsedildiği gibi 200.000'den fazla bilinen bitki metaboliti vardır. Bunların; 25.000'i terpenoid, 12,000'i alkaloid ve 8000'i fenoliktir (Croteau vd., 2000). Diğer metabolitler ile birlikte bitkilerde her yerde bulunduğu kabul edilen fenolikler, farklı kimyasal sınıfları yani flavonoidleri, hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitleri, gallotanninleri, proantosiyanidinleri, stilbenoidleri ve lignanları içerir. 4000'den fazla madde içeren flavonoidler; çoğunlukla antosiyaninler, flavonlar, izoflavonlar, flavanonlar, flavonoller ve flavanoller olarak sınıflandırılan ve en çok temsil edilen fenolik bileşiklerdir (Harborne vd., 1999; Ignat vd., 2011; Tsao ve Yang, 2003).

Kimyasal olarak polifenoller, yapısal fenolik özelliklere sahip doğal bir grup bileşiktir. Polifenoller terimi birkaç alt grup bileşik için kolektif olarak kullanılır. Bununla birlikte "polifenoller" teriminin kullanımı biraz kafa karıştırıcı olmuştur ve bu terimle, onların kastedilmek istenilen kimyasal yapıları araştırmacılar için bile belirsizdir (Tsao,

2010). Bugün bile bilimsel topluluk bitki polifenollerini ifade eden terimin evrensel kullanımı ile tutarlı değildir. Çünkü bazıları bu bileşikleri “bitki fenoller” olarak adlandırırken bazıları ise, “polifenoller” terimini kullanırlar. “Polifenoller” teriminin kullanımı esas olarak ticari iletişim için tercih edilmektedir. Kesinlikle, kimyasal olarak ifade edilen “fenoller” terimi, aren halkasını ve onun hidroksi ikame edicilerini içerir ve bu konseptte göre “polifenol” terimi, onların taşıdığı hidroksi gruplarının sayısından bağımsız olarak en az iki fenolik parçayı taşıyan yapılarla sınırlandırılmalıdır (Quideau vd., 2011).

Bitki polifenollerini tanımlama geleneksel olarak yapısal karakteristiklere ve protein çökmesine dayanmaktadır (Haslam ve Cai, 1994). Ancak bu tanım son yıllarda onların yapısal özellikleri ve biyosentetik yolları dikkate alınarak belirgin bir şekilde gözden geçirilmiştir (Quideau vd., 2011).

Polifenollerin tarihçesi ve tanımlarıyla alakalı olarak bu bitkisel türevli doğal ürünlerin polifenoller olarak adlandırılmadan önce, hayvan derilerinin tabaklanması işleminde çeşitli bitki ekstraktlarının kullanımlarının bir sonucu olarak küresel olarak "bitkisel tanenler" olarak adlandırıldığını ortaya koymaktadır. Bilimsel literatürdeki bitki polifenollerinin ilk tanımı, bitki ekstraktlarının bu ilk kullanımı ile ilgilidir. Bu bileşiklere deri endüstrisinde oldukça ihtiyaç duyulması nedeniyle, 20. yüzyılın başından itibaren tabaklamada kullanılan bitki özlerinin polifenolik bileşenlerinin yapısal karakterizasyonunu için büyük çaba sarf edilmiştir (Quideau vd., 2011). Bitki polifenollerini üzerine 1945’ten sonra yapılan araştırmalar, kağıt kromatografisinin keşfi ve giderek daha ileri düzeydeki diğer analitik tekniklerin geliştirilmesiyle birlikte sayısız bileşenin keşfedilmesini mümkün kılmıştır (Cheynier vd., 2015). Bir endüstriyel kimyacı olan Theodore White, 1957 yılında tarif ettiği “tanen” terimine göre bu metabolitlerin, 500 ile 3000 Da (Dalton) arasında moleküler kütlelere ve kollajen molekülleri ile çapraz hidrojen bağı oluşturabilecek çok sayıda fenolik gruba sahip bitki polifenolik maddelerini belirtmesi gerektiğini belirtmiştir (Belščak-Cvitanović vd., 2018).

Polifenol araştırmaları üzerinde yaşanan faaliyet patlaması, bu alanda iki öncü olan E. C. Bate-Smith ve Tony Swain tarafından Bitki Fenolik Grubunun 1957 yılında kurulmasına yol açmıştır (Cheynier vd., 2015). 1962’de, Bate-Smith ve Swain bitki polifenollerinin tanımını “500 ila 3000 Da arasında moleküler ağırlıklara sahip suda çözünabilir fenolik bileşikler ve her zamanki fenolik reaksiyonları vermenin yanı sıra alkaloitleri, jelatin ve diğer proteinleri çözeltide çökeltme yeteneği olan metabolitlerdir” olarak yapmışlardır (Swain ve Bate-Smith, 1962). Bate-Smith, Swain ve White tarafından

yapılan bu tanımlama, Edwin Haslam tarafından moleküler düzeyde rafine edilerek genişletilmiştir. Böylece “polifenoller” terimi, suda çözünebilen 500 ila 3000-4000 Da arasında değişen moleküler kütlelere sahip ve her 1000 Da’luk nispi moleküler kütle için 5 ila 7 aromatik halka üzerinde 12 ila 16 fenolik hidroksi grubuna sahip olan bitki fenolik bileşikleri için bir tanımlayıcı olarak kullanılmaya başlanmıştır. (Haslam ve Cai, 1994). White, Bate Smith, Swain ve Haslam’ın (WBSSH) başlangıçta bitki fenoliklerinin “polifenoller” olarak kabul ettikleri sınıflandırmalarında, ilk ve öncelikli olarak diğer biyomoleküllerle komplekse girme kapasitesine sahip olmaları odak kriterleriydi. Bununla birlikte bu tanım hala tam olarak yeterli değildir. Çünkü polifenolik maddeler, bu metabolitlerin başlangıç tanımının ima ettiği kıstaslara uyan sadece üç polihidroksifenil sınıfına ayrılabilir. Tüm kimyasal hususları göz önünde bulundurarak aşağıdaki gibi yeni bir polifenol tanımı yapılabilir. Polifenoller, tek bir fenolik halkadan daha fazlasına sahip olan ve en temel yapısal ifadelerinde nitrojen bazlı fonksiyonel grup bulundurmayan özellikle şikimat yolağından türetilmiş fenilpropanoid ve/veya poliketid yolağı (ları) ndan türetilen bitki sekonder metabolitleridir (Quideau vd., 2011).

1.5.1. Polifenollerin Yapısal Çeşitliliği ve Sınıflandırılması

Polifenoller, bitkilerdeki en büyük ve yaygın olan sekonder metabolit gruplarından birini oluşturmaktadır (Scalbert ve Williamson, 2000). Daha önce bahsedildiği gibi polifenoller sadece bir polifenol yapısına (yani aromatik halkalar üzerinde birkaç hidroksil grubu) sahip çok çeşitli molekülleri değil, aynı zamanda fenolik asitler ve fenolik alkoller gibi bir fenol halkalı molekülleri de içerir. Polifenoller, fenolik yapısal özelliklere sahip kimyasal bileşikler olarak karakterize edilmesine rağmen bu doğal ürünler grubu çok çeşitlidir ve birkaç alt grup fenolik bileşik içerir.

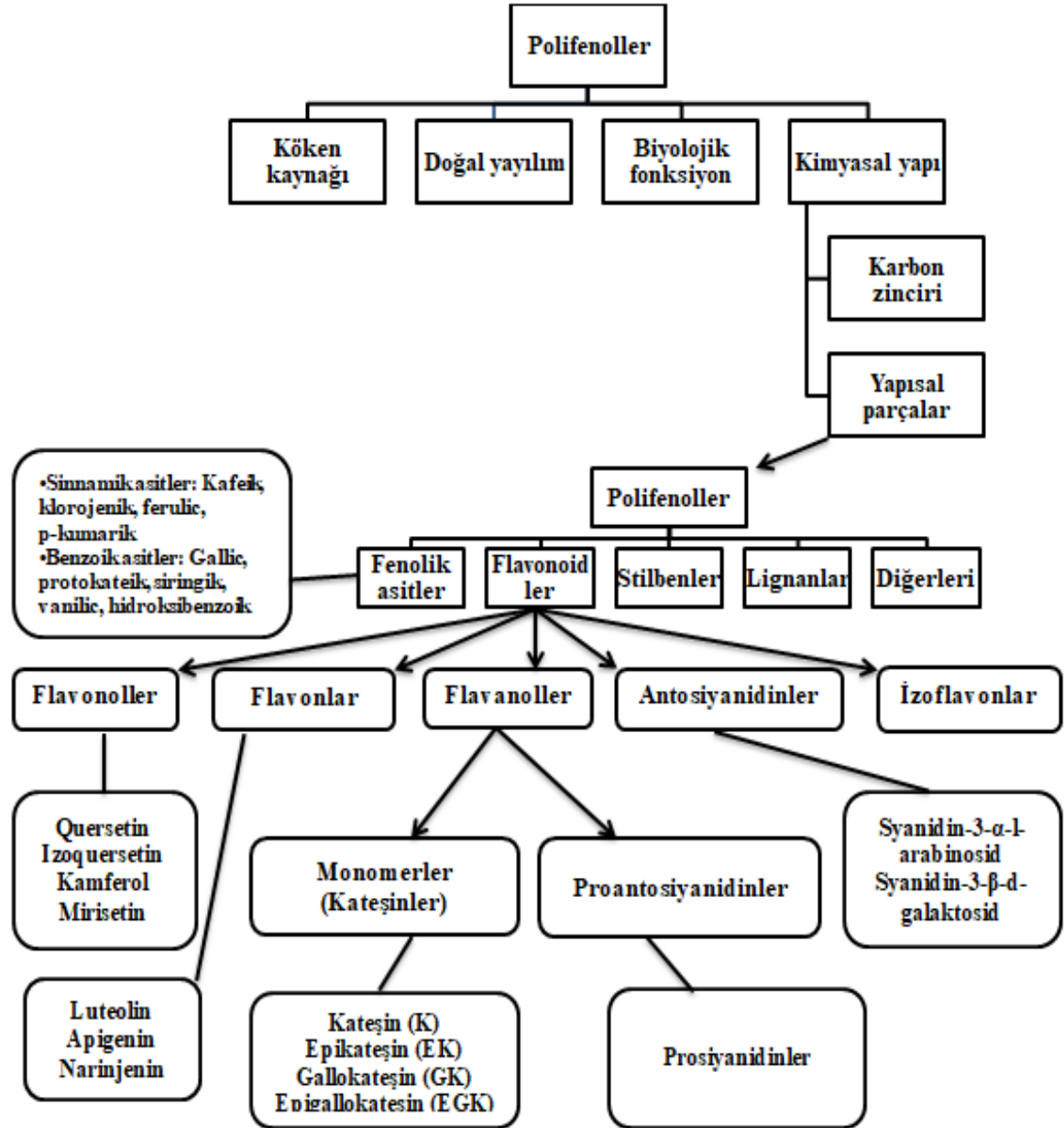
Biyogenetik olarak fenolik bileşikler iki metabolik yoldan ilerler; bunlar, başlıca fenilpropanoidlerin oluştuğu şikimik asit yolu ve ana ürünlerin basit fenoller olduğu asetik asit yoludur (Sánchez-Moreno, 2002). 100.000 ila 200.000 sekonder metabolitin var olduğu ve fotosentez ile tutulan karbonun yaklaşık %20’sinin fenilpropanoid yolağına yönlendirildiği tahmin edilmektedir (Pereira vd., 2009). Çoğu bitkinin fenolik bileşikleri fenilpropanoid yolağı üzerinden sentezlenir (Hollman, 2001). Her iki yolağın kombinasyonu, doğada en fazla bulunan fenolik bileşik grubu olan flavonoidlerin oluşumuna yol açar (Sánchez-Moreno, 2002). Flavonoid sentezine yönelik biyosentetik

yolaklar vasıtasıyla iyi aydınlatılmayan yoğunlaşma ve polimerizasyon fazları arasında, yoğunlaştırılmış tanenler veya hidrolize olmayan tanenler oluşur. Hidrolize edilebilir tanenler, gallik asit veya heksahidroksidifenik asit türevleridir (Stafford, 1983). Kimyasal çeşitliliğe ek olarak polifenoller, çeşitli karbonhidratlarla, organik asitlerle veya birbirleriyle birleşmiş olabilir (Manach vd., 2004).

Çok çeşitli yapılarda binlerce farklı polifenolik bileşik (bunlar arasında 8150'nin üzerinde flavonoid vardır.) tespit edilmiştir (Lattanzio vd., 2008). Bitkilerdeki polifenollerin çeşitliliği ve geniş dağılımı, bu doğal olarak oluşan bileşiklerin farklı yollarla kategorize etmenin yolunu açmıştır. Şekil 1.2'de görüldüğü gibi polifenoller; kökenleri, doğal dağılımları, biyolojik işlevleri ve kimyasal yapıları açısından sınıflandırılabilir.

Doğada yayılımları ile ilgili olarak fenolik bileşikler üç sınıfa ayrılabilir. Bunlar, az miktarda yayılım gösterenler (basit fenoller, pirokatekol, hidrokinon, resorsinol, benzoik asitlerden türetilen aldehitler), geniş yayılım gösterenler (flavonoidler ve bunların türevleri; kumarinler, benzoik ve sinnamik asit gibi fenolik asitler ve bunların türevlerine ayrılmıştır) ve polimerler (tanenler ve ligninler) olarak sınıflandırılabilirler (Bravo, 1998).

Polifenollerde en sık görülen sınıflandırma, bu bileşiklerin sahip oldukları aglikonların kimyasal yapılarına göre yapılan sınıflandırmadır. Bununla birlikte, polifenolik bileşikler birkaç farklı şekilde de sınıflandırılabilirler. Harborne (1989), fenolik bileşikleri karbon zincirlerine göre 16 ana sınıfa ayırmıştır. Bu ana sınıflar, basit fenoller (C_6 karbon iskelete sahip olanlar), benzokinonlar (C_6 karbon iskelete sahip olanlar), fenolik asitler (C_6-C_1 karbon iskelete sahip olanlar), asetofenonlar (C_6-C_2 karbon iskelete sahip olanlar), fenilasetik asitler (C_6-C_2 karbon iskelete sahip olanlar), hidroksisinnamik asitler (C_6-C_3 karbon iskelete sahip olanlar), fenilpropenler (C_6-C_3 karbon iskelete sahip olanlar), kumarinler ve izoarümarinler (C_6-C_3 karbon iskelete sahip olanlar), kromonlar (C_6-C_3 karbon iskelete sahip olanlar), naftokinonlar (C_6-C_4 karbon iskelete sahip olanlar), ksantanlar ($C_6-C_1-C_6$ karbon iskelete sahip olanlar), stilbenler ($C_6-C_2-C_6$ karbon iskelete sahip olanlar), antrakinonlar ($C_6-C_2-C_6$ karbon iskelete sahip olanlar), flavonoidler ($C_6-C_3-C_6$ karbon iskelete sahip olanlar), ligninler [$(C_6-C_3)_n$ karbon iskelete sahip olanlar], lignanlar ve neoliganlardır [$(C_6-C_3)_2$ karbon iskelete sahip olanlar].



Şekil 1.2. Fenol halkalarının sayısına ve yapı elemanlarına dayalı olarak farklı bitki polifenolleri ve polifenolik sınıfları (Belščak-Cvitanović vd., 2018).

Bu kimyasal sınıflandırmadan farklı olarak araştırmacılar, polifenolleri içerdikleri fenol halkalarının sayısına ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal elemanların farklılığına dayanarak da sınıflandırma yaparlar. Bununla birlikte, bazı yazarlar polifenolik sınıfları hakkında yorum nüanslarına sahiptirler ve bu, polifenolik sınıflandırılmasında farklılıklara yol açar. Bu duruma bir örnek vermek gerekirse D'Archivio vd. (2007) polifenolleri; flavonoidler, fenolik asitler, fenolik alkoller, stilbenler ve lignanlar olarak beş sınıfta listelemektedir. Diğer yandan Manach vd. (2004), fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler ve lignanlar olarak dört farklı polifenolik grubu belirtir. Han vd. (2007) ise,

fenolik asitler, flavonoidler ve stilbenlerden ayrı farklı polifenol sınıfları olarak diferuloilmetan ve tanenleri listelemektedir. Bununla birlikte, literatürde en çok kullanılan polifenol sınıflandırılması, Manach vd.nin (2004) yapmış olduğu sınıflandırmanın küçük bir modifikasyonudur. Bu, “diğerleri” olarak adlandırılan bir grup polifenolün daha katılmasıyla şekillenmiştir. Buna göre polifenol sınıfları; fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler, lignanlar ve diğerleri olmak üzere beş ana sınıf içermektedir (Grosso vd., 2014).

1.5.1.1. Flavonoidler

Bitkilerde en yaygın olarak metabolize edilen ve aynı zamanda en çok çalışılan fenolik bileşiklerdir (Bravo, 1998). Flavonoidler hidroksilasyon derecesine ve heterosiklik piron halkasındaki C_2-C_3 çift bağının varlığına göre 13 sınıfa ayrılabilir (Sánchez-Moreno, 2002). Flavonoid sınıflarının en önemlileri flavonoller, flavanoller, flavonlar, izoflavonlar, antosiyanidinler veya antosiyaninler ve flavanonlardır (Scalbert ve Williamson, 2000). Bu sınıflar içindeki bileşiklerin üç-halkalı sistemlerinin hidrojenlenme ve hidroksilasyon derecesine göre birçok yapısal varyasyonu vardır. Flavonoidler ayrıca oligosakkaritler, lipitler, aminler, karboksilik asitler ve organik asitler ile kompleksler oluşturan monosakkaritler ve disakkaritler ile birleşmiş, sülfatlanmış ve metillenmiş türevler olarak da meydana gelirler. Yaklaşık 8000 farklı flavonoid bilinmektedir (Duthie vd., 2003).

1.5.1.2. Fenolik Asitler

Bir benzen halkası, bir karboksilik grup ve içinde bir veya daha fazla hidroksil ve/veya metoksil grubu olan moleküle sahip bileşiklere fenolik asitler denir (Yang vd., 2001). Fenolik asitler; benzoik asitler, sinnamik asitler ve türevleri olmak üzere iki gruba ayrılabilirler. Benzoik asitler yedi karbon atomuna (C_6-C_1) sahiptir ve doğada bulunan en basit fenolik asitlerdir. Sinnamik asitler dokuz karbon atomuna (C_6-C_3) sahiptir ve bitkilerde serbest formlarında nadiren bulunurlar. Sinnamik asitler genellikle siklik alkol-asit ile birlikte ester formundadırlar. İzoklorojenik asidi, neoklorojenik asidi, kriptoklorojenik asidi ve klorojenik asidi meydana getiren kuinik asit en önemlilerinden biridir (Bravo, 1998). Fenolik asitler, insan diyetindeki fenolik bileşiklerin yaklaşık üçte birini oluşturur ve dikkate değer bir antioksidan aktiviteye sahiptir (Yang vd., 2001). Diğer

özellikleri fenolik asitlerin ve esterlerinin antioksidan aktivitesine katkıda bulunsa da antioksidan aktivite genellikle moleküllerinde bulunan hidroksil gruplarının sayısı ile belirlenir. Genel olarak hidroksillenmiş sinnamik asitler, benzoik asitlerden daha etkilidir (Sánchez-Moreno, 2002).

1.5.1.3. Liganlar

İki fenilpropan biriminden oluşur. En yüksek miktarda sekoizolarisiresinol (3.7 g/kg kuru ağırlık) ve düşük miktarlarda matairesinol içeren keten tohumunda bulunur. Diğer hububatlar, tahıllar, meyveler ve bazı sebzeler de aynı liganları ihtiva etse de keten tohumu içindeki konsantrasyonları bu diğer besin kaynaklarındaki konsantrasyonlarının 1000 katına kadar daha yüksektir (Adlercreutz ve Mazur, 1997).

1.5.1.4. Stilbenler

İnsan diyetinde düşük miktarlarda bulunur. Bunlardan biri olan resveratrol, tıbbi bitkilerin taranmasında üzerinde yoğun olarak çalışılmıştır. Resveratrolun antikarsinojenik etki gösterdiği rapor edilmiştir. Şarapta düşük miktarlarda (kırmızı şarapta 0.3-7 mg aglikon/l ve 15 mg glikozit/l) bulunur. (Bertelli vd., 1998; Bhat ve Pezzuto, 2002; Vitrac vd., 2002).

1.6. Antibiyotikler

Antibiyotik, mikroorganizmalar tarafından üretilen doğal bir üründür. Mikroorganizmalara karşı belirgin ve seçici biyolojik aktiviteleri ve düşük toksisiteleri, zararlı mikroorganizmaları yok etmek için bazı antibiyotiklerin kullanımını mümkün kılmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı birçok antibiyotik; tüberküloz, frengi, gastrointestinal enfeksiyonlar ve çocukluk çağı bulaşıcı hastalıklar gibi sosyal ve epidemiyolojik açıdan önemli olan enfeksiyon hastalıklarıyla mücadelede pratik bir uygulama sağlamıştır. Antibiyotiklerin temel olarak mikrobiyolojik ve biyokimyasal yöntemlere dayanılarak incelenmesi, antibiyotikler ile kimyasal sentezle elde edilen benzer bileşikler arasındaki farkları ortaya koymaktadır. Bununla birlikte iki bileşik grubu arasındaki fark, doğal antibiyotiklerin kimyasal yapısının aydınlatılması ve sentetik üretim olanaklarının geliştirilmesi ile adım adım azalmaktadır. Bugüne kadar biyosentetik olarak

Üretilen 800’den fazla antibiyotiğe karşın kimyasal sentez ile üretilen sadece birkaç örnekten başarılı olunmuştur. Antibiyotiklerin sahip oldukları kimyasal yapı ve biyolojik işlev arasındaki ilişki tam anlamıyla açıklanamadığı için günümüzde yeni antibiyotiklerin üretilmesine yönelik kimyasal sentezin rasyonel planlaması imkansızdır. Organik kimya hala kimyasal yapıların antibiyotik aktivitesini aıklayamamakta hatta doğru bir şekilde tanımlayamamaktadır (Zkorzybski vd., 1967).

Antibiyotikler, modern tıbbın gelişinden daha önce kullanılmıştır. Eski Mısır’dan bu yana yaraların ve yanıkların tedavisinde filamentöz mantarların geliştiği ekmeğin kullanıldığı bilinmektedir (Peanac vd., 2013). Orta ağ’da, Çin ve Yunanistan’daki şifacılar çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için küflü metaryaller kullanmıştır. Sir John Scott Burden-Sanderson, 19. yüzyılda, kfle kaplı sıvı büyüme kültüründe bakterilerin üremediğini fark etmiştir. Joseph Lister ise 1871’de, *Penicillium glaucum*’un bakteriyel büyüme üzerindeki inhibitör etkilerini keşfetmiş ve *Penicillium glaucum* ekstraktlarını yaraların tedavisinde kullanmıştır. Aynı zamanda Louis Pasteur, bazı bakterilerin diğer bakterilerin büyümesini engelleyebileceğini fark etmiştir. Pasteur ve meslektaşı Jules François Joubert 1877’de idrar örneklerinde *Bacillus anthracis*’in gelişimini incelerken yaygın aerobik bakterilerle birlikte kültüre alındığında *Bacillus anthracis*’in inhibe edildiğini keşfetmişlerdir. Bu gelişmeler ışığında, 1889’da Jean Paul Vuillemin “antibiyozis” kelimesini “bir canlı organizma kendi varlığını sağlamak için bir diğerini öldürür.” şeklinde, biyolojik bir ilişki olarak tanımlamıştır. 1897’de Ernest Duchesne yaptığı çalışmada mikroorganizmalar, özellikle küfler arasındaki çeşitli antagonizmleri yayınlamıştır. Ernest Duchesne, Fleming’den otuz yıl önce *Escherichia coli*’nin büyümesinin *Penicillium glaucum* tarafından engellendiğini keşfetmiştir. Mikroorganizmalar arasındaki çeşitli antagonizm gözlemlerine rağmen o tarihe kadar hiçbir antimikrobiyal molekül saflaştırılmamıştır. Bulunan ilk antimikrobiyal moleküller kimyasal bileşiklerdir. Paul Ehrlich, 1909’da frengiye neden olan *Treponema pallidum*’a karşı aktif bir arsenik türevi olan arsfenamini keşfetmiştir. Bu antibiyotik 1911’de Salvarsan daha sonra Mapharsen adıyla ticarileştirilmiştir. Gerhard Domagk, 1930’da 22 yıl önce Paul Gelmo tarafından sentezlenen bir molekül olan slfanilamidin antibiyotik etkilerini keşfetmiştir. Bu antibiyotik 1935’te Protonsil adıyla pazarlanmış ve II. Dünya Savaşı sırasında askerler tarafından kullanılmıştır (Lewis, 2013).

Alexander Fleming, 1928’de tesadüfen bir mantarın *Staphylococcus*’un büyümesini önlediğini, imha etmeyi unuttuğu küflenmiş *Staphylococcus aureus* kolonilerinin olduğu

petrileri bulunca keşfetmiştir. Bu keşifle birlikte *Penicillium notatum*'dan antimikrobiyal özellik gösteren bu molekül saflaştırılmış ve penisilin olarak adlandırılmıştır. Ancak bu antibiyotiğin endüstriyel üretimi 1940 yılından itibaren *Penicillium chrysogenum* türü kullanılarak Howard Florey ve Ernst Chain tarafından gerçekleştirilmiştir (Fleming, 1945). Fleming ayrıca bir antibakteriyel enzim olan lizozimi de keşfetmiştir (Fleming, 1945). Ayrıca 1930'da René Dubos, *Streptococcus pneumoniae*'nin sentezlediği tip III kapsüler polisakkaridi spesifik olarak parçalayabilen toprak kaynaklı *Bacillus*'un ürettiği bir enzimi keşfetmiştir. Bu enzimle pnömokokal peritonit hastası fareler tedavi edilebilmiştir (Avery ve Dubos, 1930). On yıl sonra René Dubos, *Bacillus brevis*'ten, gram-pozitif bakteri türlerini yaygın olarak inhibe edebilen bir oligopeptit olan gramisidini izole etmiştir (Dubos ve Hotchkiss, 1941). Ne yazık ki gramisidin lokal tedavi haricinde insanlar için çok fazla toksisite göstermiştir (Herrell ve Heilman, 1941). ABD'de Selman Waksman, özellikle *Streptomyces* üyelerinden veya Streptomycetes'ten toprak bakterilerinin antimikrobiyal aktivitesini sistematik bir şekilde araştıran ilk kişi olmuştur. Bakteriyel türler arasındaki antagonizmaları vurgulamak için çeşitli kültür teknikleri ve stratejileri geliştirmiştir (Lewis, 2012). Waksman kendi platformunu ("Waksman platformu") kullanarak 1940'lı yıllarda aktinomisin (*Streptomyces* spp.'ten) (Avery ve Dubos, 1930), streptomisin (*Streptomyces griseus*'tan) (Dubos ve Hotchkiss, 1941), neomisin (*Streptomyces fradiae*'den) (Herrell ve Heilman, 1941), fumigasin (*Aspergillus fumigatus*'tan) ve klavasin (*Aspergillus clavatus*'tan) (Lewis, 2012) gibi farklı ana antibiyotikleri ve antifungalleri keşfetmiştir. Aktinomisin, neomisin ve streptomisin günümüzde hala kullanılmaktadır. Üstelik streptomisin tüberküloz tedavisinde devrim yapmıştır ve halen birden fazla ilaca dirençli tüberküloza karşı aktiftir (Waksman vd., 1942). İlaç endüstrisi, 1940'lar ve 1970'ler arasında mevcut tüm antibiyotiklerin keşfine yol açan Waksman platformundan esinlenmiştir. Bu altın çağda 19 bakteri türünden ve 7 mantardan 23 antibiyotik sınıfı keşfedilmiştir (Tablo 1.3.).

Tablo 1.3. Doğal antibiyotiklerin keşfi ve kaynağı (Finch vd., 2010).

İsim	Keşif Tarihi	Mikroorganizma
Penisilin	1929-40	<i>Penicillium notatum</i>
Tirotrisin (Gramisin, Trosidin)	1939	<i>Bacillus brevis</i>
Griseofulvin	1939	<i>Penicillium griseofulvum</i>
		Dierckx
	1945	<i>Penicillium janczewski</i>
Streptomisin	1944	<i>Streptomyces griseus</i>
Basitrasin	1945	<i>Bacillus licheniformis</i>
Kloroamfenikol	1947	<i>Streptomyces venezuelae</i>
Polimiksin	1947	<i>Bacillus polymyxa</i>
Framisetin	1947-53	<i>Streptomyces lavendulae</i>
Klorotetrasiklin	1948	<i>Streptomyces aureofaciens</i>
Sefalosporin C, N ve P	1948	<i>Cephalosporium</i> sp.
Neomisin	1949	<i>Streptomyces fradiae</i>
Oksitetrasiklin	1950	<i>Streptomyces rimosus</i>
Nistatin	1950	<i>Streptomyces noursei</i>
Eritromisin	1952	<i>Streptomyces erythreus</i>
Oleandomisin	1954	<i>Streptomyces antibioticus</i>
Spiramisin	1954	<i>Streptomyces ambofaciens</i>
Novobiosin	1955	<i>Streptomyces spheroides</i>
		<i>Streptomyces niveus</i>
Sikloserin	1955	<i>Streptomyces orchidaceus</i>
		<i>Streptomyces gaeryphalus</i>
Vankomisin	1956	<i>Streptomyces orientalis</i>
Rifamisin	1957	<i>Streptomyces mediterranei</i>
Kanamisin	1957	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>
Nebramisin	1958	<i>Streptomyces tenebraeus</i>
Promomisin	1959	<i>Streptomyces rimosus</i>
Fusidik asit	1960	<i>Fusidium coccineum</i>
Spektinomisin	1961-62	<i>Streptomyces flavopersicus</i>
Linkomisin	1962	<i>Streptomyces lincolnensis</i>
Gentamisin	1963	<i>Micromonospora purpurea</i>
Jozamisin	1964	<i>Streptomyces narvonensis</i>
		var. <i>josamyceticus</i>
Tobramisin	1968	<i>Streptomyces tenebraeus</i>
Ribostamisin	1970	<i>Streptomyces ribosidificus</i>
Butirosin	1970	<i>Bacillus circulans</i>
Sisomisin	1970	<i>Micromonospora myosensis</i>
Rozaromisin	1972	<i>Micromonospora rosaria</i>

1.6.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antimikrobiyal moleküller çok çeşitli kimyasal bileşiklerle temsil edilir. Çoğu zaman bunlar, doğal ürünler ve sekonder metabolitlerdir (Macielag, 2012). İnsan tıbbında kullanılan antimikrobiyal maddelerin sahip oldukları farklı beş grup kimyasal molekül yapısına dayanılarak sınıflandırılması mümkündür. Birincisi, ribozomal olarak sentezlenmemiş (ribozomal olarak sentezlenmemiş peptitler, NRP) türetilmiş amino

asitlerdir. İkincisi, türetilen asetil koenzim A veya malonil koenzim A'dır (poliketidler, PK). İlk iki gruba oluşturan NRP ve PK mevcut tüm antibiyotiklerin yaklaşık %50'sini temsil etmektedir (Tablo 1.4.). Üçüncüsü, NRP ve PK arasındaki melezlerdir ve dördüncü, amin grupları (aminoglikozitler) ile ikame edilmiş birkaç karbonhidrat biriminden oluşur. Son olarak terpenoidler, fusidik asit veya metronidazol türü alkaloidler gibi çeşitli moleküllerden oluşur. Antibiyotik olarak kullanılan bu moleküllere ek olarak kaynağı böcekler, memeliler, bitkiler veya amfibiler olan binlerce antimikrobiyal peptit bilinmektedir (Brown vd., 2014). Bu peptitler genellikle doğal ürünlerden oluşan bir alt grup olan RiPP (ribozomal olarak sentezlenmiş ve translasyon sonrası modifiye edilmiş peptitler) olarak sınıflandırılırlar (East ve Silver, 2013).

Antibiyotiklerin doğru sistematığının yapılabilmesi çabası, penisilinin tesadüfi keşfinden sonra 1940 ve 1962 yılları arasında mikrobiyal ekstrelerin taranmasıyla bir dizi doğal antibiyotiğin keşfiyle ortaya çıkmıştır (Singh ve Barrett, 2006). Bu, 2000 yılından sonra onaylanan iki yeni antibiyotik sınıf dışında, antibiyotik haline gelen veya günümüzün antibiyotik boru hattını destekleyen sonraki nesil antibiyotiklerin keşfi ve gelişimi için kimyasal iskeleler olarak görev yapan kimyasal yapıların çoğunun belirlenmesine yol açmıştır. (Silver, 2011). Klinik antibiyotiklerin ana yapısal sınıfları ve ana sınıfların genel etkisi Tablo 1.4'te kısaca özetlenmiştir.

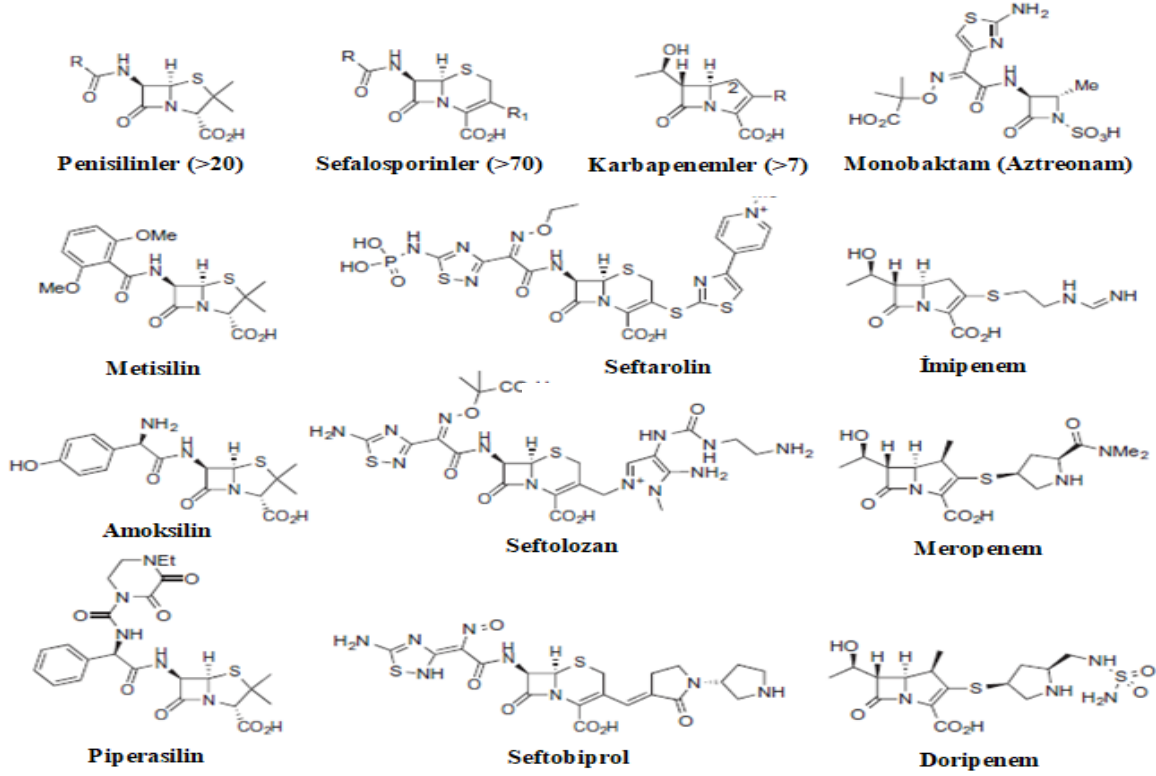
Tablo 1.4. Sistemik tedavide kullanılan başlıca antibakteriyeller (Singh vd., 2017).

İlaç sınıfı	Önek	Hedef	Engellediği yolak	Spektrum
β -Laktamlar	Meropenem, amoksilin	Birçok PBP	Hücre duvarı sentezi	Geniş spektrum
Glikopeptitler	Vankomisin	Lipit II	Hücre duvarı sentezi	Gram-pozitif
Makrolitler	Eritromisin, azitromisin	Ribozomun 50S RNA'sı	Protein sentezi	Gram-pozitif
Oksazolidonlar	Linezolid	Ribozomun 50S RNA'sı	Protein sentezi	Gram-pozitif
Amfenikoller	Kloroamfenikol	Ribozomun 50S RNA'sı	Protein sentezi	Geniş spektrum
Linkozamidler	Klindamisin	Ribozomun 50S RNA'sı	Protein sentezi	Gram-pozitif
Tetrasiklinler	Doksisiklin, tigesiklin	Ribozomun 30S RNA'sı	Protein sentezi	Geniş spektrum
Aminoglikozitler	Gentamisin, amikasin	Ribozomun 30S RNA'sı	Protein sentezi	Geniş spektrum
Florokinolonlar	Levofloksasin, moksifloksasin	Giraz, topoizomerez IV	DNA sentezi	Geniş spektrum
Nitroimidazoller	Metronidazol	DNA	DNA sentezi	Geniş spektrum
Lipopeptitler	Daptomisin	Zarlar	Zar bütünlüğü	Gram-pozitif
Polimiksinler	Kolistin	Zarlar	Zar bütünlüğü	Gram-negatif

1.6.1.1. β -Laktam Antibiyotikler

Başlıca β -laktam antibiyotikler; penisilin, sefalosporin, karbapenem ve monobaktamlar olmak üzere dört sınıf ile temsil edilmektedir (Şekil 1.3.). Monobaktamlar haricinde bu antibiyotikler, bir β -laktam halkasına yapışık ikinci halkaya sahip bir bisiklik kaynaşmış halka sisteminden oluşmaktadır. Penisilinler beş üyeli ikinci halkada sülfür, sefalosporinler altı üyeli ikinci halkada sülfür ve karbapenemler beş üyeli ikinci halkada bir karbon içermektedirler. Monobaktamlar ikinci bir halka içermez. β -Laktam antibiyotikler, peptidoglikanı sentezleyen ve yeniden şekillendiren bir dizi enzimi, penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP'ler) bağlanarak inhibe edip hücre duvarı sentezini

dolayısıyla bakteriyel büyümeyi engellemektedir. Bunlar, geniş spektrumlu ve oldukça etkili antibiyotiklerdir (Page, 2012).



Şekil 1.3. β-laktam antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singh vd., 2017).

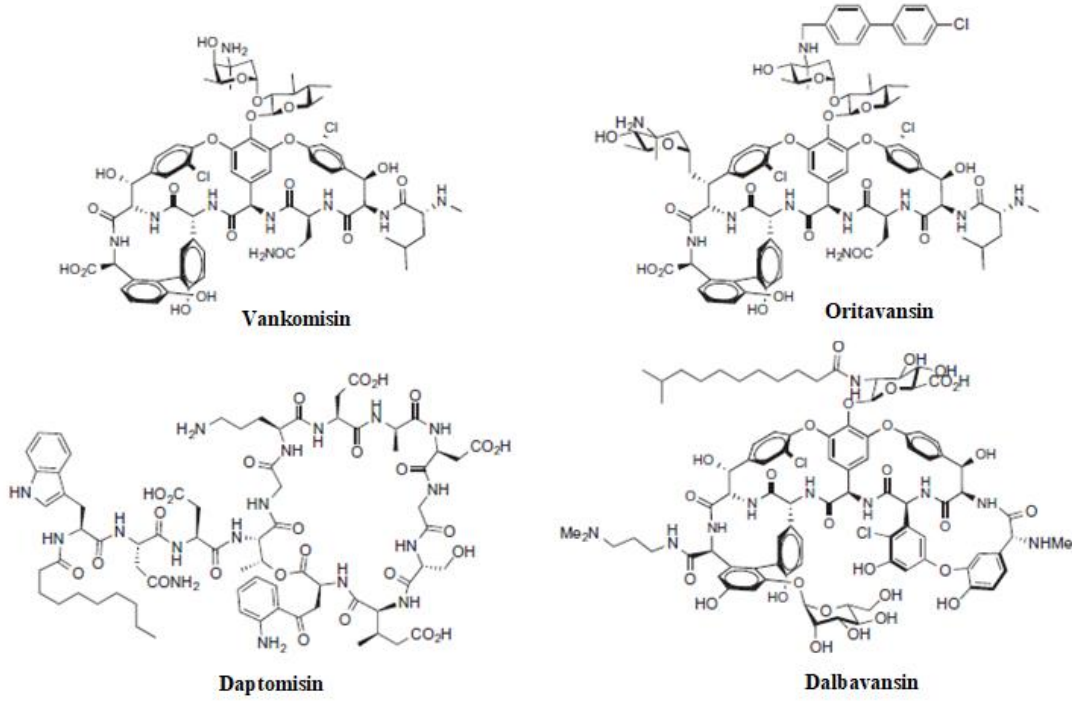
Penisilin sınıfındaki antibiyotiklerin radikal grubunun ardışık ve sistematik yapısal çeşitliliği metisilin, amoksisilin ve piperasilin dahil olmak üzere klinik olarak yararlı 20’den fazla antibiyotiğin gelişmesine yol açmıştır (Şekil 1.3.) (Page, 2012).

1.6.1.2. Glikopeptitler

Glikopeptit antibiyotikler, bir peptit iskeleyle sahip oldukları ve glikozile oldukları için gevşek bir şekilde birleşmiş forma sahip büyük bir antibakteriyel madde sınıfını oluşturmaktadır (Nicolaou vd., 1999).

Vankomisin, glikopeptit antibiyotik sınıfına ait (Şekil 1.4.), bakteriyel hücre duvarının peptidoglikan zincirinin bir öncüsü olan Lipit II’nin d-alanin-d-alanin terminal dipeptidine bağlanarak hücre duvarı sentezini önleyen doğal bir antibiyotiktir (Arhin vd., 2012). Metisiline duyarlı ve ayrıca metisiline dirençli *S. aureus* ve diğer gram-pozitif

enfeksiyonların hastanede tedavi edilmesinde kullanılan etkili geniş spektrumlu bir gram-pozitif ajandır (Arhin vd., 2012).



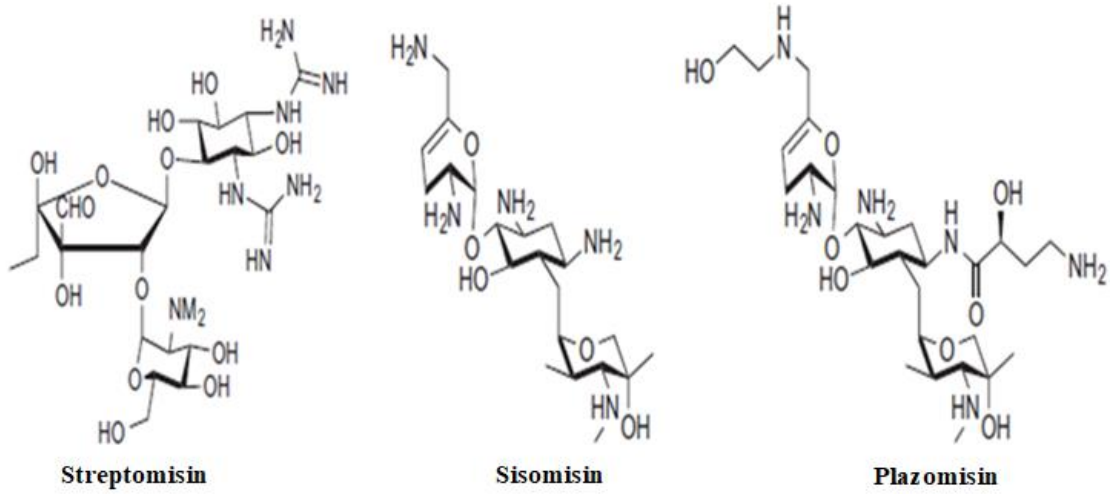
Şekil 1.4. Bazı glikopeptitlerin ve lipopeptit antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singha, 2017).

1.6.1.3. Lipopeptitler

Daptomisin (Şekil 1.4.) doğal bir lipopeptittir. Bu, yeni bir etki şekli nedeniyle klinik olarak kullanılan diğer antibakteriyel ajanlardan herhangi birine çapraz direnç göstermeyen güçlü, geniş spektrumlu ve hızlı bakterisit olan gram-pozitif bir maddedir. Mekanik olarak daptomisin hücre zarına sokulmakta, bu da depolarizasyona ve hücre zarında deliklerin oluşmasına neden olmaktadır. Sonuçta hücre zarından iyon sızıntısına, hücre zarının bozulmasına / kopmasına ve bakteriyel ölüme neden olmaktadır. Daptomisin, MRSA ve VRE (Vankomisin dirençli Enterokoklar) suşları dahil olmak üzere nozokomiyal gram-pozitif enfeksiyonların tedavisi için oldukça başarılı bir intravenöz antibiyotiktir (Vilhena ve Bettencourt, 2012).

1.6.1.4. Aminoglikozitler

Aminoglikozitler bakteriyel ribozoma bağlanarak ve normal protein sentezini inhibe ederek bakterileri öldürmektedir. Spesifik olarak bakteriyel 30S ribozomal alt birimin 16S ribozomal RNA'sının (ribo nükleik asit) yüksek ölçüde korunmuş A bölgesine (transfer RNA alıcı alanı) sıkı bir şekilde bağlanmaktadır (Brown ve Wright, 2016). Streptomisin, antibiyotik keşfinin altın çağında keşfedilmiş ilk aminoglikozit üyesidir (Şekil 1.5.).

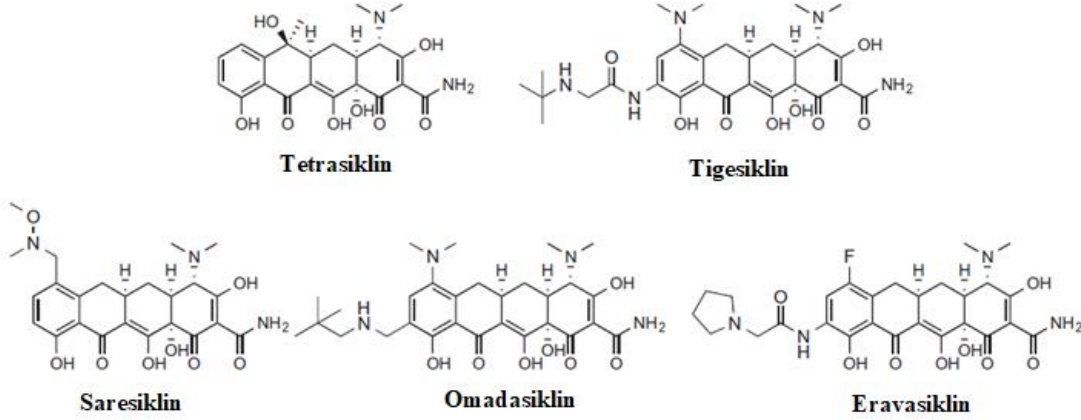


Şekil 1.5. Bazı aminoglikozit antibiyotiklerin kimyasal yapısı (Singha vd., 2017).

Geniş spektrumlu aktiviteleri nedeniyle hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterilerin tedavisi için klinik pratikte bu antibiyotik ailesinin 8'den fazla üyesi kullanılmıştır (Armstrong vd., 2012). Geçmişte klinikte aminoglikozitler kullanılmıştır ancak sadece direnç gelişmesiyle değil tersinir nefrotoksisite ve geri dönüşümsüz ototoksisite nedeniyle de kullanımları terkedilmiştir (Pucci ve Bush, 2013).

1.6.1.5. Tetrasiklinler

Tetrasiklinler (Şekil 1.6.) geniş spektrumlu antibiyotiklerin bir başka eski sınıfıdır. Bu sınıfa üye antibiyotiklerin on tanesi 60 yıldan uzun süredir klinik uygulamalarda kullanılmaktadır (Bradford ve Jones, 2012). Yarım yüzyıldan uzun bir süredir tetrasiklin antibiyotikler enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Penisilin ve streptomisini takiben en erken piyasaya sürülebilecek olan antibiyotiklerden biri olarak ve uygun oral dozları nedeniyle tetrasiklinler, klinikte hızla geniş bir kullanıma ulaşmıştır.

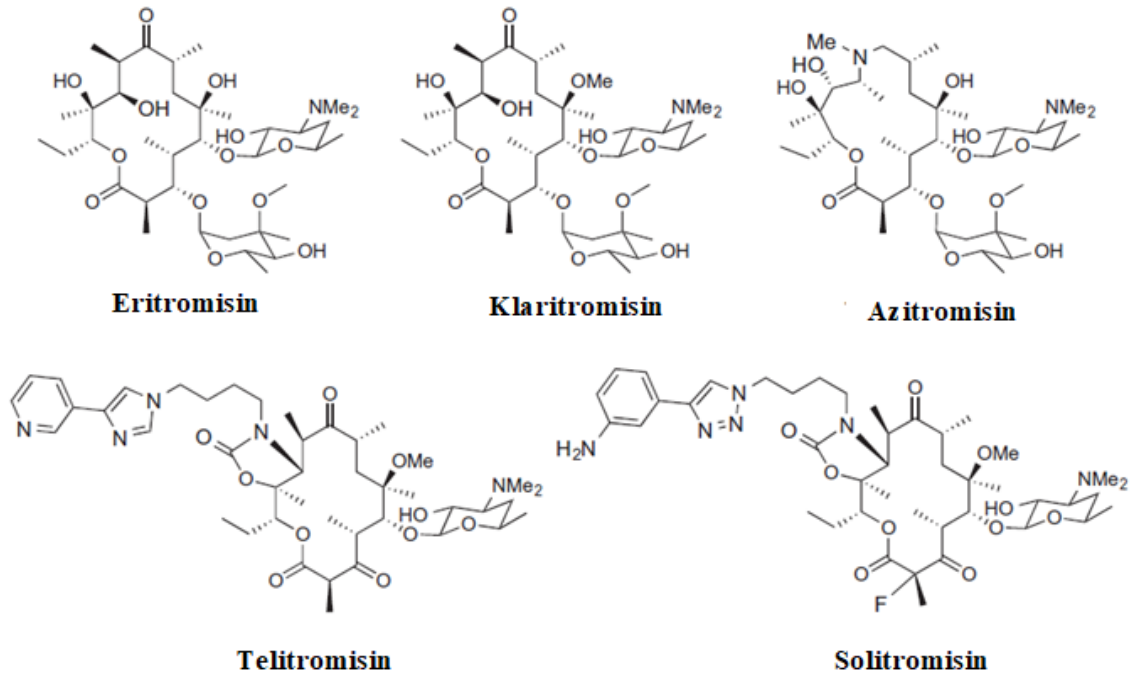


Şekil 1.6. Bazı tetrasiklin antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singha vd., 2017).

Ne yazık ki klinik uygulamada ve tarımdaki yaygın kullanım, en sonunda tüm tetrasiklin antibiyotik ailesinin klinik kullanımını sınırlandıran yaygın bakteriyel direnç ile sonuçlanmıştır (Shlaes, 2006). Tetrasiklinler, protein sentezini inhibe ederek bakteriyel büyümeyi engellemektedir. Genel olarak bakteri 30S ribozomal alt ünitesine bağlanır ve ribozomal A bölgesine aminoasıl-t RNA bağlanmasını engellemekte ve böylece büyüyen polipeptit zincirine amino asitlerin eklenmesini önlemektedir (Bryskier, 2005). Tetrasikline özgü efluks (dışa akış) pompaları ve ribozom koruma mekanizmalarının sentezlenmesinden kaynaklanan bu sınıfa özgü dirençler tetrasiklinlerin etkinliğini azaltmıştır (Bradford ve Jones, 2012).

1.6.1.6. Makrolitler

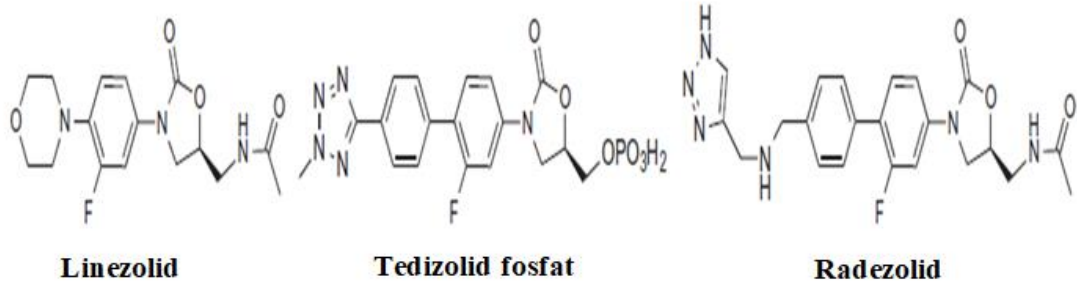
Makrolitler (Şekil 1.7.) solunum yolu enfeksiyonlarının oral yoldan tedavisi için elli yıldan uzun süredir klinik olarak kullanılmaktadır (Xu vd., 2012). Bakteriyel 50S ribozomal alt ünitenin 23S rRNA'sına (ribozomal RNA) bağlanarak protein sentezini inhibe etmektedir (Chellat vd., 2016). Makrolit sınıfına ait 14'ten fazla üye klinik kullanımdadır ve makrolit ailesinin üç önemli üyesi olan eritromisin, klaritromisin ve azitromisin (Şekil 1.7.), solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kritik rol oynamaktadır (Xu vd., 2012). Ancak *S. pneumoniae*'de makrolit direncinin gelişmesi nedeniyle kullanımları güçleşmektedir (Pucci ve Bush, 2013).



Şekil 1.7. Bazı tetrasiklin antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singha vd., 2017).

1.6.1.7. Oksazolidinonlar

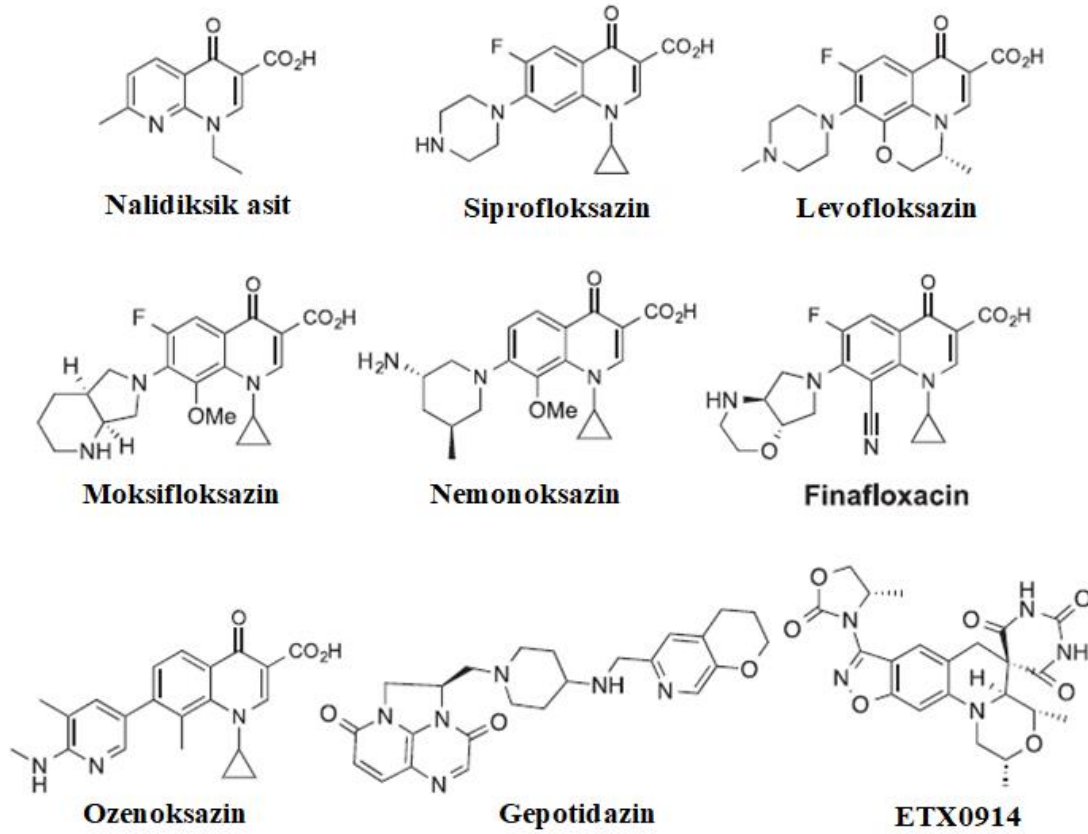
Oksazolidinonlar, 2000’de FDA tarafından onaylanan ilk oksazolidinon olan linezolid ile temsil edilen en yeni sentetik antibakteriyel ajan sınıfıdır (Şekil 1.8.). 2014 yılında onaylanan tedizolid ise ikinci oksazolidinon üyesidir (Butler vd., 2017; Barbachyn, 2012). Linezolid, MRSA enfeksiyonlarına karşı etkinlik gösteren geniş spektrumlu gram pozitif bir antibiyotiktir. Bakteri 50S ribozomal alt ünitenin 23S rRNA’sına bağlanarak protein sentezini durduran bir inhibitördür (Chellat vd., 2016). Tehlikeli gram-pozitif enfeksiyonların tedavisinde etkilidir. Bakterilerde yaygın olmamakla birlikte linezolid direnci oluşmaktadır. Bununla birlikte linezolidin kullanımı, memeli mitokondriyal protein sentezinin inhibisyonundan kaynaklanan tersinir miyelosüpresyona neden olmaktadır ve bundan dolayı kullanımı kısa süreli tedavi (2 haftadan az) ile sınırlıdır (Locke, 2014).



Şekil 1.8. Oksazolidinon antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singha vd., 2017).

1.6.1.8. Kinolonlar

Kinolon hedefleri, bakteriyel kromozomun topolojisini kontrol eden ve böylelikle DNA replikasyonunu, rekombinasyonunu ve transkripsiyonunu kolaylaştıran temel bakteriyel enzimler olan DNA giraz ve DNA topoizomeraz IV'tür (Gellert, Mizuuchi vd., 1976; Gellert, O'Dea vd., 1976; Drlica ve Zhao, 1997; Kato vd., 1990). Her iki enzim, iki çift aynı alt birimden oluşan büyük, karmaşık tetramerlerdir. Nalidiksik asit ile örneklendirebileceğimiz kinolonlar (Şekil 1.9.), 35 yılı aşkın bir süredir bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan sentetik bir antibiyotik sınıfıdır (Jacoby ve Hooper, 2012). Klinik kullanım için 30'dan fazla kinolon onaylanmıştır. En yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu florokinolonlar, siprofloksasin ve levofloksasin'dir (Şekil 1.9.). Kinolonlar bakterisittir ve bakteriyel DNA'nın sentezinde görevli olan enzimler, DNA giraz ve topoizomeraz IV'ü inhibe ederek bakteriyel büyümeyi engellemektedir (Jacoby ve Hooper, 2012).



Şekil 1.9. Bazı kinolon ve kinolon olmayan DNA topoizomerez II inhibitörü antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Singha vd., 2017).

1.7. Antibiyotik Direnci

Dünya Sağlık Örgütü, son on yılda ulaşılan antibiyotik direncinin, küresel sağlığa ciddi bir tehdit oluşturduğunu düşünmektedir (WHO, 2014). Gelişen bu antibiyotik dirençli bakteriler, dünya çapında her yıl 700.000'den fazla ölüme neden olmaktadır (O'Neill, 2014). Büyümekte olan bu yakın tehdit karşısında devlet kurumlarına, uluslararası organizasyonlara, akademik çevrelere ve gıda sanayi sektörlerine ait paydaşlar, antimikrobiyal ajanlara dirençli enfeksiyonların giderek artan salgınlarıyla mücadele etmeyi taahhüt etmektedir (Roca vd., 2015). Bu konudaki ilerleme; hayvan ve insan sağlığı, tarım, gıda ve çevre üzerinde kesişen konuların farklı sektörlerden paydaşların iyi koordine edilmiş ortak çalışmalarına bağlıdır (O'Neill, 2014; O'Neill, 2015).

Antibiyotiklerin bulaşıcı hastalıklara karşı terapötik olarak kullanılmaya başlanmasından bu yana mikroorganizmalar, antibakteriyel ajanlara karşı sürekli bir şekilde onları koruyan savunma araçları geliştirmiştir. Terapötik dozlarda antibiyotik

ajanlara karşı gelişen bu direncin oranı, antibiyotiklerin kimyasal kompleksliğine ve bakterinin genetik materyaline bağlıdır. Şu anda kullanılan antibiyotik ne olursa olsun, onlara karşı direnç gösteren çeşitli bakteri türleri vardır. Penisilin G'ye (benzilpenisilin) dirençli *Streptococcus pyogenes* suşlarının eksikliği gibi birkaç istisna mevcuttur. Ancak 1947'de laboratuvar şartlarında Penisilin G'ye de dirençli *S. pyogenes* elde edilmiştir (Gezon, 1948).

Antimikrobiyal direnç, mikroorganizmaların ilk başta duyarlı oldukları bir antimikrobiyal ajana karşı daha sonra direnç göstermeleri olarak tanımlanmaktadır. Bu doğal evrimsel fenomen, antimikrobiyal ilaçların yanlış uygulanması ve antimikrobiyal direncin küresel yayılımıyla birlikte antibiyotik dirençli bakterileri doğurmuştur (Zerouali vd., 2014). Antibiyotik direnci, esas olarak antibiyotiklerin tarımda, hayvan ve insan tıbbında aşırı ve bilinçsiz kullanımından dolayı küresel ölçekte önemli bir sorun olarak kabul edilmektedir. Bu sorun; insan ve hayvan sağlığını, gıda güvenliğini tehdit etmekte ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Caniça vd., 2018). Antimikrobiyal direnç, tüm ülkelerin halk sağlığı sektörlerine yüksek maliyetler getirmektedir ve birçok araştırmacı antibiyotik direncini daha iyi aydınlatmak ve onu aşmanın yollarını bulmak için araştırmalara katılmaktadır. Son yıllarda antibiyotiklerin büyük bir kısmı direnç tehdidiyle karşı karşıya kalmıştır ve bu direnç, birçok farklı şekilde meydana gelip aktarılmaktadır (Zerouali vd., 2014).

Gelişen bu direnç olgusu yatay gen aktarımı vasıtasıyla patojenlerin direnç mekanizmalarını paylaşmalarına izin vermektedir. Buna, transpozonlar üzerinde taşınan mobil integronlar örnek olarak verilebilir. Sadece bir antibiyotiğe dirençli herhangi bir organizma için birkaç antibiyotik direnç kaseti taşıyan bir transpozonun kazanılması, o organizmanın çok sayıda başka antibiyotiğe karşı direnç göstermesini sağlamaktadır (Soe vd., 2015). Sıkça görülen diğer doğal direnç olgusu ise bakteri çoğaldıkça dikey olarak yayılan kromozomal genler içinde meydana gelen doğal mutasyonlardır (Perencevich vd., 2014; Wang vd., 2015).

Bahsedilen bu iki olgunun haricinde diğer durumlarda içsel direnç meydana gelir ki bu, dirençli bir fenotip üretebilecek bakteriyel genomlardaki genlerin varlığını ifade etmektedir. Bakterilerdeki ek genetik materyallerin herhangi biri dirençli genleri elde edebilme ve bunları aktarabilme yeteneğine sahiptir ve bu elde edilen ek genetik materyalin tipi patojenin cinsine göre değişmektedir. Bu konuda gram pozitif ve gram negatif bakteriler arasında belirgin farklar olduğu zaten bilinmektedir (Jevons, 1961).

Antibiyotiklere karşı gelişen bakteriyel direnç, antibiyotik döneminin başlangıcı kadar erken dönemde belgelenmiştir. Son 20 yıl boyunca ve hali hazırda tehlikeli ve dirençli suşların gelişimi kaygı verici bir düzenlilikle yaşanmaktadır. Son 20 yılda gelişen bu bakteriyel direnç trendinin asıl sebebi, son zamanlarda dünya çapında yapılan daha sıkı kontrol ve uyarılara rağmen, aşırı ve bilinçsiz kullanımla sonuçlanan antibiyotik kullanımı hakkındaki toplumsal bilinç eksikliğinin olmasıdır (Das vd., 2013; Pasberg-Gauhl, 2014).

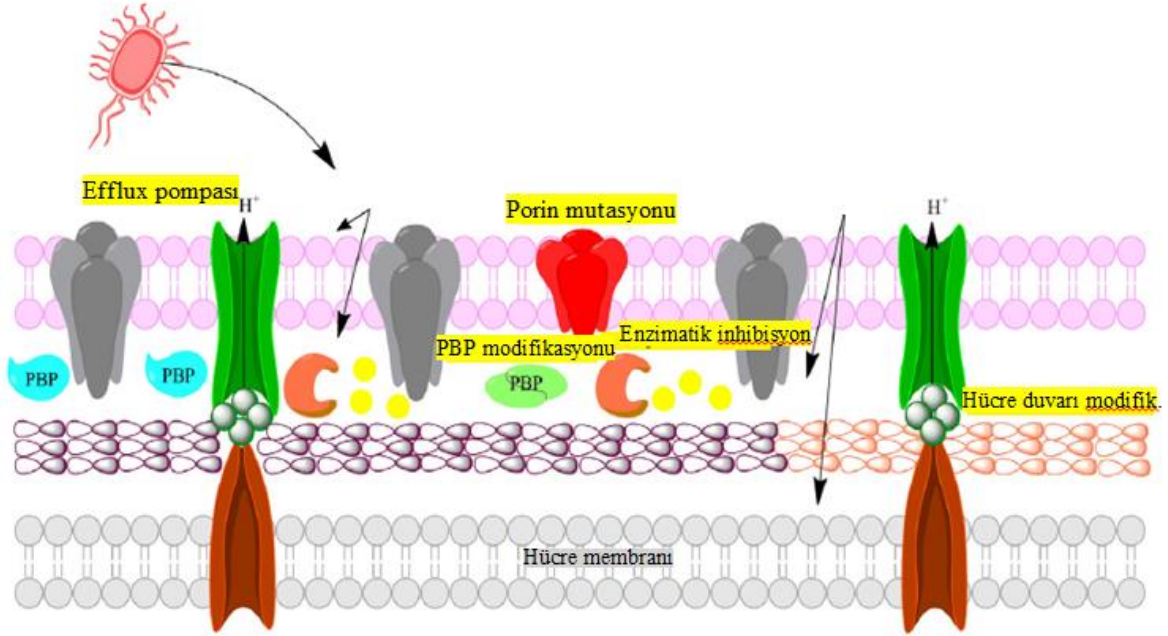
Kuşkusuz kişiye özel tedavi, etkili bir tedavinin kalitesini etkilemektedir. Ayrıca bir tıp uzmanı tarafından konulan doğru tanı, son doz antimikrobiyallerin kullanılmasını önler. Antibiyotiklerin insan kullanımı (ve bilinçsiz kullanımı), bakteriler üzerinde hızlandırılmış evrimsel süreçleri tercih etmelerine neden olan doğal olmayan selektif bir baskı uygulamaktadır. Ayrıca ortaya çıkan antibakteriyel bileşikler ve koşullar ilave selektif baskılar sunabilmektedir. Elbette antibiyotiklerin birçoğu tüm ortamlarda doğal olarak yetişen mantar ve bakteri suşlarından üretilmektedir. Antibiyotik üreten türlerin çoğu ürettikleri antibiyotiklere karşı direnci şifreleyen genleri taşımaktadır ve bu genler tipik olarak antibiyotik biyosentez yolağında görevli genlerle aynı gen kümesinde bulunmaktadır (Cordova-Guerrero vd., 2014). İlave olarak aynı çevrede mikroorganizmalar tarafından üretilen antibiyotikler komşu organizmalar üzerinde selektif baskı uygulayabilmektedir (Haaber vd., 2015).

Diğer bir problem ise hayvan beslenmesinde kullanılan ürünlerde antibiyotik kullanımından kaynaklanmaktadır ve bu durum, antibiyotik tedavisi gerektiren evcil hayvanlarda enfeksiyona neden olan patojen mikroorganizmalarda antibiyotik direncin yayılımına neden olmaktadır (Das vd., 2013; Diekema, 2001). Ayrıca antibiyotikler, çiftlik hayvanlarında profilaktik amaçlarla, su ürünleri yetiştiriciliği ve bahçecilikte daha geniş ve daha az hedefli muameleler için kullanılmaktadır (Kouegnigan Rerambiah vd., 2014). Dolayısıyla antibiyotiklerin bu kullanımı antibiyotik direnç gelişimine sebebiyet vermektedir.

1.7.1. Antibakteriyel Direnç Mekanizmaları

Bakterilerde pek çok direnç mekanizması vardır. Bunlardan en sık gözlenen beş mekanizma; enzimatik inhibisyon, PBP (penisilin bağlayıcı protein) modifikasyonları, porin mutasyonları, akış pompaları ve hedef değişiklikleridir ve klinik izolatlarda yüksek

prevalans göstermektedir (Zheng vd., 2014; Morelli vd., 2015). Bu beş direnç mekanizması Şekil 1.10'da şematize edilmiştir.



Geliştirilmiş akış pompaları, porin mutasyonu, PBP'deki (penisilin bağlayıcı proteinler) mutasyon, enzimatik inhibisyon ve ilacın hedef modifikasyonu (Bakteriyel hücre duvarının modifikasyonu ile gösterilen)

Şekil 1.10. Gram negatif bakterilerde en yaygın bakteriyel direnç mekanizmaları (de Sousa Oliveira vd., 2016).

1.7.1.1. Enzimatik İnhibisyon

Bakterilerde meydana gelen en yaygın direnç mekanizması enzimatik inhibisyonudur. Bu mekanizma, antibakteriyel bileşiklerin yapısını değiştirmek için çeşitli stratejilere dayanmaktadır. Esas olarak β -laktam ajanları ile oluşan bir reaksiyon türü olan hidrolizle; aminoglikozit, kloramfenikol, rifamisin ve linkozamid gibi birçok antibakteriyelin fonksiyonel gruplarının (açıl, fosforil, tiyol, nükleotidil, ADP-ribozil, glikozil) transferi ve tetrasiklin, rifamisin ve streptogramin ile meydana gelen diğer kimyasal modifikasyonlar (redoks, liyaz) yoluyla gerçekleşen enzimatik inhibisyonlar örnek verilebilir (Zheng vd., 2014; Levy vd., 2003).

Antibakteriyel bileşikleri değiştirerek inhibe edebilen çok sayıda enzim arasında β -laktamazlar gram negatif bakterilerin tedavisinde önemli bir sorundur (Sasan vd., 2014; Gorwitz vd., 2008).

Bunlar, penisiline karşı direnç kazandıran penisilinazları ve AmpC sefalosporinazları içermektedir ve ayrıca klinik β -laktamaz inhibitörlerini (ör., klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam) önleyebilmekte, penisilinleri ve birçok sefalosporini hidrolize edebilmektedir. Ayrıca penisilinleri ve tüm sefalosporinleri hidrolize edebilen genişletilmiş β -laktamazları (örneğin, SHV-1, TEM-1, TEM-2, CTX-Ms ve diğerleri) da içermektedir. Bu enzim grubu; penisilinlere, sefotaksim ve seftazidim dahil olmak üzere tüm sefalosporinlere karşı direnç sağlamaktadır. Dahası birçok TEM ve SHV üreticisi bakteri; tetrasiklinlere, sülfonamidlere ve aminoglikozitlere karşı eş direnç sergilemektedir. CTX-M üreticilerinin çoğunluğu aynı zamanda florokinolonlara karşı da dirençlidir. Son olarak aztreonam hariç tüm β -laktam ajanlarını etkisiz hale getirebilen enzimler olan karbapenemazlar (örneğin IMP ailesi, VIM ailesi, KPC'ler, OXA'lar ve diğerleri); metalo- β -laktamaz (sınıf B) ve serin karbapenemazlar (sınıf A ve D) olarak üç sınıfa ayrılmıştır (Gorwitz vd., 2008; Zacharioudakis vd., 2014).

Gram pozitif bakterilerde β -laktamazlar gerçek bir problem oluşturmaz. Sadece penisilinlere karşı direnç kazandıran penisilinazlar dikkate değerdir (Arfken vd., 2015). Sefalosporinler ve vankomisin gibi son satır antimikrobiyallere karşı direnç sağlaması nedeniyle yeni PBP'lerin (PBP2a, PBP20 mutasyonu / enterokok PBP4 veya PBP5'in aşırı ekspresyonu) edinilmesi ve hücre duvarı modifikasyonu (arttırılmış kalınlık ve modifiye peptidoglikan hedefi (d-Ala-d-Lac veya d-Ala-d-Ser depsipeptidleri)) gibi mekanizmalar daha fazla dikkat edilmesi gereken mekanizmalardır (Lu vd., 2013; Arfken vd., 2015; Jang vd., 2014).

1.7.1.2. PBP Modifikasyonları

PBP'ler, bakteri hücre duvarlarının ana bileşeni olan peptidoglikanın yapımında rol oynayan önemli proteinlerdir (Parsons vd., 2015). Bu enzimler, glikan zincirini (transglikosilasyon) ve glikan zincirleri (transpeptidasyon) arasındaki çapraz bağları katalize emektedir (Parsons vd., 2015; Rheinwald vd., 2015). Bununla birlikte B PBP'ler ve düşük moleküler kütleli PBP'ler gibi bazı PBP sınıfları transglikosilasyon aktivitesine sahip değildir (Rheinwald vd., 2015; Moker vd., 2010).

Bakteri hücre duvarının transpeptidaz aktif bölgesi β -laktam ajanların hedefidir (Lewis, 2005). Bu proteinler, peptidoglikan içindeki D-Ala-D-Ala dipeptidi taklit etmekte

ve enzimin inaktivasyonuna yol açan çok kararlı bir açıl-enzim kompleksi oluşturmaktadır (Lewis, 2005; Lewis, 2008).

Farklı modifiye edilmiş PBP'ler arasında, penisilinlere direnç sağlayan PBP4 ve PBP5 de vardır ve bunlar yüksek prevalansa sahiptir. Ayrıca penisilinlere ve diğer β -laktamlara karşı kararsız direnç sağlamaktan sorumlu olan ve her ikisi de kromozomal kökenli olan PBP2x ve PBP1a modifiye PBP'lere örnek verilebilir (Arfken vd., 2015). Ancak en endişe verici olanı, penisilin ve sefalosporinlere direnç sağlayan modifiye bir protein olan PBP2a'dır (PBP2' olarak da bilinir). Bu protein, mecA geninin ve bütün plazmit kökenli homolog genler olan mecB ve mecC'nin ürünüdür (Uhlemann vd., 2011). Bu modifiye edilmiş PBP'ler aktif bölgeyi değiştirerek β -laktam ajanlarının hedef proteine olan afinitelerini kaybetmelerine veya afinitelerinin azalmasına neden olarak bakteriyel direnci arttırmaktadır (Uhlemann vd., 2011; Fritz vd., 2014).

1.7.1.3. Porin Modifikasyonları

Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının dış yüzeyine yerleşmiş iki lipit tabakasından oluşan bir dış zar vardır. Bu çift katlı lipit tabakasının ana bileşeni lipopolisakarittir ve hidrofobikliği nedeniyle hidrofilik bileşiklerin geçişi çok zordur. Bu nedenle çift katlı lipit membran boyunca hidrofilik maddelerin geçişine yardımcı olan proteinler olan porinler veya Omps (dış zar porinleri) bu geçiş için gerekmektedir (Posada vd., 2014; Dibah vd., 2014). Yük, şekil ve büyüklük gibi pek çok faktör ilacın porinlerden geçebilme yeteneğini etkilemektedir (Dibah vd., 2014).

OmpF, OmpC ve OmpE gibi bazı tipik porin örnekleri vardır (Conceicao vd., 2014). Her bakteri türü spesifik porinler üretmekte ve bir veya daha fazla Omp'nin kaybı veya bozulması, antibakteriyel direnç kazanmada yaygın görülen bir faktördür [Örneğin, *P. aeruginosa*'daki OprD'nin kaybı, imipenem ve meropenem direnç sağlar; diğer türlerde, OmpF kaybı MDR (çoklu ilaca dirençli) organizmalara neden olabilir.] (Conceicao vd., 2014; Diawara vd., 2014). Bu fenomen, hidrofilik antimikrobiyallere karşı minimum inhibitör konsantrasyonlarında bir artışa neden olmaktadır ve klinik uygulamada terapötik antibakteriyel seçeneklerini azaltmaktadır (Conceicao vd., 2014; Diawara vd., 2014; Concepcion Porrero vd., 2014).

β -laktam ajanlarına düşük duyarlılık veren *P. aeruginosa*'daki gibi porin üretimindeki azalma bazı bakterilerin karakteristiğidir (Concepcion Porrero vd., 2014).

Bazı suşlarda, bu proteinlere karşı antibakteriyellerin daha sonra dış zarı aşma ve hücreye girme kabiliyetlerini kaybetmelerine neden olan afinite azalması veya kaybını teşvik eden porin değişimini gözlemlemek mümkündür (Antibiyotik tedavisi gören bir hastadan izole edilen *Klebsiella pneumoniae*'deki OmpK35 ile OmpK36'le örneklendirilebilir.) (Diawara vd., 2014; Concepcion Porrero vd., 2014).

Birçok çalışma, uzun süre antibiyotik kullanımının neden olduğu selektif baskının MDR bakterilerinin ortaya çıkmasında önemli bir faktör olduğunu ve porin modifikasyonunun bu süreçte önemli bir etken olduğunu göstermiştir (Diawara vd., 2014; Concepcion Porrero vd., 2014). En yaygın görülen bakteriyel direnç mekanizmaları, sonradan antibiyotiğin hücreye girmesini engelleyen azalan porin ekspresyonuyla ve mutasyonuyla ilişkilidir (Concepcion Porrero vd., 2014).

1.7.1.4. Efluks Pompaları

Antibiyotiklerin hücre içinden aktif taşıma ile hücre dışına çıkarılmasını gerçekleştiren proton-bağımlı bir sistem ile çalışan efluks pompası yüksek verimli bir direnç mekanizmasıdır (Lu vd., 2013). Başlıca kolaylaştırıcılar (MF'ler), küçük çoklu ilaç direnci (SMR), direnç nodülasyon hücre bölünmesi (RND), ATP bağlama kaseti (ABC) ve çoklu ilaç ve toksik bileşik ekstrüzyonu (MATE) dahil olmak üzere beş tane zarı boydan boya kateden eflux protein ailesi vardır (Seyedmonir vd., 2015). Gram pozitif bakterilerde antibiyotiklerin hücre dışına atılımı genellikle tek bir sitoplazmik membran yerleşimli MF, SMR veya ABC ailelerinin taşıyıcıları tarafından yapılmaktadır. Öte yandan, gram negatif bakterilerdeki bu direnç mekanizması bir dış zarın varlığı nedeniyle daha karmaşıktır (Gomez vd., 2015).

MF ailesi, birçok maddenin antiport, simport veya uniportunda görev alan, 12-14 transmembran domainli (TMD'ler) membran taşıma proteinlerinden oluşmaktadır (Luddeke vd., 2015; Scheurer vd., 2015). MF ve SMR ailesi taşıyıcılarının, ilaçların dışa atımı için gerekli olan itme kuvvetini H^+ 'in hücre zarı üzerindeki elektrokimyasal potansiyeli kaynaklı olduğu sanılmaktadır (Luddeke vd., 2015).

Bu aileye ait tüm üyeler üç korunmuş motife sahiptir; substratın sitoplazmaya geçişini kontrol eden sitoplazmik bir kapı görevi gören motif A, enerji eşleşmesinde yer alan motif B ve boş substrat bağlama bölgesinin oryantasyonunu belirleyen ve böylece taşıma yönünü yöneten motif C (Scheurer vd., 2015).

SMR taşıyıcıları 100-140 amino asit büyüklüğüne sahiptir ve diğer proton bağımlı taşıyıcılara kıyasla SMR'ler daha küçüktür. SMR'lerin yapısal analizi, esnek hidrofilik bölümlerle birbirine bağlanan dört transmembran hidrofobik domaine sahip olduğunu göstermektedir (Williams vd., 2015; Diederer vd., 2015). Bu, bir elektrokimyasal proton gradyanı vasıtasıyla ilaç akışı sağlayan diğer lipofilik katyonların yanı sıra çeşitli kuaterner amonyum bileşiklerine karşı da direnç sağlamaktadır (Ansari vd., 2014).

Gram negatif bakterilerde üç parçadan oluşan RND sınıfı, direnç sistemleri içinde muhtemelen en önemli olan ailedir. Bu sistem, hücre zarını boydan boya kateden pompadan (AcrB ve MexB), dış zar gözeneginden (TolC ve OprM) ve her ikisinin yapısına da katılan bir periplazmik adaptör proteininden (AcrA ve MexA) oluşmaktadır. Bu sınıfa ait en çok çalışılan üyeler, *E. coli*'den AcrAB-TolC ve *P. aeruginosa*'dan MexAB-OprM'dir (Lu vd., 2013).

ABC taşıyıcıları, her üç canlı alemde her yerde bulunan ATP (adenozin trifosfat) bağımlı transmembran pompaları, reseptörleri ve iyon kanallarıdır (Russo vd., 2015). İlk ABC taşıyıcısı 1996 yılında *Lactococcus lactis*'te tanımlanmıştır. Her ne kadar bu taşıma sistemi çok çeşitli yapılara sahip olsa da, bu ailenin tüm üyeleri iki TMD'den oluşan ortak bir dört parçalı mimariyi paylaşmaktadır (de Sousa Oliveira vd., 2016).

MATE, 12 varsayılan TMD'ye sahip olan enerjiye bağlı bir akış sistemidir. Bu; boyaların, hidrofilik florokinolonların ve aminoglikozitlerin membran boyunca gradiyent taşınımını bir H⁺ veya Na⁺ ile gerçekleştirerek onlara karşı direnç göstermesine aracılık etmektedir ancak antibiyotik bağlama mekanizması iyi anlaşılmamıştır (Seifert vd., 2015; Connell vd., 2013). MATE ailesinin genel özellikleri tam olarak belirlenememiştir (Obad vd., 2015).

1.8. Amaç

Yapılan çalışmalar, bitkilerin tedavi edici etkilerinin onların sahip olduğu tek bir biyoaktif bileşenden ziyade çok sayıda metabolitin sinerjistik etkisinden kaynaklanabileceğinin ve bu nedenle bitki metabolitlerinin herhangi bir antibiyotik ajanla öldürülmesi zor olan patojen mikroorganizmaların direnç mekanizmalarına karşı koyarak daha etkili bir tedavi sağladığını rapor etmektedir (Shanthi Sree vd., 2010; Mohd Nazri vd., 2011). Antibiyotiklerle (0.031-512 µg/ml) karşılaştırıldığında daha yüksek MIC (minimum inhibitör konsantrasyonu) değerleri nedeniyle fitokimyasallar (100-5000 µg/ml) tek

başlarına kullanılmasından ziyade son yıllarda antibiyotikler ve fitokimyasalların kombinasyonlarının etkileri incelenmiştir. Bu araştırmaların sonuçları, fitokimyasalların bakterilerdeki direnç mekanizmalarını modüle ettiğini veya değiştirdiğini göstermektedir. Bu durum, fitokimyasalların antibiyotiklerle kombinasyon halinde antimikrobiyal aktiviteyi arttırmak ve antibiyotik dozlarını azaltmak için kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca sinerjik tedavilerin antibakteriyel spektrumu ve antibakteriyel ajanların bakteriyel hücrelere karşı olan etkinliğini arttırdığı da bilinmektedir (Zhao vd., 2002; Tripodi vd., 2007; Chukwujekwu ve van Staden, 2016; Santiago vd., 2015; Touani vd., 2014).

Yapılan bu tez çalışmasında Elazığ ilinde yetişmekte olan karadut meyvelerinin; toplam fenolik ve toplam flavonoid değerinin, toplam antioksidan kapasitesinin ve polifenol profilinin belirlenmesi amaçlandı. Bu parametreler bağlamında literatürde çalışılmış olan farklı lokasyonlarda, farklı iklimatik şartlarda yetişen aynı veya farklı genotipteki karadut meyveleriyle olası benzerlik veya kayda değer farkların ortaya konarak literatüre kazandırılması hedeflendi. Bununla birlikte karadut meyveleri, yöre halkı tarafından boğaz enfeksiyonlarının tedavisinde geleneksel olarak kullanılan bir kürdür. Karadut meyvelerinin bahsi geçen bu etkisinin sahip olduğu sekonder metabolit içerik kompozisyonunun antimikrobiyal veya antimikrobiyal ajanlarla olan sinerjik etkisinden kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür. Son yıllarda ilgili literatürde, ulusal ve uluslararası organizasyonlarda odak haline gelen antimikrobiyal direnç sorununu aşmanın yollarından bir tanesi de geleneksel tıbbi bitkilerin biyoteknolojik araçlar kullanılarak ele alınıp bitki sekonder metabolitlerinin bu amaç doğrultusunda kullanımınıdır.

Bu amaçla karadut meyve örneklerinin geniş bir bakteriyel tür skalasında antimikrobiyal etkinliğinin ve ticari olarak kullanılan üç farklı antibiyotikle olan sinerjisinin belirlenmesi hedeflendi. Arzu edilen sonuçların alınması durumunda, yapılan bu çalışmanın karadut meyvelerinin tedavi amaçlı kullanımına ışık tutacağı düşünülmektedir. Örneklerin, antibiyotiklerle kayda değer sinerjik aktivitesinin tespit edilmesiyle birlikte klinik uygulamalarda antibiyotiklerin daha düşük dozlarda kullanılması sağlanabilecektir. Böylelikle bu tez çalışmasının ciddi bir problem olan antibakteriyel direnç sorununun yönetilebilir olmasına katkı sağlaması hedeflenmektedir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasında kullanılan cihazlar tablo 2.1’de listelendi.

Tablo 2.1. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Cihazlar		
Adı	Markası	Modeli
Analitik H. Terazı	Kern	ABJ-NM/ABS-N
Etüv	Daihan Scientific	ThermoStable IG-105
GPS Cihazı	Magellan	Explorist 610 GPS Unit
Kramometre Cihazı	Konica Minalto	CHROMA METER CR-400
LC-MS/MS (UHPLC/LCMS)	Shimadzu	Neexera/LCMS 8040
McFarland Densimetresi	Grant Instruments	DEN-1B
Mikroplaka Okuyucu	Thermo Scientific	Multiskan Go
pH Metre	Metler Toledo	SevenCompact S210
Soğutmalı Santrifüj	Beckman Coulter	Allegra X-30R Centrifuge
Su Banyosu	Memmert	WNE 10
Ultrasonik Su Banyosu	Wisd Laboratory Instruments	WUC-D10H
Vorteks	Heidolph	Reax Top Vortex Mixer
Otoklav	HMC Hirayama	HV-50L

2.1.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Sarf Malzemeler

Hidroklorik asit, etil asetat, sodyum karbonat, alüminyum klorür, potasyum persülfat, potasyum asetat, ABTS, DPPH, kuersetin, troloks kloramfenikol, nalidiksik asit, novobiosin Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Chemical Co., ABD) firmasından; etanol, metanol, dimetil sülfoksit, sülfürik asit, folin ciocalteu fenol reaktifi, askorbik asit, gallik asit, amonyum heptamolibdat tetrahidrat, monosodyum di-hidrojen fosfat monohidrat Merck (Merck KGaA, Almanya) firmasından temin edildi.

2.1.3. Örneklerin Toplanması

Morus nigra L. meyve örnekleri (Şekil 2.1.) 01.07.2018 tarihinde, hasat zamanı Elazığ ilinde toplandı. Örnekler toplanmadan önce küresel konumlama (GPS) cihazı ile karadut ağaçlarının lokasyonu 38.77082° kuzey-38.91900° güney olarak 5 m hassasiyetle, rakımı ise 1242 m olarak belirlendi. Örnekler toplanırken meyvelerin ezilmemesi amacıyla porsiyonlara ayrıldı ve hava geçirmeyen kilitli poşetlere konarak sonraki analizler için -20 °C’de muhafaza edildi.



Şekil 2.1. Tez çalışmasında kullanılan örneklerin toplandığı ağaç

2.2. Metot

2.2.1. Örneklerin Pomolojik Özellikleri

Meyve örnekleri toplanırken pomolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla rastgele seçilen 10 adet meyvenin boy ve en ölçümleri 0.05 mm hassasiyete sahip kumpas ile yapıldı ve daha sonra 0.1 mg hassasiyetteki analitik hassas terazide meyvelerin ağırlıkları ölçüldü.

Meyvelerin nem oranının belirlenmesi amacıyla 101.6894 gr ağırlığındaki örnek 40 °C’ye ayarlanmış etüve yerleştirilip belirlenen zaman aralıklarında ağırlık ölçümleri yapıldı

ve ağırlığın değişmediği ardışık tartımla birlikte işlem sonlandırılarak kuru ağırlık hesaplaması yapıldı.

Morus nigra L. meyve örneklerinin pH değerinin belirlenmesi maksadıyla 250 gr meyve homojenizatör cihazında homojenize edilerek kaba filtre kağıdından geçirildi. Elde edilen meyve suyunun pH'sı, pH metre cihazı ile ölçüldü.

Son olarak rastgele seçilen 10 adet örneğin, renk ölçümleri renk ölçer cihazı (Şekil 2.2.) ile ölçüldü.



Şekil 2.2. Pomolojik özelliklerin belirlenmesinde kullanılan renk ölçer cihazı

2.2.2. Örneklerin Ekstraksiyonu

Meyve örneklerinin ekstraksiyonu bazı modifikasyonlar uygulanarak Sánchez-Salcedo vd.ne (2015a) göre yapıldı. Ekstraksiyon çözeltisi olarak etanol [Hidroklorik asit/Etanol/Su (1/80/19)], metanol [Hidroklorik asit/Metanol/Su (1/80/19)] ve etil asetat [Hidroklorik asit/Etil asetat/Su (1/80/19)] çözeltileri kullanıldı. Ekstraksiyona başlanmadan önce -20 °C'de saklanan meyve örnekleri oda şartlarına alındı ve örneklerin çözünmesinin ardından homojenizatör cihazı kullanılarak homojenizasyonu yapıldı. 2.5 g homojenize edilmiş meyve örnekleri tartılarak falkon tüplere konuldu. Örneklerin üzerine 10 ml hacimde ekstraksiyon çözeltileri eklendi ve örnekler 1 saat boyunca 25±5 °C'de ultrasonik su banyosunda sonikasyona tabi tutuldu. Daha sonra karışım, oda sıcaklığında 5 dakika boyunca 2500 rpm'de santrifüjlendi ve süpernatant kısım alındı. Pellet kısım üzerine 5 ml

Çözücü ilave edildi ve iki ek ekstraksiyon daha yapıldı. Son ekstraksiyon öncesi ekstraksiyon çözeltisi eklenen pellet kısım bir gece boyunca +4  C’de soğutucuda bekletildi ve tekrar 1 saat süreyle sonike edilip ardından santrifüj işlemine tabii tutuldu. Toplanan üç süpernatant kısım 25 ml hacimdeki volümetrik flaska alındı ve hacim çizgisine kadar kendi çözücüsüyle tamamlandı. Ekstraktlar 0.45  m por çapına sahip şırınga ucu filtreden geçirildikten sonra 5 ml hacimdeki porsiyonlara ayrıldı ve sonraki analizler için -20  C’de muhafaza edildi.

Ekstraksiyon sonrasında örnek ekstraktları; MN1 (etanol ile yapılan *Morus nigra* L. meyve ekstresi), MN2 (metanol ile yapılan *Morus nigra* L. meyve ekstresi), MN3 (etil asetat ile yapılan *Morus nigra* L. meyve ekstresi) olmak üzere kodlandı (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. *Morus nigra* L. meyve örnekleri ekstraktları

2.2.3. Çözeltilerin Hazırlanması

1. Stok özeltilerin hazırlanması;

- Gallik asit özeltisi: Analitik hassas terazide 10 mg gallik asit tartıldı ve volumetrik flaska alınarak etanolde özündürölüp 10 ml’ye tamamlanarak hazırlanan 1000  g/ml’lik stok çözelti +4  C’de saklandı.
- Troloks özeltisi: 10 mg ağırlığındaki troloks tartılıp 10 ml’lik volumetrik flaska alındı ve etanol ile özölüp hacim çizgisine kadar tamamlandı. Hazırlanmış olan 1000  g/ml yoğunluğundaki stok çözelti +4  C’de derin dondurucuda muhafaza edildi.

- Kuersetin çözeltisi: Terazi vasıtasıyla tartılan 10 mg'lık kuersetin, 10 ml'lik volumetrik flask içerisinde etanol ile çözüldü ve son hacim 10 ml olacak şekilde etanol ile tamamlandı. Hazırlanmış olan kuersetin stok çözeltisi karanlıkta oda şartlarında muhafaza edildi.

- Askorbik asit çözeltisi: Analitik terazide tartılan 10 mg ağırlığındaki askorbik asit 10 ml'lik volumetrik flaskaya alındı ve bir miktar ultra saf su ile çözülerek hacim çizgisine kadar tamamlandı.

2. Toplam Polifenol İçeriğinin Belirlenmesi için gerekli olan kimyasal ve reaktiflerin hazırlanması;

- 1/10 (v/v) Folin-Ciocalteu fenol reaktifi: 1 ml Folin-Ciocalteu fenol reaktifi 10 ml'lik volumetrik flaskaya alındı ve bir miktar ultra saf su ilave edilerek çözüldükten sonra hacim çizgisine kadar ultra saf su ile tamamlandı. Alüminyum folyo ile sarılan falkon tüpe konup oda şartlarında saklandı.

- %7.5 (w/v) Sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi: Analitik hassas terazide 0.75 g sodyum karbonat tartılıp volumetrik flaskaya alındı, ultra saf su ile çözülüp 10 ml'ye tamamlandıktan sonra falkon tüpe alınıp oda şartlarında muhafaza edildi.

3. Flavonoid içerik analizi için gerekli olan çözeltilerin hazırlanışı;

- %10'luk Alüminyum klorür (AlCl_3) çözeltisi: Analitik hassas terazide 1 g alüminyum klorür tartılıp 10 ml'lik hacimdeki volumetrik flaskaya konuldu ve daha sonra çeker ocakta üzerine ultra saf su yavaş bir şekilde ilave edilip çözüldü. Volumetrik flask ultra saf su ile hacim çizgisine kadar tamamlandı.

- 1 mol/l Potasyum asetat (CH_3COOK) çözeltisi: Analitik hassas terazide 0.9815 g potasyum asetat tartılarak volumetrik flaskaya konup ultra saf su ile çözüldü ve 10 ml'ye tamamlandı.

4. DPPH radikali yakalama yöntemi için gerekli olan çözeltilerin yapılışı:

- 90 $\mu\text{mol/l}$ DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal çözeltisi: 8.9 mg DPPH analitik terazide tartılarak 25 ml'lik volumetrik flaskaya alındı ve metanol ile çözülüp hacim çizgisine kadar tamamlandı. Hazırlanan çözelti alüminyum folyo ile sarılı olan falkon tüpüne kondu.

5. ABTS radikali yakalama yöntemi için hazırlanan çözeltiler;

- 7 mmol/l ABTS [2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu] radikalinin hazırlanışı: Analitik hassas terazide 38.4 mg ABTS radikali tartılıp 10 ml ultra saf suda çözüldü. 6.6 mg potasyum persülfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) hassas terazide

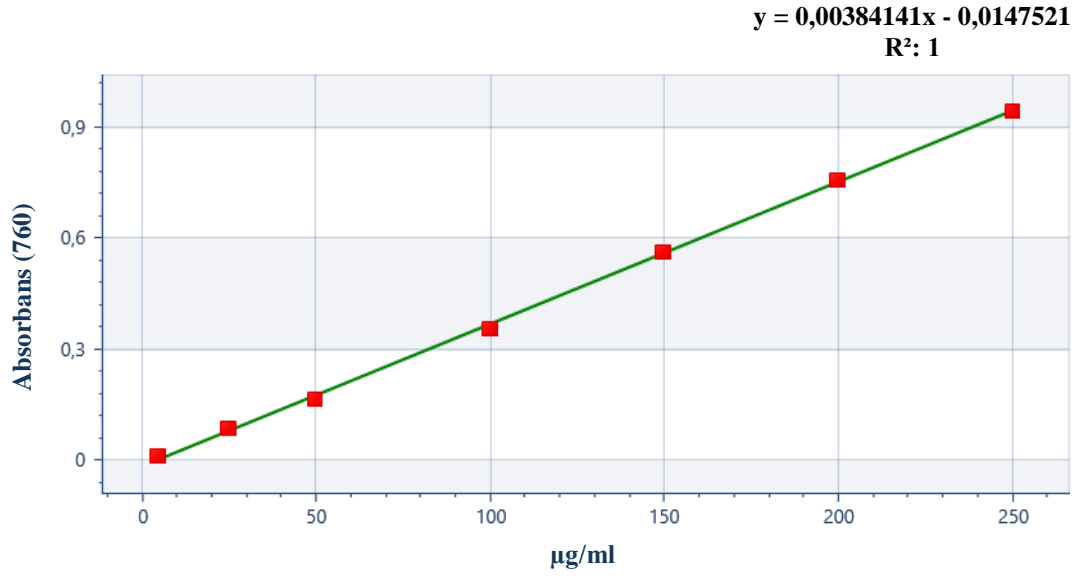
tartıldı ve 10 ml ultra saf suda çözüldü. Daha sonra hazırlanan bu iki çözelti alüminyum folyo sarılı bir falkon tüpüne aktarıldı, kuvvetlice çalkalanarak karıştırıldı ve oda şartlarında karanlıkta ABTS radikalinin oluşması amacıyla 12 saat bekletildi.

6. Fosfomolibden yöntemi için gerekli olan çözeltiler;

- Fosfomolibdik asit kompleksi [0.6 mol/l sülfürik asit (H_2SO_4), 4 mmol/l amonyum heptamolibdat tetrahidrat ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$) ve 28 mmol/l monosodyum di-hidrojen fosfat monohidrat ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$)] reaktif çözeltisi: 1.6 ml sülfürik asit 50 ml'lik volumetrik flaska kondu ve üzerine 12 ml metanol sızdırılarak karıştırıldı. Analitik hassas terazide 0.2472 g amonyum heptamolibdat tetrahidrat tartıldı ve volumetrik flaska alındı üzerine bir miktar ultra saf su eklenip çözüldü. Daha sonra 0.2295 g monosodyum di-hidrojen fosfat monohidrat tartılıp karışıma eklendi ve çözündürülüp hacim çizgisine kadar ultra saf su ile tamamlandı.

2.2.4. Toplam Polifenol İçeriğinin Belirlenmesi

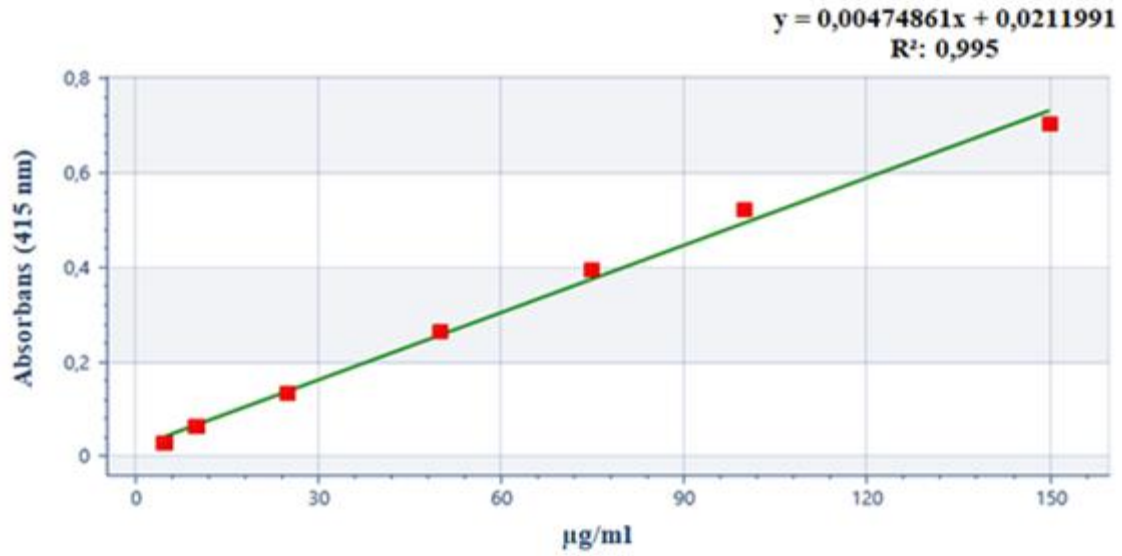
Toplam fenolik madde analizi gerekli uyarlamalar yapıldıktan sonra Folin-Ciocalteu yönteminin 96 kuyucuklu plaka uyarlamasına göre yapıldı (Beara vd., 2014). Dut ekstraktları kendi çözücülerini ile 10 kat seyreltilti. 1000 µg/ml standart gallik asit stok çözeltisi etanol ile 5, 25, 50, 100, 150, 200, 250 µg/ml olmak üzere 7 farklı konsantrasyonda seyreltilti. Ekstraksiyon ve standart çözeltilerinden 25 µl alınarak üzerine 125 µl, 1/10 yoğunluktaki Folin-Ciocalteu fenol reaktifi eklendi. 10 dakika beklendikten sonra karışıma 100 µl sodyum karbonat (%7.5) çözeltisi eklendi ve oda sıcaklığında karanlıkta 2 saat reaksiyonun tamamlanması beklendi, 760 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Köre olarak metodun uygulandığı ultra saf su kullanıldı. Standart eğri grafiği (Şekil 2.4.) 7 noktada çizildi. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri/taze meyve (GAE/TM) olarak hesaplandı. Analizler 3 tekrarlı çalışıldı.



Şekil 2.4. Toplam polifenol analizi askorbik asit standart eğri grafiği

2.2.5. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Dut ekstraktlarının toplam flavonoid içeriğini belirlemek amacıyla 96 kuyucuklu plakaya uyarlanan alüminyum klorür kolorimetrik yöntem kullanıldı (Beara vd., 2014). 1000 µg/ml kuersetin standart stok çözeltisi etanol ile seyreltilerek 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150 µg/ml olmak üzere 7 farklı yoğunluktaki kuersetin çözeltileri hazırlandı. Dut ekstraktları ve gerekli seyreltmeler yapılan standart çözeltilerden 30 µl alınarak üzerine sırasıyla 80 µl metanol, 6 µl %10'luk alüminyum klorür, 6 µl 1 mol/l potasyum asetat ve 125 µl ultra saf su ilave edildi. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika reaksiyonun gerçekleşmesi için beklendi. Mikroplaka okuyucuda, 415 nm dalga boyunda köre karşı okuma yapıldı. Kör olarak metodun uygulandığı ultra saf su kullanıldı. Standart eğri grafiği (Şekil 2.5.) 7 noktada çizildi. Sonuçlar hesaplandı ve kuersetin eşdeğeri/taze meyve (QE/TM) olarak verildi. Analizler 3 tekerrürlü olarak çalışıldı.



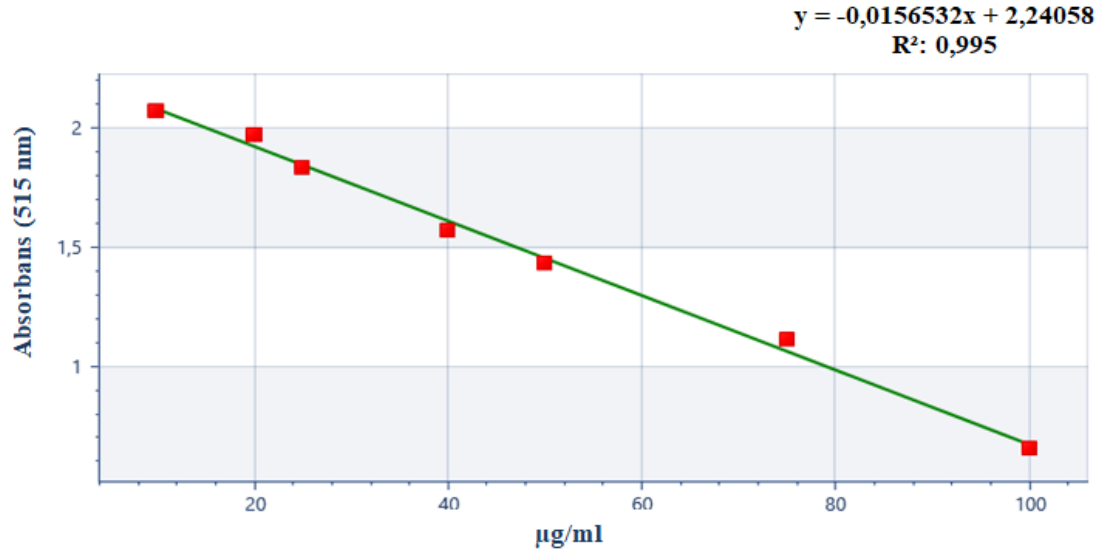
Şekil 2.5. Toplam flavonoid analizi için kuersetin standart eğri grafiği

2.2.6. Antioksidan Aktivite Analizleri

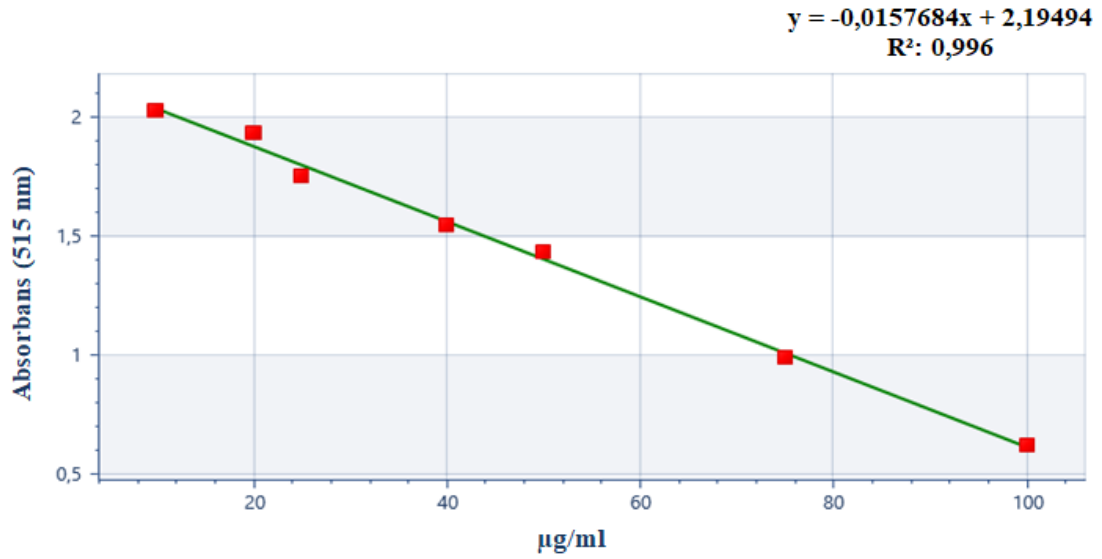
2.2.6.1. DPPH Radikali Yakalama Yöntemi

Dut ekstraktlarının, DPPH radikali üzerindeki süpürücü etkisi, Soler-Rivas vd.nin (2000) 96-kuyucuklu mikroplakalar için uyarladığı DPPH radikali yakalama metoduna göre test edildi. Dut ekstraktları veya dilüsyonlarından ve gerekli seyreltmeler yapılan standart çözeltilerden 10 µl alınarak üzerine 100 µl DPPH çözeltisi eklendi ve karışım metanol ile 190 µl'ye tamamlandı. Oda sıcaklığında karanlıkta 1 saat bekleme süresinden sonra 515 nm dalga boyunda mikrolaka okuyucuda köre karşı okundu. Kör olarak ultra saf su kullanıldı. Sonuçlar hem standart eğri grafiği oluşturularak hem de IC₅₀ yöntemiyle değerlendirildi. Standart ve pozitif kontrol olarak sentetik ve doğal antioksidan kimyasallar kullanıldı. Doğal antioksidan olarak askorbik asit, sentetik antioksidan olarak troloks tercih edildi.

Dut ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitelerinin standart eğri grafiği vasıtasıyla değerlendirilmesi amacıyla; 1000 µg/ml yoğunluktaki askorbik asit ve troloks standart stok çözeltilerinden 10, 20, 25, 40, 50, 75, 100 µg/ml'lik 7 farklı yoğunluktaki çözeltiler hazırlandı. Şekil 2.6'daki gibi askorbik asit standart eğri grafiği ve Şekil 2.7'deki gibi troloks standart eğri grafiği çizildi.



Şekil 2.6. DPPH radikal yakalama analizi için askorbik asit standart eğri grafiği



Şekil 2.7. DPPH radikal yakalama analizi için troloks standart eğri grafiği

Örneklerin antioksidan kapasitesinin IC_{50} ile değerlendirilmesi amacıyla dut ekstraktları Tablo 2.2’de şematize edilen biçimde kendi çözücüleri ile seyreltildi.

Tablo 2.2. Karadut ekstraktlarının seyreltme katsayıları

Örnek	Seyreltme katsayısı
MN1, MN2	0.05
	0.1
	0.2
	0.3
	0.4
MN3	0.6
	0.7
	0.8
	0.9
	1

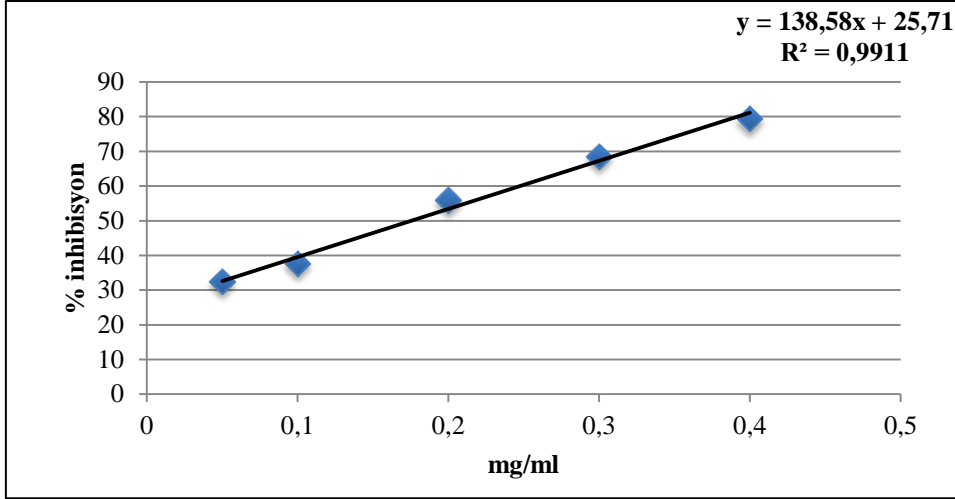
Kontrol olarak metodun uygulandığı ultra saf su kullanıldı ve her örnek ekstraktının % inhibisyon değerleri aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı. Her bir örnek için hesaplanan % inhibisyon değerleri kullanarak % inhibisyon grafik eğrileri çizildi ve eğri denklemi vasıtasıyla IC₅₀ değerleri hesaplandı. Bu hesaplama her paralel için ayrı ayrı yapıldı. Örnek olarak MN1'in % inhibisyon grafiği Şekil 2.8'de gösterildi. Analizler 3 tekerrürlü olarak çalışıldı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(Abs_{\text{Kontrol}} - Abs_{\text{Ekstre}}) / Abs_{\text{Kontrol}} \times 100] \quad (2.1.)$$

Bu eşitlikte;

Abs_{Kontrol} = Kontrol absorbans değeri

Abs_{Ekstre} = Örnek ekstrenin absorbans değeri

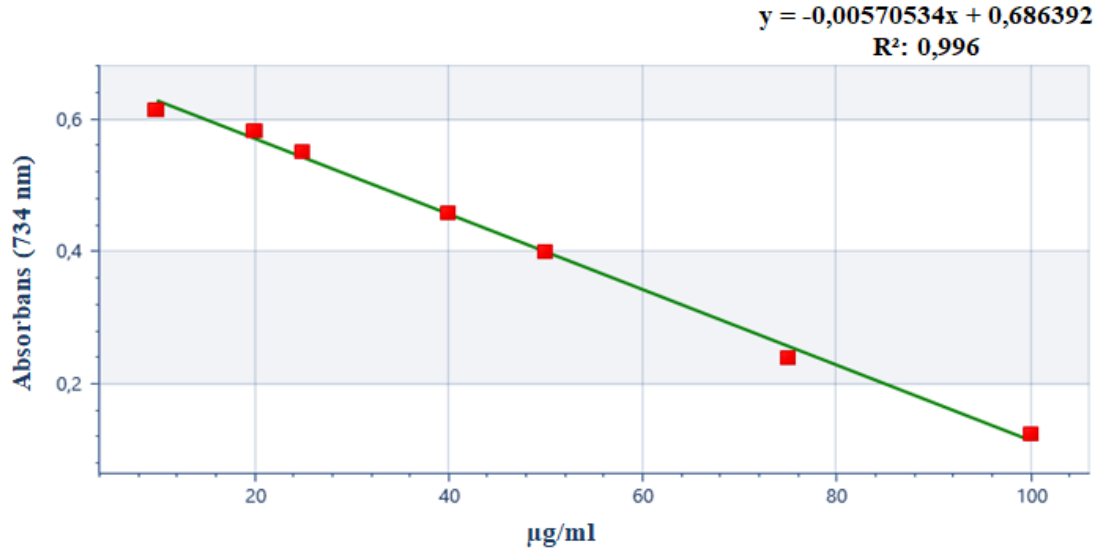


Şekil 2.8. DPPH radikal yakalama analizi MN1 (1. tekerrür) % inhibisyon grafiği

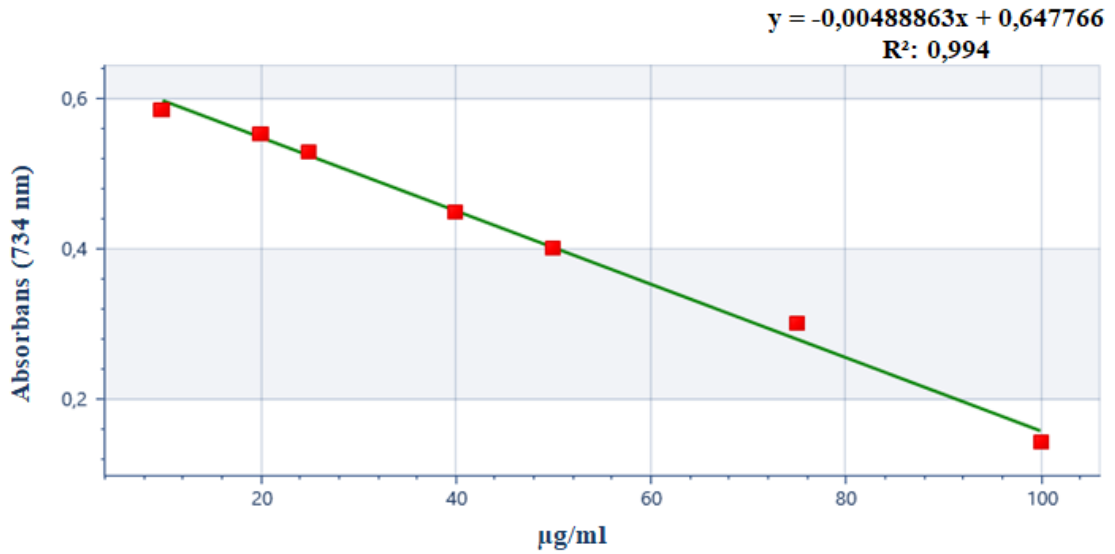
2.2.6.2. ABTS Radikali Yakalama Yöntemi

Dut ekstraktlarının, 96-kuyucuklu mikrolakalar için uyarlanan Silva vd.ne (2007) göre ABTS radikali yakalama deneyi yapıldı. Dut ekstraktları veya dilüsyonlarından ve gerekli seyreltmeler yapılan standart çözeltilerden 8 µl alınarak, üzerine 230 µl ABTS (Saf su ile seyreltilerek 734 nm dalga boyunda 0.7 ± 0.02 Abs olarak ayarlandı) çözeltisi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Karanlıkta, 30 °C’de 6 dakika reaksiyonun bitmesi beklendi. Reaksiyonun bitişiyle birlikte örnekler ve standart çözeltiler 734 nm dalga boyuna ayarlanmış olan mikrolaka okuyucuda köre karşı okundu. Kör olarak ultra saf su kullanıldı. Sonuçlar hem standart eğri grafiği oluşturularak hem de IC₅₀ yöntemiyle değerlendirildi. Standart ve pozitif kontrol olarak sentetik ve doğal antioksidan kimyasallar kullanıldı. Doğal antioksidanları temsilen askorbik asit, sentetik antioksidanları temsilen troloks tercih edildi.

Standart eğri grafiği ile sonuçların değerlendirilmesi için; 1000 µg/ml’lik stok çözeltileri hazırlanan askorbik asit ve troloks standart çözeltileri 10, 20, 25, 40, 50, 75, 100 µg/ml olarak dilüe edildi. Şekil 2.9’da gösterildiği gibi askorbik asit, Şekil 2.10’da gösterildiği gibi troloks standart eğri grafiği çizildi.



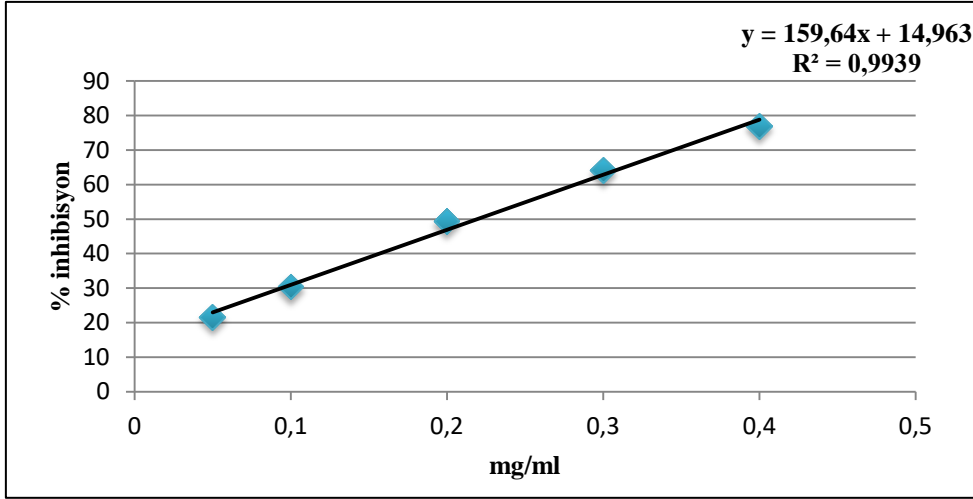
Şekil 2.9. ABTS radikali yakalama analizi için askorbik asit standart eğri grafiği



Şekil 2.10. ABTS radikali yakalama analizi için troloks standart eğri grafiği

Örneklerin antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesi amacıyla ikinci bir değerlendirme kriteri olan dut ekstraktlarının IC₅₀ değerleri hesaplandı. Ekstraktlar Tablo 2.2’de şematize edildiği şekliyle seyreltildi. Kontrol olarak analiz yönteminin uygulandığı ultra saf su kullanıldı. Her örnek ekstraktının, askorbik asit ve troloksun % inhibisyon değerleri denklem kullanılarak hesaplandı. Her bir örnek ve standartlar için hesaplanan % inhibisyon değerleri kullanarak % inhibisyon grafik eğrileri çizildi ve eğri denkleminde

IC₅₀ degerleri hesaplandı. Paraleller, istatistiki analiz öncesi bir birinden ayrı olarak IC₅₀ hesabında kullanıldı. Örnek olarak MN1'in % inhibisyon grafiği Şekil 2.11'de gösterildi. Analizler 3 tekerrürlü olarak çalışıldı.

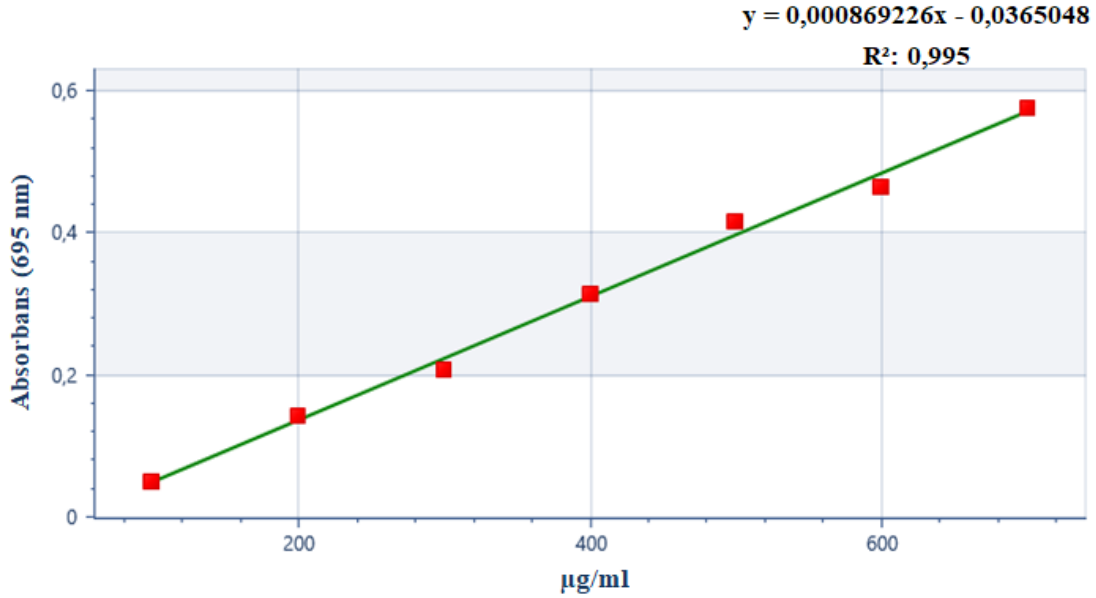


Şekil 2.11. ABTS radikali yakalama analizi MN1 (1. tekerrür) % inhibisyon grafiği

2.2.6.3. Toplam Antioksidan Kapasite Yöntemi

Bu yöntemin esası, antioksidanlar ile muamele edildiğinde Mo(VI)'nın Mo(V)'e indirgenmesi ile asidik ortamda oluşan yeşil renkli fosfat-Mo(V) bileşiğinin spektrofotometrede ölçülmesine dayanmaktadır. Dut ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesi Zengin vd.ne (2014) göre bazı uyarlamalar ile fosfomolibden yöntemiyle değerlendirildi. Dut ekstraktları analiz öncesinde 10 kat seyreltildi. Standart olarak 1000 µg/ml stok çözeltiden 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 µg/ml olarak yedi noktada seyreltilen askorbik asit standart çözeltileri kullanıldı. Örnek ve standart çözeltilerden 0.3 ml alınarak kapaklı deney tüplerine konuldu ve üzerine 3ml fosfomolibdik asit kompleksi reaktif çözeltisi eklenerek kuvvetlice çalkalanıp karıştırıldı. Reaksiyonun gerçekleşmesi için deney tüpleri daha önceden ayarlanan 95 °C'deki su banyosunda 90 dakika bekletildi. Reaksiyon süresi sonunda tüplerin sıcaklığının karanlıkta oda sıcaklığına düşmesi beklendi. Soğumuş karışım otomatik pipet yardımıyla 96 kuyucuklu plakaya 250 µl hacimde enjekte edildi ve mikrolakaya okuyucuda 695 nm'de köre karşı okundu. Kör

olarak analiz metodunun uygulandığı ultra saf su kullanıldı. Sonuçlar çizilen askorbik asit standart eğrisi (Şekil 2.12.) kullanılarak değerlendirildi. Analizler 3 tekrarlı çalışıldı.



Şekil 2.12. Toplam antioksidan kapasite analizi için askorbik asit standart eğri grafiği

2.2.7. Polifenolik Bileşik İçerik Analizi

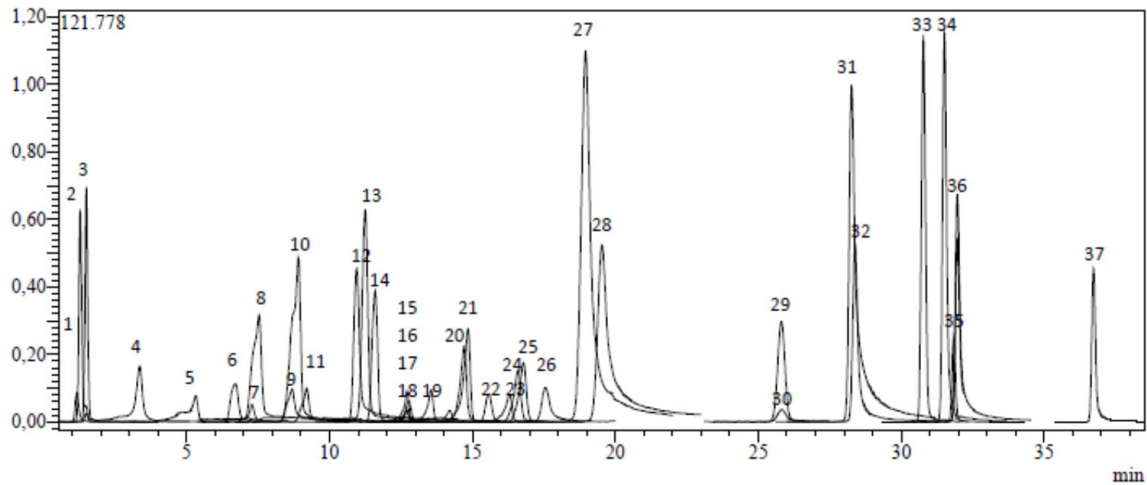
Total fenolik ve total flavonoid analizlerinde en iyi sonucu veren ekstraksiyon olan MN1 kullanılarak fenolik bileşiklerin profilleri belirlendi. Profillerin belirlenmesi için LC-MS/MS sistemi kullanıldı. Polifenolik bileşik içerik analizi, hizmet alımı ile DÜBTAM'da (Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi) yapıldı.

Polifenolik bileşik analizi için kullanılan LC-MS/MS sistemi, Shimadzu marka, Neexera model UHPLC cihazı ve Shimadzu marka, LCMS 8040 model üçlü kuadrupol kütle spektrometre cihazından oluşmaktadır. Sıvı kromatografi sistemi LC-30 AD model gradient pompa, DGU-20A3R model degazer, CTO-10ASvp model kolon fırını ve SIL-30AC model autosampler'dan oluşmaktadır. Analiz için Inertsil marka, ODS-4 model C18 (100 mmx2.1 mm, 2 µm) kolon kullanıldı. Kolon fırın sıcaklığı 35 °C'ye ayarlandı. Hareketli faz olarak 10 mmol/l amonyum format ve %0.1 formik asit eklenen ultrasaf su (faz A) ve metanol (faz B) kullanıldı. UHPLC gradiyent profili %5-20 B (0-10 dk.), %20 B

(10-22 dk.), %20-50 B (22-36 dk.), %95 B (36-40 dk.), %5 B (40-50 dk.) olacak şekilde, mobil faz akış hızı 0.25 ml/dk. ve enjeksiyon hacmi 4 µl olacak şekilde metod oluşturuldu.

Üçlü kuadropol kütle spektrometresi hem negatif hem de pozitif modda çalışan bir ESI (elektrosprey iyonlaştırma) kaynağı ile donanımlıdır. Analiz sonuçları LabSolutions (Shimadzu, Kyoto, Japonya) yazılımı ile yorumlandı. Analitlerin miktarsal tayini için cihaz ile MRM (çoklu reaksiyon görüntüleme) modunda çalışıldı ve moleküler (parent) iyonlar bir veya iki parçalanma ürünü (product ions) ile kombine edildi. Kütle spektrometresinde optimize edilen diğer parametreler şunlardır: ara yüz (interface) sıcaklığı; 350 °C, DL sıcaklığı; 250 °C, heat block sıcaklığı; 400 °C, nebulizer gaz (N₂) akışı; 3 l/dk. ve kurutma gazı (N₂) sıcaklığı; 15 l/dk.

Örneğin polifenolik miktar analizinin yapılabilmesi amacıyla LC-MS/MS cihazı 37 polifenolik bileşik standardı ile kalibre edildi. Standart polifenoller; 1. Kuinik asit, 2. Malik asit, 3. Fumarik asit, 4. Gallik asit, 5. Protokateşik asit, 6. Pirokateşol, 7. Klorojenik asit, 8. 4-OH-benzoik asit, 9. Vanilik asit, 10. Kafeik asit, 11. Sirinjik asit, 12. Vanilin, 13. Salisilik asit, 14. p-Kumarik asit, 15. Rutin, 16. Ferulik asit, 17. Sinapinik asit, 18. Hesperidin, 19. İzokuersitrin, 20. Rosmarinik asit, 21. Nikotiflorin, 22. o-Kumarik asit, 23. Apigenin 7-O-neohesperidozit, 24. Kuersitrin, 25. Apigetrin, 26. Kumarin, 27. Mirisetin, 28. Fisetin, 29. Sınnamik asit, 30. 7,4'-Dihidroksiflavanon, 31. Kuersetin, 32. Luteolin, 33. Narinjenin, 34. Apigenin, 35. Hesperetin, 36. Kamferol, 37. Krisin olarak seçildi. Standart polifenol olarak kullanılan polifenol bileşiklerin LC-MS/MS'te vermiş olduğu kromatogram Şekil 2.13'te verildi.



Şekil 2.13. LC-MS/MS cihazı polifenolik bileşik standart kromatogramı

2.2.8. Dut Ekstraktlarının Antimikrobiyal Özelliklerinin ve Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi

2.2.8.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Dut ekstraktlarının antimikrobiyal etkinlikleri CLSI'ye (2007) göre bazı uyarlamalarla birlikte disk difüzyon yöntemiyle belirlendi. Gram pozitif bakteriler olarak *Enterococcus faecalis* ATCC (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu) 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecium* DSMZ (Alman Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu) 13590, Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644; gram negatif bakteriler olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 35150, *Proteus vulgaris* FMC 1 ve maya- küf olarak *Candida tropicalis* ATCC 13803, *Aspergillus flavus* ATCC 46283 test organizmaları olarak kullanıldı. Mikroorganizmalar, Dr. Öğr. Üyesi Kadriye ÖZCAN'dan (Giresun Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü) temin edildi.

Test organizmalarının taze kültürleri hazırlandı ve steril saf suda çözülerek McFarland densitometresi cihazında 0.5 McFarland bulanıklığına (1.5×10^8 mikroorganizma/ml) seyreltildi. Daha sonra her bir türün, eküvyon yardımıyla, Müller-Hinton agar petriye inokülasyonu gerçekleştirildi. Test mikroorganizması uygulanmış petrilerin üzerine 6 mm çapında steril boş disk yerleştirildi ve disklere 60 mg/ml konsantrasyondaki 20 µl ekstre solüsyonu emdirildi. Petriler 2 saat 4°C'de bekletilerek ekstrelerin agara difüzyonu sağlandı. Pozitif kontrol olarak kloramfenikol, novobiosin, nalidiksik asit; negatif kontrol olarak DMSO kullanıldı. Etüvde bakteriler için 37 °C'de 24 saat boyunca, mayalar için 28 °C'de 48 saat boyunca inkübasyon sonrasında disklerin çevresinde oluşan zon çapları dijital kumpasla ölçüldü. Analizler 3 tekerrürlü olarak çalışıldı.

2.2.8.2. Dut Ekstraktlarının Antimikrobiyal MIC ve MBC Değerlerinin Belirlenmesi

Dut ekstraktlarının MIC ve MBC (minimal bakterisidal konsantrasyon) değerleri CLSI'ye (2007) göre bazı uyarlamalarla birlikte broth dilüsyon metodu kullanılarak kapaklı, steril, 96-kuyucuklu mikro plakalar ile belirlendi. Besiyeri olarak Müller-Hinton agar kullanıldı. Diğer kuyucuklardan farklı olarak ilk kuyucuklara iki kat konsantrasyonda

hazırlanan besiyerinden, diğerlerine ise standart konsantrasyonda hazırlanan besiyerinden 100 µl enjekte edildi. Daha sonra ise MIC değerlerinin belirlenmesi için kullanılacak olan dut ekstraktlarının başlangıç konsantrasyonu 16.4 mg/ml olacak şekilde DMSO içerisinde, çözündürüldü ve 100 µl'si ilk kuyucuğa pipetlendi. İki kat seri seyreltme ile 0.016-8.2 mg/ml aralığında 10 farklı konsantrasyon elde edildi. Aynı şekilde başlangıç konsantrasyonları 256 µg/ml olacak şekilde novobiosin, ultra saf su; nalidiksik asit, kloroform ve kloramfenikol, etanol içerisinde çözüldü. İki kat seri seyreltmeyle 0.25-128 µg/ml aralığında 10 farklı konsantrasyon elde edildi. Standart mikroorganizmaların 10 µl süspansiyonları (0.5 MacFarland bulanıklığı) mikropalakalara inoküle edildi. Pozitif kontrol olarak organizmalar ve besiyeri, negatif kontrol olarak ekstraktlar ve besiyeri kullanıldı. Etüvde bakteriler için 37 °C'de 24 saat boyunca, mayalar için 28 °C'de 48 saat boyunca inkübasyondan sonra mikroorganizmaların büyümesi mikropalaka okuyucu kullanılarak gözlemlendi. Dut ekstraktları ve seçilen antibiyotiklerin, mikroorganizmaların büyümesini engelleyen en düşük konsantrasyonları MIC değerleri olarak belirlendi. Pozitif kontrol olarak kloramfenikol, novobiosin, nalidiksik asit; negatif kontrol olarak DMSO kullanıldı.

MBC değerlerinin belirlenmesi için ise her kuyudan 100 µl broth alındı, Müller-Hinton agarı aşılandı ve etüvde 37 °C'de 24 saat boyunca bakteriler için, 28 °C'de 48 saat boyunca mayalar için inkübasyona bırakıldı. Dut ekstraktlarının bakterilerin %99.9'unu öldürdüğü en düşük konsantrasyon MBC değeri olarak belirlendi. Analizler 3 tekerrürlü olarak planlandı.

2.2.8.3. Dut Ekstraktlarının Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi

Checkboard yöntemi; dut ekstraktları ile seçilen antibiyotikler arasındaki sinerji, Fadli vd.ne (2012) göre bazı uyarlamalarla birlikte checkboard yöntemi ile incelendi. Ekstrakt ve antibiyotik kombinasyonlarının sinerjilerinin belirlenmesi amacıyla *Enterococcus faecium* DSMZ 13590, MRSA ATCC 43300 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 test mikroorganizmaları olarak seçildi. Besiyeri olarak Müller-Hinton broth kullanıldı. İlk kuyucuklara iki kat konsantrasyonda hazırlanan besiyerinden, diğerlerine ise standart konsantrasyonda hazırlanan besiyerinden 100 µl pipetlendi. MIC analizi ile elde edilen sonuçlar, dut ekstraktlarının düşük konsantrasyonda antibiyotiklerle kombinasyonunu belirlemek için kullanıldı. Novobiosin, nalidiksik asit, kloramfenikol'un ve dut ekstraktlarının başlangıç konsantrasyonu 16xMIC olarak hazırlandı. Ekstrakt ve

antibiyotik kombinasyonlarını oluşturmak için her seyreltik 1:1 oranında karıştırıldı ve elde edilen kombinasyon karışımları 100 µl hacimde olacak şekilde ilk kuyucuklara pipetlendi. Seri iki kat seyreltme ile 4xMIC'den MIC/128'e kadar 10 farklı dilüsyon elde edildi. Daha sonra ise 0.5 MacFarland bulanıklığına ayarlanan suşların 10 µl'si kuyucuklara inoküle edildi. Pozitif kontrol olarak test mikroorganizmaları ve besiyeri, negatif kontrol olarak sadece ekstraktlar ve besiyeri kullanıldı. Son olarak plakalar 37 °C'de 24 saat boyunca inkübe edildi. Üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon, kombinasyonların MIC değeri olarak belirlendi. Analizler 3 tekrarlı olarak çalışıldı.

Kombinasyon analiz sonuçları aşağıdaki denklemden faydalanılarak, FICI (fraksiyon inhibitör konsantrasyon indeksi) değerleri hesaplanarak elde edildi (Didry vd., 1993).

$$FICI = (MICA/B / MICA) + (MICB/A / MICB) \quad (2.2.)$$

Bu eşitlikte;

MICA; sadece dut ekstraktlarının,

MICB; sadece antibiyotiklerin,

MICA/B; dut ekstraktlarının kombinasyon içindeki,

MICB/A; antibiyotiklerin kombinasyon içindeki MIC değerlerini temsil etmektedir.

Dut ekstraktları ve antibiyotikler arasındaki tam sinerjizm ($FICI \leq 0.5$), kısmi sinerjizm ($0.5 < FICI \leq 1$), sinerjistik etkileşimin olmaması ($1 < FICI \leq 4$) ve antagonizma ($FICI > 4$) hesaplanan FICI değerleri baz alınarak yorumlandı (Van Vuuren ve Viljoen, 2011).

2.2.9. İstatistiksel Analizler

Yapılan analizler 3 tekerrürlü olarak çalışıldı ve elde edilen sonuçlar IBM SPSS Statistics 21 programında, One-way ANOVA ile hesaplandı ve önemli farklılıklar Duncan'ın çoklu sıra testleri ile belirlenip $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Pomolojik Özellikler

Rastgele seçilip boy-en ve ağırlık ölçümleri yapılan *Morus nigra* L. meyve örneklerine ait ölçümler ve ortalamaları Tablo 3.1’de gösterildi.

Tablo 3.1. Meyve örneklerinin boy-en ve ağırlık ölçümleri

Meyve numaraları	Boy ölçümleri (cm)	En ölçümleri (cm)	Ağırlık ölçümleri (g)
1	2.46	1.56	4.96
2	2.48	1.63	4.92
3	2.62	1.37	4.17
4	2.45	1.81	4.89
5	2.70	1.80	4.17
6	2.28	1.79	4.28
7	2.86	1.71	4.79
8	2.29	1.71	4.36
9	2.47	1.79	4.59
10	2.49	1.71	4.95
Ortalama	2.51±0.18	1.69±0.14	4.61±0.33

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi.

Gelişi güzel seçilen on adet meyvenin renk ölçer cihaz ile yapılan ölçüm değerleri Tablo 3.2’de şematize edildi.

Tablo 3.2. Meyve örneklerinin renk ölçüm değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama
L*	15.24	15.19	15.56	17.29	14.41	17.17	15.92	16.48	14.94	15.75	15.79±0.94
a*	14.78	11.16	10.07	10.11	13.00	18.15	14.93	12.69	14.54	15.55	13.50±2.59
b*	-2.16	-3.40	-3.33	-1.52	-2.92	-0.83	-2.27	-2.28	-2.47	-2.05	-2.32±0.78
ΔL*	+6.99	+6.87	+7.23	+8.97	+6.08	+8.85	+7.60	+8.16	+6.62	+7.45	7.48±0.94
Δa*	+18.38	+14.47	+13.67	+13.72	+16.61	+21.76	+18.53	+16.28	+18.14	+19.16	17.07±2.62
Δb*	-4.94	-6.19	-6.11	-4.31	-5.70	-3.62	-5.06	-5.06	-5.25	-4.84	-5.11±0.78
ΔE*	20.25	17.42	16.63	16.94	18.58	23.76	20.66	18.91	20.01	21.12	19.43±2.19

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi.

L*: Rengin açıklığı, a*: Kırmızı-yeşil renk eksen, b*: Sarı-mavi renk eksen.

L*, a*, b*: Mutlak değer; ΔL*, Δa*, Δb*, ΔE*: Renk farkı.

Yapılan analizler sonucunda karadut meyve örneklerinin toplam kuru ağırlığı %24.17±0.71 olarak, meyvelerin pH değeri ise 3.66±0.8 olarak belirlendi.

3.2. Toplam Polifenol İçerik Analiz Sonuçları

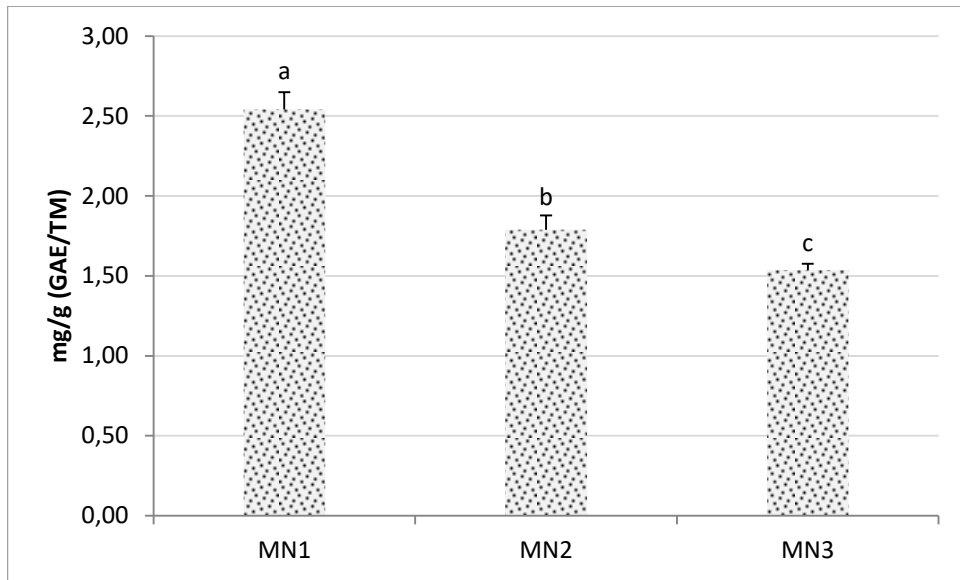
Morus nigra L. bitkisinin meyveleri üç farklı ekstraksiyon çözeltisiyle ekstrakte edilip Folin-Ciocalteu yöntemiyle analiz edildi. Sonuçlar gallik asit standart eğri grafiğinden yararlanılarak Tablo 3.3'te gösterildiği gibi gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı. Ayrıca farklı ekstraktlar sütun grafiği (Şekil 3.1.) ile de karşılaştırıldı. MN1 en yüksek toplam polifenolik seviyesine sahip ekstrakt olarak belirlendi. MN2 ve MN3 birbirine yakın sonuçlar sergilemesine rağmen MN3 en verimsiz ekstrak oldu.

Tablo 3.3. Ekstraktların toplam polifenol içerik analiz sonuçları

Ekstraktlar	mg/g (GAE /TM)
MN1	2.54±0.11 ^a
MN2	1.79±0.09 ^b
MN3	1.54±0.04 ^c

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. GAE: Gallik asit eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının toplam polifenol içerik sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.



Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. GAE: Gallik asit eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının toplam polifenol içerik sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Şekil 3.1. Ekstrelerin toplam polifenol içerik analiz sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi

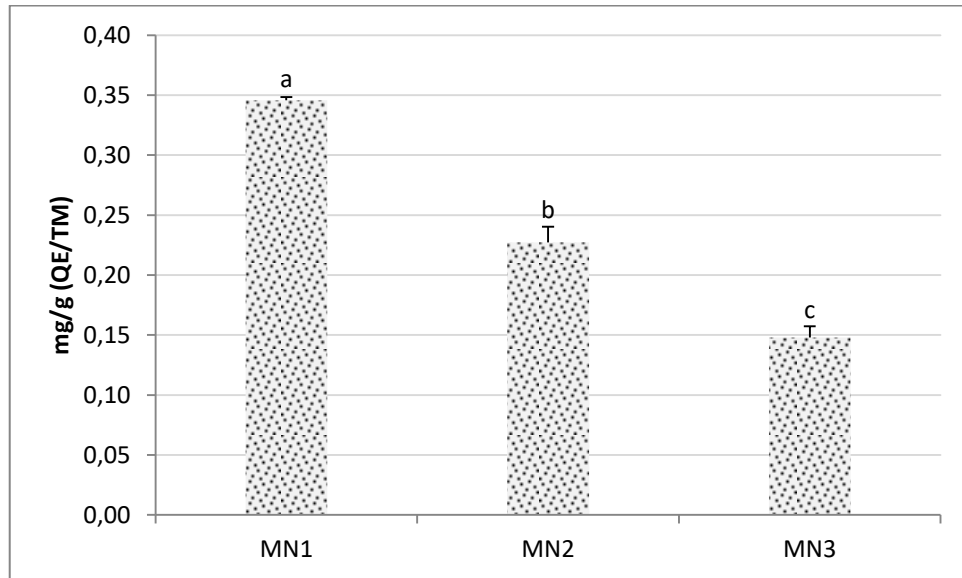
3.3. Toplam Flavonoid İçerik Analiz Sonuçları

Karadut meyve ekstraktlarının flavonoid içerik seviyeleri alüminyum klorür kolorimetrik yöntem kullanılarak belirlendi. Sonuçlar kuersetin eşdeğeri olarak verildi (Tablo 3.4.). Meyve örneklerinin üç farklı ekstraksiyonunun toplam flavonoid miktarları sütun grafiğinden (Şekil 3.2.) faydalanılarak karşılaştırıldı.

Tablo 3.4. Ekstraktların toplam flavonoid içerik analiz sonuçları

Ekstraktlar	mg/g (QE/TM)
MN1	0.35±0.002 ^a
MN2	0.23±0.01 ^b
MN3	0.15±0.01 ^c

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. QE: Quersetin eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı. Meyve ekstraktlarının toplam flavonoid içerik sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.



Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. QE: Quersetin eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının toplam flavonoid içerik sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Şekil 3.2. Ekstrelerin toplam flavonoid içerik analiz sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi

İstatistiki açıdan MN1 en yüksek toplam flavonoid içeriğe sahip ekstrakt olarak tespit edildi. MN3 ise toplam polifenolik içerik analiz sonuçlarına benzer şekilde en verimsiz ekstrakt olarak belirlendi.

3.4. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

3.4.1. DPPH (2,2-difenil-1 pikrilhidrazil) Radikali Yakalama Analiz Sonuçları

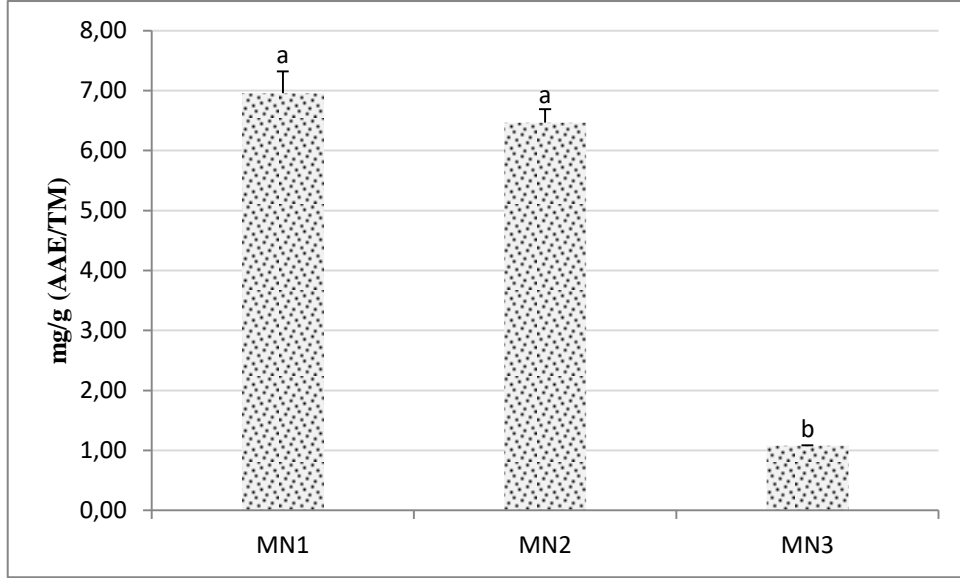
Tez çalışması kapsamında karadut meyve örneklerinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi amacıyla literatürde sıkça kullanılan bir analiz yöntemi olan DPPH radikali yakalama analizinin sonuçları hem standart kalibrasyon eğrisi hem de IC₅₀ kriteri ile değerlendirilip sonuçlandırıldı. Standart eğri grafiği denklemi ile elde edilen sonuçlar hem tablo (Tablo 3.5.) ile hem de askorbik asit için Şekil 3.3'te, troloks için Şekil 3.4'te sütun grafiği ile şematize edilerek verildi. İstatistiki olarak askorbik asit eşdeğeri bakımından MN1 ve MN2 arasında bir fark görülmezken, troloks eşdeğeri açısından MN2 en yüksek DPPH radikali süpürme kapasitesine sahip ekstrakt olarak tespit edildi. MN3 DPPH radikali süpürme kapasitesi ise istatistiki açıdan en verimsiz ekstrakt olarak belirlendi.

Tablo 3.5. Ekstraktların standart grafik eğrilerine göre DPPH analiz sonuçları

Ekstraktlar	mg/g (AAE/TM)	mg/ml (TE/TM)
MN1	6.96±0.36 ^a	6.63±0.36 ^b
MN2	6.47±0.22 ^a	7.25±0.49 ^a
MN3	1.08±0.01 ^b	1.03±0.02 ^c

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. AAE: Askorbik asit eşdeğeri, TE: Troloks eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

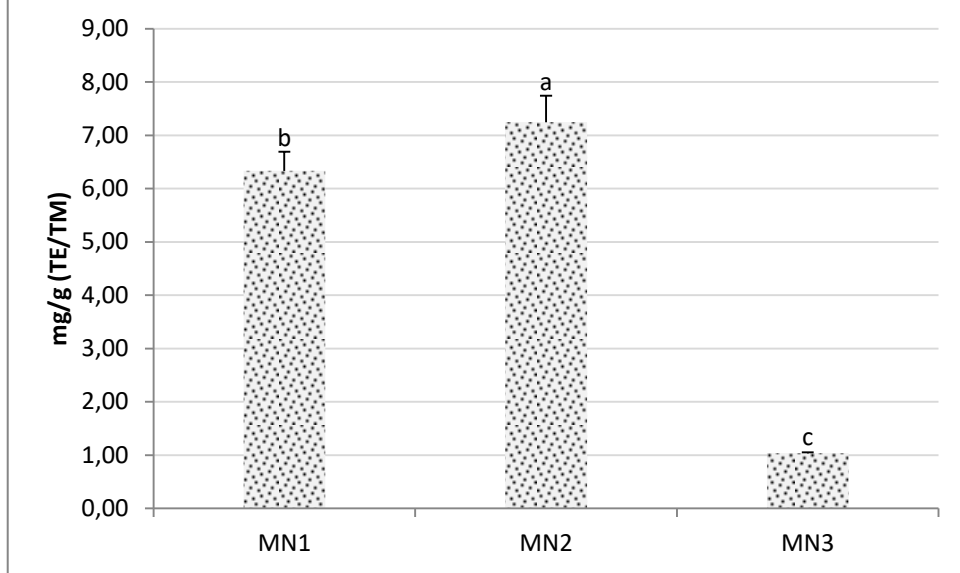
Meyve ekstraktlarının DPPH sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.



Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ile gösterildi. AAE: Askorbik asit eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının DPPH sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Şekil 3.3. Ekstraktların askorbik asit standart eğri grafiğine göre DPPH analiz sonuçları



Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ile gösterildi. TE: Troloks eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının DPPH sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

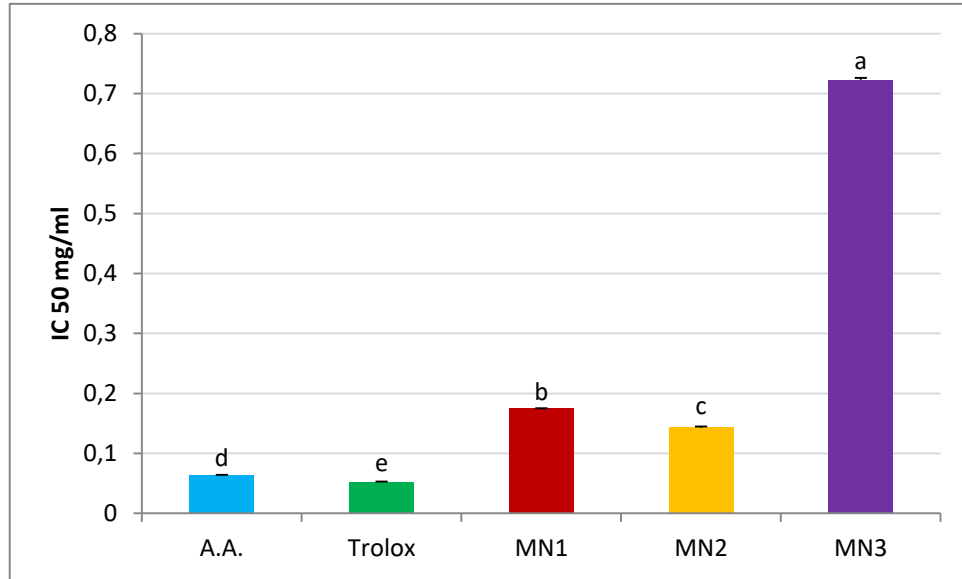
Şekil 3.4. Ekstraktların troloks standart eğri grafiğine göre DPPH analiz sonuçları

Örneklerin IC₅₀ sonuçlarının değerlendirmesinin yapılabilmesi amacıyla standart olarak askorbik asit ve troloks analiz edilip değerlendirildi. Sonuçlar hem tablo (Tablo 3.6.) hemde sütun grafiği (Şekil 3.5.) ile verildi. MN2'in sergilemiş olduğu IC₅₀ değeri ile en verimli ekstrakt oldu.

Tablo 3.6. Ekstraktların ve standartların DPPH analizi IC₅₀ sonuçları

Örnekler	IC ₅₀ (mg/ml)
MN1	0.1725±0.0002 ^b
MN2	0.1430±0.0019 ^c
MN3	0.7227±0.0033 ^a
Askorbik asit	0.0642±0.0002 ^d
Troloks	0.0527±0.0002 ^e

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı. Meyve ekstraktlarının DPPH sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.



Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. A.A.: Askorbik asit, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının DPPH sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Şekil 3.5. Ekstraktların ve standartların DPPH analizi IC₅₀ sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi

3.4.2. ABTS Radikali Yakalama Yöntemi Analiz Sonuçları

Yapılan çalışmada *Morus nigra* L. meyvelerinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan ABTS radikali yakalama analizi sonuçları standart eğri grafiği kullanılarak ve IC₅₀ ölçütü ile değerlendirildi. Örneklerin antioksidan aktiviteleri tablo 3.7’de şematize edildi.

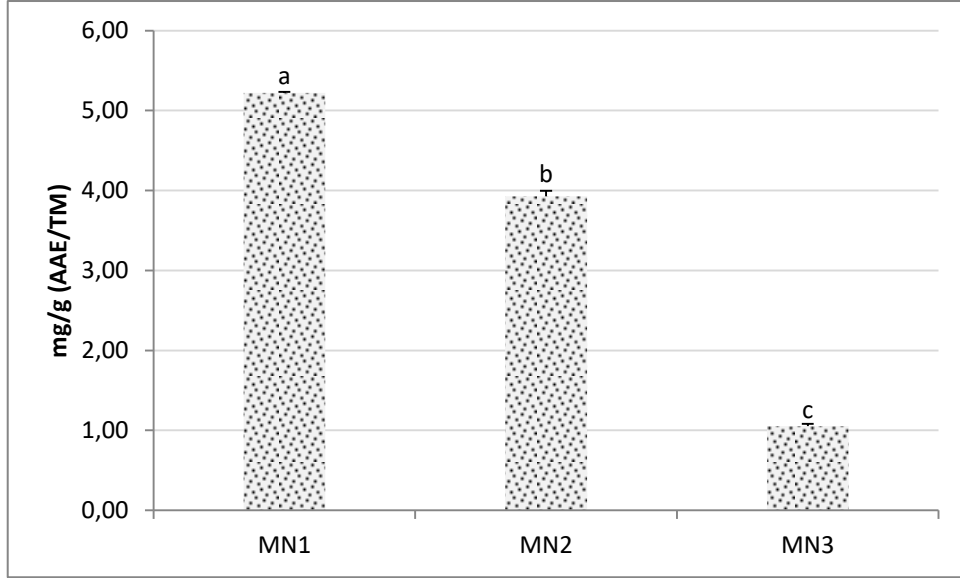
Tablo 3.7. Ekstraktların standart grafik eğrilerine göre ABTS analiz sonuçları

Ekstraktlar	mg/g (AAE/TM)	mg/g (TE/TM)
MN1	5.22±0.01 ^a	4.36±0.15 ^a
MN2	3.93±0.07 ^b	3.45±0.24 ^b
MN3	1.05±0.03 ^c	1.09±0.08 ^c

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. AAE: Askorbik asit eşdeğeri, TE: Troloks eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının ABTS sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan’ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

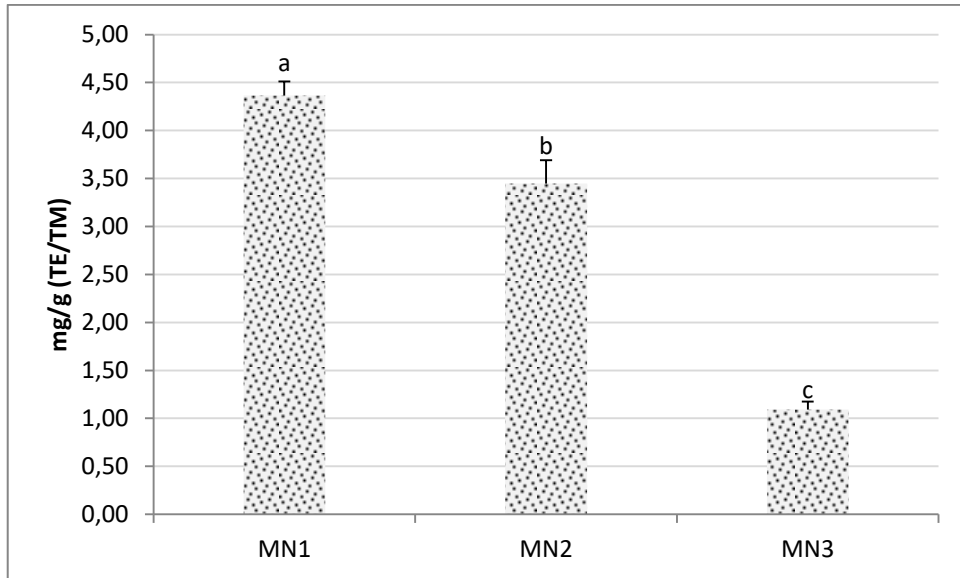
Ayrıca sonuçlar, kullanılan standartlar, askorbik asit ve troloksdan faydalanılarak askorbik asit eşdeğeri (Şekil 3.6.) ve troloks eşdeğeri (Şekil 3.7.) biçiminde sütun grafiği olarak verildi. Hem askorbik asit eşdeğeri hem de troloks eşdeğeri açısından bakımından MN1 en yüksek ABTS radikali süpürme kapasitesine sahip ekstrat olarak tespit edildi. MN3 ABTS radikali süpürme kapasitesi ise en verimsiz ekstrak olarak belirlendi.



Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ile gösterildi. AAE: Askorbik asit eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının ABTS sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Şekil 3.6. Ekstraktların askorbik asit standart eğri grafiğine göre ABTS analiz sonuçları



Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ile gösterildi. TE: Troloks eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının ABTS sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

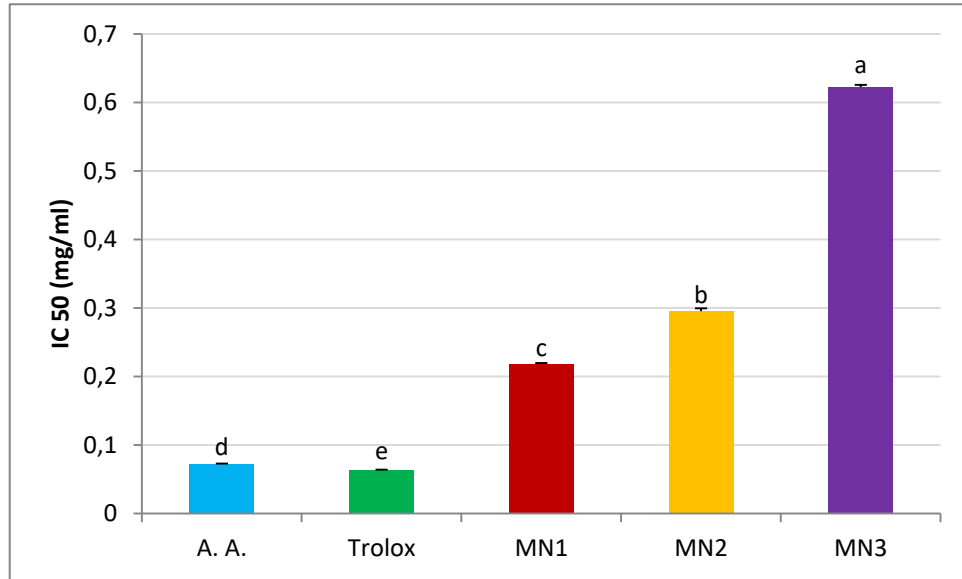
Şekil 3.7. Ekstraktların troloks standart eğri grafiğine göre ABTS analiz sonuçları

Karadut ekstraktlarının antioksidan kapasite sonuçları, IC_{50} değerlendirmesi olarak Tablo 3.8’de ve Şekil 3.8’de verildi. IC_{50} sonuçları baz alınarak incelendiğinde MN1 ve MN2’nin ABTS radikali süpürme kapasitesinin, standart olarak kullanılan troloks ve askorbik asitin kapasitesine yakın olduğu belirlendi.

Tablo 3.8. Ekstraktların ve standartların ABTS analizi IC_{50} sonuçları

Örnekler	IC_{50} (mg/ml)
MN1	0.2182 ± 0.0016^c
MN2	0.2951 ± 0.0043^b
MN3	0.6222 ± 0.0033^a
Askorbik asit	0.0728 ± 0.0002^d
Troloks	0.0641 ± 0.0001^e

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ile gösterildi. TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı. Meyve ekstraktlarının ABTS sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan’ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.



Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ile gösterildi. TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı. Meyve ekstraktlarının ABTS sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan’ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Şekil 3.8. Ekstraktların ve standartların ABTS analizi IC_{50} sonuçlarının sütun grafiği ile gösterimi

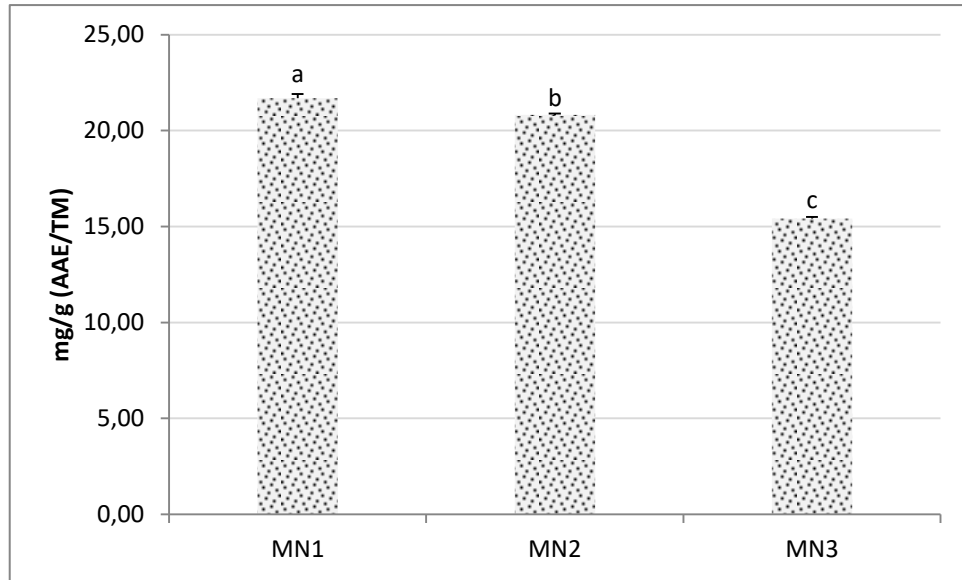
3.4.3. Toplam Antioksidan Kapasite Yöntemi Analiz Sonuçları

Karadut meyve örneklerinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi amacıyla kullanılan diğer bir yöntem olan fosfomolibden analiz sonuçları Tablo 3.9’da ve Şekil 3.9’da askorbik eşdeğeri olarak hesaplandı. MN1 ve MN2 toplam antioksidan kapasite açısından benzer sonuçlar sergiledi ancak istatistiki açıdan MN1en yüksek sonucu gösterirken MN3 en verimsiz ekstrak olarak belirlendi.

Tablo 3.9. Ekstraktların grafik eğrisine göre toplam antioksidan kapasite analiz sonuçları

Ekstraktlar	mg/g (AAE/TM)
MN1	21.70±0.21 ^a
MN2	20.83±0.06 ^b
MN3	15.41±0.10 ^c

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. AAE: Askorbik asit eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı. Meyve ekstraktlarının fosfomolibden sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan’ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.



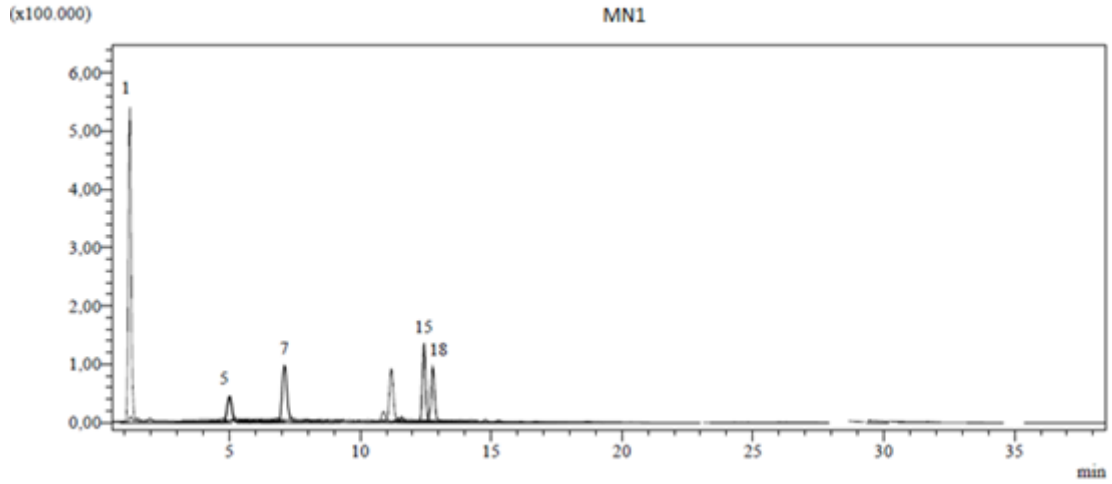
Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. AAE: Askorbik asit eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının fosfomolibden sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan’ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Şekil 3.9. Ekstraktların askorbik asit standart eğri grafiğine göre toplam antioksidan kapasite analiz sonuçları

4.5. Polifenolik Bileşik İçerik Analiz Sonuçları

Total fenolik, total flavonoid ve toplam antioksidan analizleri sonucunda en verimli ekstrakt olarak belirlenen MN1 kullanılarak polifenolik içerik analizi yapıldı. LC-MS/MS sisteminden elde edilen MN1'e ait kromatogram Şekil 3.10'da verildi.



1: Kuinik asit, 5: Protokateşik asit, 7: Klorojenik asit, 15: Rutin, 18: Hesperetin

Şekil 3.10. LC-MS/MS sisteminden elde edilen MN1'e ait kromatogram

LC-MS/MS sisteminden elde edilen veriler, mg/g taze meyve olarak hesaplandı ve sonuçlar Tablo 3.10'da şematize edildi.

Tablo 3.10. MN1 ekstresi polifenolik içerik analiz sonuçları

Polifenolik bileşik	mg/g TM	Polifenolik bileşik	mg/g TM
Kuiniik asit	8.429±0.010	Rosmarinik asit	*
Malik asit	*	Nikotiflorin	*
Fumarik asit	*	<i>o</i> -Kumarik asit	*
Gallik asit	*	Apigenin 7-O-neohesperidozit	*
Protokateşik asit	0.007±0.001	Kuersitrin	*
Pirokateşol	*	Apigetrin	*
Klorojenik asit	0.044±0.004	Kumarin	*
4-OH-benzoik asit	*	Mirisetin	*
Vanilik asit	*	Fisetin	*
Kafeik asit	*	Sinnamik asit	*
Sirinjik asit	*	7,4'-Dihidroksiflavanon	*
Vanilin	*	Kuersetin	*
Salisilik asit	*	Luteolin	*
<i>p</i> -Kumarik asit	*	Narinjenin	*
Rutin	0.017±0.001	Apigenin	*
Ferulik asit	*	Hesperetin	0.013±0.001
Sinapinik asit	*	Kamferol	*
Hesperidin	*	Krisin	*
İzokuersitrin	*		

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. TM: Taze meyve

*: Tespit edilmedi.

4.6. Dut Ekstraktlarının Antimikrobiyal Özelliklerinin ve Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi

4.6.1. Disk Difüzyon Yöntemi Analiz Sonuçları

Dut ekstraktlarının ve pozitif kontrol olarak seçilen kloramfenikolun, novobiosinin, nalidiksik asitin, gram pozitif bakteriler (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecium* DSMZ 13590, Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Listeria monocytogenes* ATCC7644), gram negatif bakteriler (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 35150, *Proteus vulgaris* FMC 1) ve maya-küf (*Candida tropicalis* ATCC 13803, *Aspergillus flavus* ATCC

46283) olarak seçilen test mikroorganizmalarıyla yapılan antimikrobiyal analiz sonuçları Tablo 3.11’de şematize edildi.

Tablo 3.11. Ekstraktların patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisi

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zonu (mm)					
	MN1	MN2	MN3	Nov.	Klor.	Nal.
Gram pozitif bakteriler						
<i>Enterococcus faecalis</i>	10.84±0.09	10.24±0.12	9.59±0.04	14.66±0.22	14.88±0.12	14.21±0.17
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.10±0.15	11.33±0.12	10.30±0.06	15.09±0.18	15.41±0.17	15.05±0.24
<i>Enterococcus faecium</i>	10.26±0.05	10.19±0.13	10.24±0.03	14.39±0.15	15.01±0.10	14.56±0.46
<i>Bacillus cereus</i>	9.50±0.15	9.50±0.11	9.90±0.05	14.73±0.15	14.74±0.17	14.54±0.18
<i>Listeria monocytogenes</i>	9.55±0.10	9.12±0.07	8.90±0.04	15.05±0.19	14.52±0.28	14.44±0.21
Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>	8.91±0.14	8.82±0.07	8.59±0.03	13.23±0.22	13.15±0.18	13.23±0.22
Gram negatif bakteriler						
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10.21±0.11	10.09±0.09	11.39±0.08	14.43±0.11	14.50±0.15	14.47±0.16
<i>Yersinia enterocolitica</i>	8.86±0.11	8.42±0.06	8.17±0.17	13.80±0.22	14.10±0.23	13.47±0.20
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9.20±0.06	9.02±0.06	8.82±0.05	14.80±0.13	14.74±0.10	14.45±0.12
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	9.83±0.11	10.73±0.05	10.25±0.10	14.47±0.17	14.84±0.12	14.27±0.17
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10.36±0.13	9.30±0.06	9.04±0.07	14.87±0.10	14.71±0.15	14.19±0.23
<i>Proteus vulgaris</i>	10.11±0.14	9.87±0.10	9.55±0.09	14.83±0.18	14.94±0.19	14.18±0.16
Maya ve Küf						
<i>Candida tropicalis</i>	11.97±0.12	9.79±0.03	9.91±0.04	-	-	-
<i>Aspergillus flavus</i>	10.58±0.13	9.25±0.06	9.05±0.10	-	-	-

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı, Nov.: Novobiosin, Klor.: Kloramfenikol, Nal.: Nalidiksik asit.
-: Çalışılmadı.

3.6.2. Dut Ekstraktlarının Antimikrobiyal MIC ve MBC Sonuçları

Karadut meyve ekstraktları ve seçilen ticari antimikrobiyal ajanların test mikroorganizmalarına karşı göstermiş oldukları antimikrobiyal MIC değerleri Tablo 3.12’de ve ekstraktlarını MBC değerleri Tablo 3.13’te gösterildiği biçimde tespit edildi. 3 tekerrürlü yapılan analiz sonuçları birbirini desteklemektedir.

Tablo 3.12. Ekstraktlar ve antibiyotiklerin patojen mikroorganizmalara karşı MIC değerleri

Mikroorganizmalar	Konsantrasyon (mg/ml)					
	MN1	MN2	MN3	Novobiosin	Kloramfenikol	Nalidiksik Asit
Gram pozitif bakteriler						
<i>Enterococcus faecalis</i>	4.1	2.05	0.256	0.016	0.016	0.016
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.2	8.2	8.2	0.128	0.128	0.064
<i>Enterococcus faecium</i>	4.1	2.05	1.025	0.001	0.004	0.064
<i>Bacillus cereus</i>	8.2	8.2	8.2	0.016	0.016	0.032
<i>Listeria monocytogenes</i>	8.2	8.2	0.512	0.016	0.016	0.032
Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>	1.25	2.05	4.1	0.001	0.032	0.032
Gram negatif bakteriler						
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.1	4.1	4.1	0.001	0.004	0.032
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4.1	4.1	4.1	0.032	0.032	0.064
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4.1	4.1	4.1	0.032	0.032	0.128
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	8.2	8.2	8.2	0.128	0.064	0.128
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	8.2	8.2	8.2	0.064	0.016	0.064
<i>Proteus vulgaris</i>	2.05	2.05	2.05	0.064	0.032	0.032
Maya ve Küf						
<i>Candida tropicalis</i>	8.2	8.2	8.2	0.008	0.016	0.032
<i>Aspergillus flavus</i>	8.2	8.2	8.2	0.008	0.016	0.064

MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Tablo 3.13. Ekstraktların patojen mikroorganizmlara karşı MBC değerleri

Mikroorganizmalar	Konsantrasyon (mg/ml TM)		
	MN1	MN2	MN3
Gram pozitif bakteriler			
<i>Enterococcus faecalis</i>	4.1	4.1	0.512
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.2	8.2	8.2
<i>Enterococcus faecium</i>	4.1	4.1	2.05
<i>Bacillus cereus</i>	8.2	8.2	8.2
<i>Listeria monocytogenes</i>	8.2	8.2	1.025
Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>	2.05	4.1	4.1
Gram negatif bakteriler			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.1	4.1	4.1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4.1	4.1	4.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4.1	4.1	4.1
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	8.2	8.2	8.2
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	8.2	8.2	8.2
<i>Proteus vulgaris</i>	4.1	4.1	4.1
Maya ve Küf			
<i>Candida tropicalis</i>	8.2	8.2	8.2
<i>Aspergillus flavus</i>	8.2	8.2	8.2

MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı, TM: Taze meyve.

4.6.3. Dut Ekstraktının Antibiyotiklerle Olan Sinerjisinin Belirlenmesi

Dut ekstraktları ile nalidiksik asit, novobiosin ve kloramfenikol arasında herhangi bir sinerjinin olup olmadığının tespiti maksadıyla, *Enterococcus faecium* DSMZ 13590, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşları test mikroorganizmaları olarak kullanıldı. Checkboard yöntemi ile belirlenen sinerjik aktivite

tayini sonuçları ile belirlenen FICI değerleri Tablo 3.14’te gösterildi. 3 tekerrürlü yapılan analiz sonuçları birbirini desteklemektedir.

Tablo 3.14. Ekstrakt ve antibiyotik kombinasyonu FICI değerleri

Kombinasyonlar	Mikroorganizmalar		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
MN1/Nov.	0.25	0.25	0.5
MN2/Nov.	0.25	0.25	0.25
MN3/Nov.	0.06	0.12	1
MN1/Klor.	0.5	1	1
MN2/Klor.	1	1	2
MN3/Klor.	0.06	0.06	0.12
MN1/Nal.	0.5	2	1
MN2/Nal.	0.5	2	2
MN3/Nal.	0.03	1	2

MN1/Nov.: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı ve novobiosin kombinasyonu, MN1/Klor.: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı ve kloramfenikol kombinasyonu, MN1/Nal.: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı ve nalidiksik asit kombinasyonu, MN2/Nov.: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı ve novobiosin kombinasyonu, MN2/Klor.: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı ve kloramfenikol kombinasyonu, MN2/Nal.: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı ve nalidiksik asit kombinasyonu, MN3/Nov.: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı ve novobiosin kombinasyonu, MN3/Klor.: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı ve kloramfenikol kombinasyonu, MN3/Nal.: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı ve nalidiksik asit kombinasyonu

4. TARTIŞMA

Tez çalışması kapsamında meyve örneklerinin ortalama ağırlığı 4.61 g olarak tespit edildi ve Türkiye’de yetişen karadut örnekleri üzerinde daha önceden yapılan çalışmalarda; 4.37 g (Ercişli ve Orhan, 2007), Tk No. 1: 4.50, Tk No. 2: 4.13, Tk No. 3: 5.72, Tk No. 4: 4.92, Tk No. 5: 3.02 (Güneş ve Çekiç, 2004) (Tk No. 1, 2, 3, 4, 5 farklı karadut genotiplerini ifade etmektedir.) olarak elde edilen veriler ile mukayese edildiğinde Elazığ’dan toplanan karadut meyvelerinin ortalama ağırlığın üzerinde bir ağırlığa sahip olduğu görüldü.

Karadut örneklerin pH’sını; Ercişli ve Orhan (2007) 3.52, Aljane and Sdiri (2016) 5.56, Yılmaz vd. (2012) ise Erzincan karadut 16; 3.10, Kemaliye karadut 9; 2.19, Gümüşhacı karadut 8; 2.28, Hikmet 1; 3.29 olarak rapor etmişlerdir. Bu çalışma kapsamında yapılan ölçümde meyvelerin pH değeri 3.66 olarak tespit edildi.

Tez çalışmasında kullanılan meyve örneklerinin toplam kuru madde ağırlığı %24.17 olarak tespit edildi. Karadut meyve örneklerinin toplam kuru madde miktarını; Ercişli ve Orhan (2007) %27.4, Güneş ve Çekiç (2004) Tk No. 1: %14.68, Tk No. 2: %19.18, Tk No. 3: %15.42, Tk No. 4: %16.64, Tk No. 5: %13.84 olarak rapor etmişlerdir. Bu sonuçlarla karşılaştırılma yapıldığında Elazığ ilinde yetişen karadut meyvelerinin söz konusu olan bu parametre bakımından ortalamanın üzerinde bir değere sahip olduğu söylenebilir.

Bu tez çalışması kapsamında Elazığ’da yetişen karadut bitkisi, meyve kalitesinin bir göstergesi olan pomolojik özellikler bakımından incelendi. Literatürle mukayese edildiğinde ise örneklerin yüksek kalitede olduğu belirlendi.

Çalışma kapsamında yapılan analiz sonucu örneklerin toplam polifenol seviyeleri MN1 2.54 ± 0.11^a , MN2 1.79 ± 0.09^b , MN3 1.54 ± 0.04^c mg/g (GAE/TM) olarak ölçüldü. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu açısından en iyi sonuç MN1’de görüldü. Özgen vd.nin (2009) rapor ettiğine göre, Kafkas vd.nin (2008) listelemiş olduğu 14 karadut genotipinin total polifenol seviyeleri 1.77 ± 0.1 ile 3.49 ± 0.13 mg/g (GAE/TM) olarak belirlenmiştir. Ayrıca Ercişli vd.nin (2010) dört farklı karadut genotipi üzerinde yaptığı çalışmada 1.83 ile 2.49 mg/g (GAE/TM) arasında toplam polifenol değerleri rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmalarla mukayese edilince MN1’in yüksek bir polifenol içeriğe sahip olduğu ancak MN3’ün verimsiz ekstrakt olduğu anlaşıldı.

Yapılan literatür taraması sonucu, *Morus nigra* L. meyve örneklerinin toplam flavonoid seviyelerini Ercişli ve Orhan'ın (2007) 2.76, Mahmoud vd.nin (2014) 2.56 mg/g (QE/TM) olarak tespit ettiği görüldü. Bu çalışma kapsamında, MN1; 0.35 ± 0.002^a , MN2; 0.23 ± 0.01^b , MN3; 0.15 ± 0.01^c mg/g (QE/TM) olarak tespit edilen toplam flavonoid değerlerinin daha önceden rapor edilen sonuçlara göre düşük çıktığı görüldü.

Tez çalışması kapsamında örneklerin antioksidan kapasitelerini belirlemek amacıyla sıkça kullanılan DPPH radikali yakalama yöntemi, ABTS radikali yakalama yöntemi ve ayrıca çok fazla değişkene bağımlı olmadan gerçekleşen reaksiyona sahip olması nedeniyle fosfomolibden yöntemi kullanıldı. Antioksidan analiz sonuçları Tablo 4.1'de şematize edildi.

Tablo 4.1. Antioksidan aktivite analiz sonuçları

	DPPH			ABTS			TAK
	mg/g (AAE/TM)	mg/g (TE/TM)	IC ₅₀ (mg/ml)	mg/g (AAE/TM)	mg/g (TE/TM)	IC ₅₀ (mg/ml)	mg/g (AAE/TM)
MN1	6.96 ± 0.36^a	6.63 ± 0.36^b	0.1725 ± 0.0002^b	5.22 ± 0.01^a	4.36 ± 0.15^a	0.2182 ± 0.0016^c	21.70 ± 0.21^a
MN2	6.47 ± 0.22^a	7.25 ± 0.49^a	0.1430 ± 0.0019^c	3.93 ± 0.07^b	3.45 ± 0.24^b	0.2951 ± 0.0043^b	20.83 ± 0.06^b
MN3	1.08 ± 0.01^b	1.03 ± 0.02^c	0.7227 ± 0.0033^a	1.05 ± 0.03^c	1.09 ± 0.08^c	0.6222 ± 0.0033^a	15.41 ± 0.10^c
A.A.			0.0642 ± 0.0002^d			0.0728 ± 0.0002^d	
Troluks			0.0527 ± 0.0002^e			0.0641 ± 0.0001^e	

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ile gösterildi. TAK: Toplan antioksidan kapasite, A.A.: Askorbik asit, AAE: Askorbik asit eşdeğeri, TE: Troluks eşdeğeri, TM: Taze meyve, MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı.

Meyve ekstraktlarının analiz sonuçları arasındaki farklılıklar Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi ve $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Ercişli vd. (2010) dört farklı karadut genotipi üzerinde yaptıkları çalışmada örneklerin DPPH analiz sonuçlarını 4.06 ile 5.30 mg/g (TE/TM) olarak rapor etmişlerdir. Li vd.ne (2018) göre ise karadut örneklerinin antioksidan kapasiteleri DPPH radikali yakalama yöntemi ile 6.43 mg/g (AAE/TM) olarak bulunmuştur. Jelled vd. (2017) ise aynı iklimik etmenler altında fakat farklı bölgelerde yetişen dört karadut örneğinin antioksidan kapasitelerini IC₅₀ parametresine göre değerlendirmiştir ve DPPH radikali yakalama

analizi için, 1.1 ± 0.9 ile 6.11 ± 0.27 mg/ml olarak rapor etmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise Özgen vd. (2009), Kafkas vd.nin (2008) listelemiş olduğu 14 karadut genotipinin ABTS radikali yakalama analiz sonuçlarını 1.70 ile 3.60 mg/g (TE/TM) olarak rapor etmişlerdir. Li vd.ne (2018) göre ise karadut örneklerinin antioksidan kapasiteleri ABTS radikali yakalama yöntemi ile 2.51 mg/g (AAE/TM) olarak ölçülmüştür. Jelled vd. (2017) ise aynı iklimatik etmenler altında fakat farklı bölgelerde yetişen dört karadut örneğinin antioksidan kapasitelerini IC_{50} metoduna göre değerlendirip ABTS radikali yakalama metodu için, 3.00 ± 0.01 ile 6.50 ± 0.07 mg/ml olarak rapor etmişlerdir.

Daha önceden farklı zamanlarda, farklı veya aynı genotipe ait ve farklı lokasyonlarda yetişen karadut örnekleri üzerine yapılan çalışmalarla bu çalışma kapsamında çalışılan örnekler mukayese edildiği zaman MN1'in en iyi antioksidan etkiye sahip olduğu görülmektedir. MN2'nin ise üst limitlerde bir etkiye sahip olduğu belirlendi. MN3'ün ise toplam fenolik ve toplam flavonoid analiz sonuçlarına paralel olarak düşük bir antioksidan kapasite değerleri sergilediği görüldü.

Literatürde karadut bitkisine ait taze meyvelerin antioksidan kapasitesinin toplam antioksidan kapasite yöntemiyle belirlendiği fazla çalışma bulunamadığı için detaylı bir mukayese yapılamadı. Ancak Özden ve Özden'in (2014) *Morus nigra* L. meyvelerinin toplam antioksidan kapasite yöntemiyle antioksidan kapasitesini 1.8 mg/g (AAE/TM) olarak tespit ettiği çalışmayla bu tez çalışması kapsamında elde edilen 21.70 ± 0.21^a , 20.83 ± 0.06^b 15.41 ± 0.10^c mg/g'lık (AAE/TM) (sırasıyla; MN1, MN2, MN3) sonuçlar karşılaştırıldı. Karşılaştırma yapıldığında bu çalışma kapsamında elde edilen örneklerin antioksidan kapasite değerlerinin yüksek olduğu görüldü.

LC-MS/MS sistemi ile MN1'de yapılan polifenolik içerik analiz sonucunda; kinik asit (8.429 ± 0.010 mg/g TM), protokateşik asit (0.007 ± 0.001 mg/g TM), klorojenik asit (0.044 ± 0.004 mg/g TM), rutin (0.017 ± 0.001 mg/g TM), hesperetin (0.013 ± 0.001 mg/g TM), olmak üzere beş adet sekonder metabolit tanımlanıp miktar analizi yapıldı. Karadut meyvelerini polifenolik içerik kompozisyonunun ve miktarının belirlenmesi kapsamında literatür taraması yapıldı. MN1'de yüksek seviyede tespit edilen kinik asit'in radyasyondan koruyucu, antidiyabetik, antinörenflamatuvar, antioksidan etki gösterdiği bilinmektedir (Cinkilic vd., 2013; Arya vd., 2014; Lee vd., 2013; Pero vd., 2009; Yoshimura vd., 2016). Tez çalışması kapsamında elde edilen yüksek antioksidan aktivite ve kapasite sonuçlarının kinik asitten kaynaklandığı söylenebilir. Ayrıca Memon vd. (2010) taze meyvelerin polifenolik bileşik içeriğini; protokateşik asit (0.3166 ± 0.001 mg/g), klorojenik asit

(0.0441±0.031 mg/g) şeklinde rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise Gündoğdu vd. (2011) taze meyvelerin polifenolik içeriklerini belirlemişlerdir ve klorojenik asit (0.3106±0.0004), protokateşik asit (0.0017±0.0001 mg/g), ve rutin (0.1423±0.0036 mg/g) olarak rapor etmişlerdir.

Bu çalışma kapsamın *Morus nigra* L. bitkisinin taze meyve örneklerinden elde edilen üç farklı ekstraktın test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkileri, MIC ve MBC değerleri belirlendi.

MN1, MN2 ve MN3 ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları antibakteriyel inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Enterococcus faecalis* için 10.84±0.09, 10.24±0.12, 9.59±0.04; *Staphylococcus aureus* için 11.10±0.15, 11.33±0.12, 10.30±0.06; *Enterococcus faecium* için 10.26±0.05, 10.19±0.13, 10.24±0.03; *Bacillus cereus* için 9.50±0.15, 9.50±0.11, 9.90±0.05; *Listeria monocytogenes* için 9.55±0.10, 9.12±0.07, 8.90±0.04; MRSA için 8.91±0.14, 8.82±0.07, 8.59±0.03; *Pseudomonas aeruginosa* için 10.21±0.11, 10.09±0.09, 11.39±0.08; *Yersinia enterocolitica* için 8.86±0.11, 8.42±0.06, 8.17±0.17; *Klebsiella pneumoniae* için 9.20±0.06, 9.02±0.06, 8.82±0.05; *Vibrio parahaemolyticus* için 9.83±0.11, 10.73±0.05, 10.25±0.10; *Escherichia coli* O157:H7 için 10.36±0.13, 9.30±0.06, 9.04±0.07; *Proteus vulgaris* için 10.11±0.14, 9.87±0.10, 9.55±0.09; *Candida tropicalis* için 11.97±0.12, 9.79±0.03, 9.91±0.04; *Aspergillus flavus* için 10.58±0.13, 9.25±0.06, 9.05±0.10 mm olarak tespit edildi. Yapılan literatür taraması sonucu tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçların mukayese edilebileceği çapta çalışmanın olmamasına rağmen Dimitrova vd. (2014) yaptıkları çalışmada agar difüzyon yöntemi ile karadut meyvelerinin antimikrobiyal etkinliklerini *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*'ye karşı test ettiklerini ve sırasıyla 12, 6, 11 mm'lik zon çapları belirlediklerini rapor etmişlerdir. Tez çalışması kapsamında kullanılan ekstraktların *Staphylococcus aureus*'a karşı göstermiş olduğu antimikrobiyal etkinin dikkate değer olduğu görülmektedir. Başka bir çalışmada ise Yiğit ve Yiğit (2008), karadut meyvelerinin metanolik ekstraktlarının antimikrobiyal etkisini; *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* için 10 mm zon çapı olarak belirlemişlerdir. *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı ise antimikrobiyal bir aktivite belirlemediklerini rapor etmişlerdir. Tez çalışmasında ise *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktivite tespit edildi.

Meyve ekstraktlarının seçilen test mikroorganizmalarına karşı göstermiş oldukları MIC ve MBC değerleri Tablo 4.2'de şematize edildi.

Tablo 4.2. Ekstraktların patojen mikroorganizmalara karşı MIC ve MBC değerleri

Mikroorganizmalar	Konsantrasyon (mg/ml TM)					
	MIC			MBC		
Gram pozitif bakteriler	MN1	MN2	MN3	MN1	MN2	MN3
<i>Enterococcus faecalis</i>	4.1	2.05	0.256	4.1	4.1	0.512
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2
<i>Enterococcus faecium</i>	4.1	2.05	1.025	4.1	4.1	2.05
<i>Bacillus cereus</i>	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2
<i>Listeria monocytogenes</i>	8.2	8.2	0.512	8.2	8.2	1.025
Metisilin direçli <i>Staphylococcus aureus</i>	1.25	2.05	4.1	2.05	4.1	4.1
Gram negatif bakteriler						
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2
<i>Proteus vulgaris</i>	2.05	2.05	2.05	4.1	4.1	4.1
Maya ve Küf						
<i>Candida tropicalis</i>	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2
<i>Aspergillus flavus</i>	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2

MN1: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı, MN2: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı, MN3: *Morus nigra* L. etil asetat ekstraktı, TM: Taze meyve.

Yapılan literatür taraması sonucunda; Yiğit ve Yiğit'in (2008), karadut meyvelerinin metanolik ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı 0.625 mg/ml'lik MIC değeri gösterdiğini rapor etmişlerdir. Ancak bu tez çalışması kapsamında yapılan analizde kullanılanın yarısı kadar mikroorganizma kullandıkları görüldü.

Literatürde, karadut meyvelerini konu alan çalışmalar incelendiğinde; kullanılan metotların farklı olması veya farklı modifikasyonların uygulanması ve seçilen test mikroorganizmalarının farklılığı nedeniyle sağlıklı bir karşılaştırma yapılamadı. Ancak tez çalışmasında kullanılan ekstraktların genel olarak yüksek MIC ve MBC değerleri yani düşük antimikrobiyal aktivite sergiledikleri tespit edildi. Ekstraktlar arası karşılaştırma yapıldığında ise MN3'ün diğer iki ekstrakta nazaran daha düşük değerler sergilediği görüldü.

Ekstraktların antibiyotiklerle sinerjilerinin belirlenmesi amacıyla novobiosin, kloramfenikol ve Nalidiksik asit seçildi. Test mikroorganizmaları olarak ise *P. aeruginosa*, MRSA ve *Enterococcus faecium* tercih edildi. Ekstrakt ve seçilen antibiyotik kombinasyonlarının test mikroorganizmalarına karşı göstermiş oldukları MIC değerleri

kullanılarak FICI değerleri hesaplandı. FICI değerlerinin yorumlanması Van Vuuren ve Viljoen'nin (2011) belirlemiş olduğu limitlere gre yapıldı (Tablo 4.3.).

Tablo 4.3. Ekstrakt ve antibiyotik kombinasyonlarının gsterdiği sinerjizm

Kombinasyonlar	Mikroorganizmalar		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
MN1/Nov.	t.s.	t.s.	t.s.
MN2/Nov.	t.s.	t.s.	t.s.
MN3/Nov.	t.s.	t.s.	k.s.
MN1/Klor.	t.s.	k.s.	k.s.
MN2/Klor.	k.s.	k.s.	s.e.o.
MN3/Klor.	t.s.	t.s.	t.s.
MN1/Nal.	t.s.	s.e.o.	k.s.
MN2/Nal.	t.s.	s.e.o.	s.e.o.
MN3/Nal.	t.s.	k.s.	s.e.o.

MN1/Nov.: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı ve novobiosin kombinasyonu, MN1/Klor.: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı ve kloramfenikol kombinasyonu, MN1/Nal.: *Morus nigra* L. etanol ekstraktı ve nalidiksik asit kombinasyonu, MN2/Nov.: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı ve novobiosin kombinasyonu, MN2/Klor.: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı ve kloramfenikol kombinasyonu, MN2/Nal.: *Morus nigra* L. metanol ekstraktı ve nalidiksik asit kombinasyonu, MN3/Nov.: *Morus nigra* L.etil asetat ekstraktı ve novobiosin kombinasyonu, MN3/Klor.: *Morus nigra* L.etil asetat ekstraktı ve kloramfenikol kombinasyonu, MN3/Nal.: *Morus nigra* L.etil asetat ekstraktı ve nalidiksik asit kombinasyonu, t.s.: tam sinerjizm, k.s.: kısmi sinerjizm, s.e.o.: sinerjistik etkinin olmaması.

Yapılan literatür taraması sonucunda *Morus nigra* L. meyvelerinin antibiyotiklerle sinerjistik etkisini irdeleyen çalışma bulunamadı. Tez alışması ile elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde ise MN3/Nov. kombinasyonunun *Enterococcus faecium*'a karşı göstermiş olduğu kısmi sinerjizm dışında ekstraktlar ve novobiosin arasında tam sinerjizm olduğu görüldü. Ayrıca ekstraktlar ve antibiyotikler arasındaki en iyi sinerjizm *P. aeruginosa*'ya karşı kaydedildi. Diğer yandan ekstraktlarla nalidiksik asit arasındaki sinerjizmin nispeten daha düşük olduğu görüldü.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışması ile birlikte yerel halk tarafından ağız yaraları ve boğaz enfeksiyonları gibi rahatsızlıkların tedavisi için geleneksel tıbbi bitki olarak kullanılan *Morus nigra* L. bitkisine ait meyveler teknolojik araçlar kullanılarak ve biyoteknolojik bir bakış açısıyla irdelendi. Meyve örneklerinin pomolojik, biyokimyasal özellikleri ve antimikrobiyal etkinlikleri farklı ekstraksiyonlar kullanılarak incelendi. Günümüzde bakterilerin ilaçlara karşı artan bir ivmeyle direnç kazanmaları ve buna karşın yeni antibiyotik sınıflarının keşfedilememesi, bu durumun dünya çapında bir halk sağlığı sorunu olma tehlikesini arttırmaktadır. Ayrıca sentetik ya da yarı sentetik antimikrobiyal ilaçların insanlar ve hayvanlar için toksisiteye sahip olmaları dikkate alınması ve aşılması gereken bir sorundur. Antibakteriyel direnç krizinin aşılması veya yönetilmesinde bitkilerin bir kaynak olarak kullanılması tez çalışmasının odak noktasını oluşturmaktadır.

- Bulunduğu coğrafik bölgeye göre daha farklı iklimatik özelliklere sahip olan Elazığ ilinden hasat zamanı toplanan meyvelerinin boy, en, ağırlık, pH ve renk gibi pomolojik özelliklerinin farklı olduğu görüldü. Tez çalışması kapsamında yapılan pomolojik ölçümler ve sonuçların değerlendirilmesi ile birlikte Elazığ'daki iklimsel koşulların, meyvelerin bu özellikleri bakımından yani meyve kalitesi üzerine pozitif bir etki gösterdiği yorumu yapılabilir.

- Tez çalışması kapsamında etanol, metanol ve etil asetat olmak üzere üç farklı çözücü kullanılarak ekstraksiyon yapıldı. Ekstraktlar, toplam polifenolik içerik ve toplam antioksidan kapasite analiz sonuçlarına göre karşılaştırıldığında etanol ile yapılan ekstraksiyonun en verimli meyve ekstraktı olduğu görüldü.

- Literatürle yapılan karşılaştırma sonucunda Elazığ'dan toplanan *Morus nigra* L. meyvelerinin toplam polifenolik içeriğinin yüksek olduğu görüldü.

- Tez kapsamında, DPPH radikali yakalama analizi, ABTS radikali yakalama analizi ve fosfomolibden yöntemi ile meyve örneklerinin antioksidan kapasiteleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar literatürle karşılaştırıldığında Elazığ'dan toplanan meyvelerin antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğu görüldü.

- Tez çalışmasında kullanılan meyveler, toplam polifenolik ve toplam antioksidan analiz sonuçlarına göre değerlendirildiğinde Elazığ'ın çevresine göre daha özel olan ikliminin meyvelerin kimyasal içeriğini olumlu yönde etkiliyor olabileceği sonucuna

varıldı. Ayrıca MN1 ekstraktının bu analizler kapsamında MN2 ve MN3 ekstraktlarına göre daha verimli olduğu belirlendi.

Bu çalışmanın da odağı olan antibakteriyal direnç tehlikesinin bertaraf edilmesi veya bunun yönetilebilir olması için bitkilerin iyi bir biyoaktif bileşen kaynağı olduğu düşünülmektedir. Ancak bitkiler veya bitkilerden elde edilen ekstraktlar, düşük antimikrobiyal aktivite ve yüksek MIC ve MBC değerlerine sahiptir. Bu sebepten dolayı bitkilerin tek başlarına kullanılmalarından ziyade mevcut antibiyotiklerle birlikte kullanılmalarının daha etkili olacağı düşünülmektedir. Dolayısıyla çalışma kapsamında meyve ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliklerinin araştırılmasına ilave olarak antibiyotiklerle herhangi bir sinerjistik etkilerinin olup olmadığı da araştırıldı.

- *Morus nigra* L. meyvelerinden elde edilen ekstraktlar ile patojenik mikroorganizmalara karşı yapılan analiz verilerinin değerlendirilmesi sonucunda; ekstraktlar arasında kayda değer bir farklılığın olmadığı görüldü. Bu sonuçlara göre meyvelerden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkinliğinin sadece polifenolik bileşik veya antioksidan maddelerden kaynaklanmıyor olabileceği yorumu yapılabilir.

- Meyve ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri, disk difüzyon yöntemi kullanılarak gram pozitif-negatif bakteriler ve maya-küfe karşı test edildi. Elde edilen sonuçlar meyve ekstraktlarının seçilen test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkinliklerinin antibiyotikler kadar yüksek olmadığını gösterdi.

- Bu çalışma kapsamında *Morus nigra* L. meyve ekstraktlarının MIC ve MBC değerleri belirlendi. Elde edilen MIC ve MBC değerleri halihazırda ticari olarak kullanılan antimikrobiyal ajanların değerleri ile mukayese edildi. Meyve ekstraktlarının MIC ve MBC değerlerinin beklendiği gibi yüksek olduğu görüldü.

- Meyve ekstraktları ile novobiosin, kloramfenikol ve nalidiksik asit arasındaki sinerjizmin belirlenmesi amacıyla yapılan analiz sonuçları değerlendirildiğinde, ekstraktlar ve seçilen antibiyotikler arasında yüksek oranda tam sinerjizmin olduğu görüldü.

Patojenik mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnç kazanmaları antibiyotik keşfinden itibaren devam eden bir olgudur. Antibiyotik ajanların bilinçsiz ve özellikle aşırı kullanımı mikroorganizmalar üzerinde bir baskı kurmaktadır ve bu baskı mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı direnç kazanmalarını hızlandırmaktadır. Bu duruma paralel olarak antibiyotik keşfinin altın döneminden sonra yeni antibiyotiklerin bulunmasının zorlaşması da endişe verici bir durum oluşturmaktadır. Antimikrobiyal

direnç krizinin yönetilebilir olabilmesi için antibiyotiklerin bilinçli ve mümkün olduğu kadar düşük dozlarda kullanımı hayati bir öneme sahiptir.

- Sinerjistik aktivite analizleri, meyve ekstraktlarının antibiyotiklerin MIC değerlerini düşürdüğünü gösterdi. Bu durum, meyve ekstraktlarının tedavide kullanılan antibiyotiklerin daha düşük dozlarda kullanılmasının sağlanabileceğini göstermektedir. Düşük doz antimikrobiyal ajan kullanımı hem toksisite riskini azaltabilir hem de mikroorganizmalar üzerindeki direnç kazanma baskısını azaltarak antimikrobiyal direnç sorununun yönetilebilir olmasına katkı sağlayabilir.

- Tez çalışması ile elde edilen sinerjistik aktivite analiz verileri, daha fazla sayıda antibiyotik ile farklı türdeki patojen mikroorganizmalara karşı daha geniş kapsamlı bir çalışma yapılmasına öncülük edebilecektir.

- *Morus nigra* L. meyve ekstraktları yüksek MIC değerleri sergilemelerine rağmen seçili antibiyotiklerle sinerji göstererek antibiyotiklerin MIC değerlerini düşürdüler. Bu durum, meyve ekstraktları bakteriyel direnci modifiye ederek antibiyotiklerin etkinliklerini arttırmıştır, şeklinde yorumlanabilir. Dolayısıyla antibakteriyel direnç nedeniyle klinik kullanımdan kalkan antibiyotiklerle yapılacak bir çalışma ile muhtemel kayda değer sonuçlar elde edilebilir. Bu durum, antibiyotik direncinden dolayı kullanımı olanaksız hale gelen antibiyotiklerin tekrar kullanıma sunulmasını sağlayabilecektir.

- Çalışma kapsamında *Morus nigra* L. meyve ekstraktlarının in vitro analizlerinden kayda değer veriler elde edilmesine rağmen bu sonuçların biyoteknolojik araçlarla daha detaylı ve ileri analizlerle canlı sistemlerde irdelenmesi gerekmektedir.

- Bu tez çalışması ile elde edilen sonuçların Türkiye’de geniş yayılım gösteren ancak endüstriyel kullanımı sınırlı olan karadut meyvelerinin ilaç sanayinde kullanımını sağlayarak ülkemize katma değer sağlayacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Adlercreutz, H. ve Mazur, W., 1997. Phyto-oestrogens and Western diseases, Annals of Medicine, 29, pp. 95-120.
- Aljane, F. ve Sdiri, N., 2016. Morphological, phytochemical and antioxidant characteristics of white (*Morus alba* L.), red (*Morus rubra* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits grown in arid regions of Tunisia, J. New Sci., 35, pp. 1940-1947.
- Almakia, A., Jumas-Bilak, E., Marchandin, H. ve Licznar-Fajardo, P., 2019. Antibiotic resistance in urban runoff, Science of The Total Environment, 667, pp. 64-76.
- Altundag, E. ve Ozturk, M., 2011. Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey Procedia Soc. Behav. Sci., 19, pp. 756-777.
- Andallu, B., Suryakantham, V., Lakshmi Srikanthi, B. ve Reddy, G.K., 2001. Effect of mulberry (*Morus indica* L.) therapy on plasma and erythrocyte membrane lipids in patients with type 2 diabetes, Clin. Chim. Acta, 314, pp. 47-53.
- Andreoni, N., 2005. Extraction of mulberry flavonoids for industrial and pharmacological use. in: First International Conference on Crop Wild Relative Conservation and Use, Agrigento, Sicily, Italy, p. 121.
- Ansari, S., Nepal, H.P., Gautam, R., Shrestha, S., Neopane, P., Rimal, B., Mandal, F., Ansari, S.R. ve Chapagain, M.L., 2014. Childhood septicemia in Nepal: documenting the bacterial etiology and its susceptibility to antibiotics. Int. J. Microbiol., p. 6.
- Arfken, A.M., Song, B. ve Sung, J.S., 2015. Comparison of airborne bacterial communities from hog farm and spray field, J. Microbiol. Biotechnol., 25, pp. 709-717.
- Arhin, F.F., Belley, A., Rafai Far, A., Lehoux, D. ve Moeck, G., 2012. Glycopeptides and Lipoglycopeptides, Antibiotic Discovery and Development, Dougherty, T.J. ve Pucci, M.J. (Eds.), 2, Springer, New York, pp. 301-346.
- Armstrong, E.S., Kostrub, C.F., Cass, R.T., Moser, H.E., Serio, A.W. ve Miller, G.H., 2012. Aminoglycosides, Antibiotic Discovery and Development, Dougherty, T.J. ve Pucci, M.J. (Eds.), 2, Springer, New York, pp. 229-269.
- Arya, A., Al-Obaidi, M.M.J., Shahid, N., Noordin, M.I.B., Looi, C.Y., Wong, W.F., Khaing, S.L. ve Mustafa, M.R., 2014. Synergistic effect of quercetin and quinic acid by alleviating structural degeneration in the liver, kidney and pancreas tissues of STZ-induced diabetic rats: a mechanistic study, Food and Chem. Toxicol., 71, pp. 183-196.
- Asımgil, A., 1997. Şifalı bitkiler, Timaş Yayınları, İstanbul.

- Avery, O.T. ve Dubos, R., 1930. The specific action of a bacterial enzyme on Pneumococci; of type III, Science, 72, pp. 151-152.
- Babior, B.M., 2004. NADPH oxidase, Curr Opin Immunol, 16 (1), pp. 42-7.
- Barbachyn, M.R., 2012. Oxazolidinone antibacterial agents, Antibiotic Discovery and Development, Dougherty, T.J. ve Pucci, M.J. (Eds.), 2, Springer, New York, pp. 271-299.
- Beara, I.N., Lesjak, M.M., Cetojevic-Simin, D.D., Marjanovic, Z.S., Ristic, J.D., Mrkonjic, Z.O. ve Mimica-Dukic, N.M., 2014. Phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities of black (*Tuber aestivum* Vittad.) and white (*Tuber magnatum* Pico) truffles, Food Chemistry, 165, pp. 460–466.
- Belšak-Cvitanović, A., Durgo, K., Huđek, A., Bačun-Družina, V. ve Komes, K., 2018. Overview of polyphenols and their properties. Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications, Galanakis C.M. (Ed.), Woodhead Publishing, Elsevier, United Kingdom, pp. 4-6.
- Benavides, J.E., Lachaux, M. ve Fuentes, M., 1994. Efecto de la aplicación de estiércol decabra en el suelo sobre la calidad y producción de biomasa de morera (*Morus* sp.), Arboles y arbustos forrajeros en América Central, 2, pp. 495–502.
- Bertelli, A., Bertelli, A.A.E., Gozzini, A. ve Giovannini, L., 1998. Plasma and tissue resveratrol concentrations and pharmacological activity, Drugs Under Experimental and Clinical Research, 24, pp. 133-138.
- Bhat, K.P. ve Pezzuto, J.M., 2002. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, Annals of the New York Academy of Sciences, 957, pp. 210-229.
- Blair, J.M., Webber, M.A., Baylay, A.J., Ogbolu, D.O. ve Piddock, L.J., 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance, Nat. Rev. Microbiol., 13, pp. 42-51.
- Bradford, P.A. ve Jones C.H., 2012 Tetracyclines, Antibiotic Discovery and Development, Dougherty, T.J. ve Pucci, M.J., (Eds.), 2, Springer, New York, pp. 147-179.
- Bravo, L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance, Nutrition Reviews, 56, pp. 317-333.
- Brown, D.G., May-Dracka, T.L., Gagnon, M.M. ve Tommasi, R., 2014, Trends and exceptions of physical properties on antibacterial activity for Gram-positive and Gram-negative pathogens, J. Med. Chem., 57, pp. 10144-10161.
- Brown, E.D. ve Wright, G.D., 2016. Antibacterial drug discovery in the resistance era, Nature, 529, pp. 336-343.
- Bryskier, A., 2005. Tetracyclines, Antimicrobial agents: antibacterials and antifungals, Bryskier, A. (ed.), ASM Press, Washington, DC, pp. 642-651.

- Butler, M.S., Blaskovich, M.A. ve Cooper, M.A., 2017. Antibiotics in the clinical pipeline at the end of 2015, J. Antibiot. (Tokyo), 70, pp. 3-24.
- Cadet, J., Douki, T. ve Ravanat J.L., 2010. Oxidatively generated base damage to cellular DNA, Free Radic. Biol. Med., 49, pp. 9–21.
- Cameron, M.D., Poyer, J.F. ve Aust, S.D., 2001. Identification of free radicals produced during phacoemulsification, J. Cataract Refract. Surg., 27 (3), pp. 463-70.
- Canica, M., Manageiro, V., Abriouel, H., Moran-Gilad, J. ve Franzg, C.M.A.P., 2019. Antibiotic resistance in foodborne bacteria, Trends in Food Science & Technology, 84, pp. 41-44.
- Chellat, M.F., Raguz, L. ve Riedl, R., 2016. Targeting Antibiotic Resistance, Angew Chem. (Int. Ed. Engl.), 55, pp. 6600-6626.
- Chen, C., You, L.J., Abbasi, A.M., Fu, X. ve Liu, R.H., 2015. Optimization for ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry fruits with antioxidant and hyperglycemic activity in vitro, Carbohydrate Polymers, 130, pp. 122-132.
- Cheynier, V., Tomas-Barberan, F.A. ve Yoshida, K., 2015. Polyphenols: from plants to a variety of food and nonfood uses, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63, pp. 7589-7594.
- Chukwujekwu, J.C. ve van Staden, J., 2016. In vitro antibacterial activity of *Combretum edwardsii*, *Combretum krausii* and *Maytenus nemorosa* and their synergistic effects in combination with antibiotics, Frontiers in Pharmacology, 7, p. 208.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards), 2007, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 17th Informational Supplement, M100-S17, 27: 1.
- Conceicao, T., Diamantino, F., Coelho, C., de Lencastre, H. ve Aires-de-Sousa, M., 2013. Contamination of public buses with MRSA in Lisbon, Portugal: a possible transmission route of major MRSA clones within the community, PLoS One; 8, e77812.
- Concepcion Porrero, M., Harrison, E.M., Fernandez-Garayzabal, J.F., Paterson, G.K., Diez-Guerrier, A., Holmes, M.A. ve Domínguez, L., 2014. Detection of mecC-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in river water: a potential role for water in the environmental dissemination, Environ Microbiol. Rep., 6, pp. 705-708.
- Connell, S., Li, J. ve Shi, R., 2013. Synergistic bactericidal activity between hyperosmotic stress and membranedisrupting nanoemulsions, J. Med. Microbiol, 62, pp. 69-77.
- Cordova-Guerrero, J., Hernandez-Guevara, E., Ramirez-Zatarain, S., Nunez-Bautista, M., Ochoa-Teran, A., Muniz-Salazar, R., Montes-Ávila, J., López-Angulo, G., Paniagua-Michel, A. ve Torres, G.A., 2014. Antibacterial activity of new oxazolidin-2-one analogues in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains, Int. J. Mol. Sci., 15, pp. 5277-5291.

- Cos, P., Vlietnick, A.R., Vanden Berghe, D. ve Maes, L., 2006. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro "proof-of concept", J. Ethnopharmacol., 106, pp. 290-302.
- Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agent, Clin. Microbiol. Rev., 12 (4), p. 564.
- Croteau, R., Kutchan, T.M. ve Lewis, N.G., 2000. Natural products (secondary metabolites), Biochemistry and Molecular Biology of Plants, Buchanan, B.B., Gruissem, W. ve Jones, R.L. (Eds.), American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, USA, pp. 1250-1268.
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovanni, C. ve Masella, R., 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability, Annali dell'Istituto Superiore Di Sanita, 43, pp. 348-361.
- Das, B., Sarkar, C. ve Schachter, J., 2013. Oritavancin-a new semisynthetic lipoglycopeptide agent to tackle the challenge of resistant gram positive pathogens, Pak. J. Pharm. Sci., 26, pp. 1045-1055.
- de Kraker, M.E.A., Stewardson, A.J. ve Harbarth, S., 2016. Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? PLoS Med., 13, e1002184.
- de Sousa Oliveira, K., de Lima, L.A., Cobacho, N.B., Dias, S.C. ve Franco, O.L., 2016. Mechanisms of antibacterial resistance: shedding some light on these obscure processes? Antibiotic resistance mechanisms and new antimicrobial approaches, Kon, K. ve Rai, M. (Eds.), Academic Press, Elsevier, London, pp. 19-35.
- Di Meo, S., Reed, T.T., Venditti, P. ve Victor, V.M., 2016. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016, pp. 1-44.
- Diawara, I., Bekhti, K., Elhabchi, D., Saile, R., Elmdaghri, N., Timinouni, M. ve Elazhari, M., 2014. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in hemodialysis centers of Fez, Morocco, Iran J. Microbiol., 6, pp. 175-183.
- Dibah, S., Arzanlou, M., Jannati, E. ve Shapour, R., 2014. Prevalence and antimicrobial resistance pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from clinical specimens in Ardabil, Iran, Iran J. Microbiol., 6, pp. 163-168.
- Didry, N., Dubreuil, L. ve Pinkas, M., 1993. Microbiological properties of protoanemonin isolated from *Ranunculus bulbosus*, Phytother. Res., 17, pp. 21-24.
- Diederer, B.M., Wardle, C.L., Krijnen, P., Tuinebreijer, W.E. ve Breederveld, R.S., 2015. Epidemiology of clinically relevant bacterial pathogens in a burn center in the Netherlands between 2005 and 2011, J. Burn Care Res., 36, pp. 446-453.
- Diekema, D.J., Pfaller, M.A., Schmitz, F.J., Smayevsky, J., Bell, J., Jones, R.N. ve Beach, M., 2001. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of

occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. Clin. Infect. Dis., 32, pp. 114-132.

- Dimitrova, M.P., Mihaylova, D.S., Popova, A.T., Sapundzhieva, T.N., Alexieva, I.N. ve Fidan, H.N., 2014. Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of mulberry fruit, Agricultural Academy, Food Research and Development Institute, International Scientific-Practical Conference Food, "Technologies and Health"
- Drlica, K. ve Zhao, X., 1997. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones, Microbiol. Molec. Biol. Rev., 61, pp. 377-392.
- Dröge, W., 2002. Free radicals in the physiological control of cell function, Physiol Rev, 82, pp. 47-95.
- Du, Q., Zheng, J. ve Xu, Y., 2008. Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity, Journal of Food Composition and Analysis, 21 (5), pp. 390-395.
- Dubos, R.J. ve Hotchkiss, R.D., 1941. The production of bactericidal substances by aerobic sporulating bacilli, J. Exp. Med., 73, pp. 629-640.
- Duthie, G.G., Gardner, P.T. ve Kyle, J.A.M., 2003. Plant polyphenols: are they the new magic bullet? Proceedings of the Nutrition Society, 62, pp. 599-603.
- East, S.P. ve Silver, L.L., 2013. Multitarget ligands in antibacterial research: progress and opportunities, Expert. Opin. Drug Discov., 8, pp. 143-156.
- El-Beshbishy, H.A., Singab, A.N., Sinkkonen J. ve Pihlaja, K., 2006. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats, Life Sci., 78, pp. 2724-2733.
- Ercisli, S. ve Orhan, E., 2007. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits, Food Chem., 103, pp. 1380-1384.
- Ercisli, S. ve Orhan, E., 2008. Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey, Sci. Hort., 116 (1), pp. 41-46.
- Ercisli, S., Tosun, M., Duralija, B., Voca, S., Sengul, M. ve Turan, M., 2010. Phytochemical content of some black (*Morus nigra* L.) and purple (*Morus rubra* L.) mulberry genotypes, Food Technol. Biotechnol., 48 (1), pp. 102-106.
- Erdurak Kılıç, C.S., 2011. *Morus nigra* (Karadut), FFD Monografıları, Demirezer, O. (Ed.), MN Medikal & Nobel Tıp Kitabevi, Ankara, s. 417-421.

- Erinç, S., 1953. Doğu Anadolu Coğrafyası, İstanbul Üniversitesi Coğrafya Enst. Yayınları, No: 15 İstanbul.
- Fadli, M., Chevalier, J., Saad, A., Mezrioui, N.E., Hassani, L. ve Pages, J.M., 2012. Antibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection-bacteria and their synergistic potential with antibiotics, Phytomedicine, 19, pp. 464-471.
- Finch, R.G., Greenwood, D., Norrby, S.G. ve Whitley, R.J., 2010. Antibiotic and Chemotherapy: Ninth edition, Saunders, Elsevier, China, pp. 2-6.
- Flanagan, S., McKee, E.E., Das, D., Tulkens, P.M., Hosako, H., Fiedler-Kelly, J., Passarell, J., Radovsky, A. ve Prokocimer, P., 2015. Nonclinical and pharmacokinetic assessments to evaluate the potential of tedizolid and linezolid to affect mitochondrial function, Antimicrob. Agents Chemother., 59, pp. 178-185.
- Fleming, A., 1945. Penicillin: Its practical application, Nobel Lecture, Butterworth & Co. (Publishers) Ltd. London.
- Frieden, T., 2013. Antibiotic Resistance Threats in the United States, a report presented to United States Congress by Centers of Disease Control and Prevention (CDC).
- Fritz, S.A., Hogan, P.G., Singh, L.N., Thompson, R.M., Wallace, M.A., Whitney, K., Al-Zubeidi, D., Burnham, C.A.N. ve Fraser, V.J., 2014. Contamination of environmental surfaces with *Staphylococcus aureus* in households with children infected with methicillin-resistant *S. aureus*, JAMA Pediatr., 168, pp. 1030-1038.
- Gellert, M., Mizuuchi, K., O'Dea, M.H. ve Nash, H.A., 1976. DNA gyrase: an enzyme that introduces superhelical turns into DNA, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73, pp. 3872-3876.
- Gellert, M., O'Dea, M.H., Itoh, T. ve Tomizawa, J., 1976. Novobiocin and coumermycin inhibit DNA supercoiling catalyzed by DNA gyrase, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73 pp. 4474-4478.
- Gerasopoulos, D. ve Stavroulakis, G., 1997. Quality characteristics of four mulberry (*Morus* sp.) cultivars in the area of Chania, Greece Journal of the Science of Food and Agriculture, 73 (2), pp. 261-264.
- Gill, S.S. ve Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants, Plant Physiol Biochem, 48, pp. 909-930.
- Gomez, P., Lozano, C., Gonzalez-Barrio, D., Zarazaga, M., Ruiz-Fons, F. ve Torres C., 2015. High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carrying the *mecC* gene in a semi-extensive red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) farm in Southern Spain., Vet. Microbiol., 177, pp. 326-331.

- Gorwitz, R.J., Kruszon-Moran, D., McAllister, S.K., McQuillan, G., McDougal, L.K., Fosheim, G.E., Jensen, B.J., Killgore, G., Tenover, F.C. ve Kuehnert, M.J., 2008. Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004, J. Infect. Dis., 197, pp. 1226-1234.
- Gray, E., 1990. Evidence of phenotypic plasticity in mulberry (*Morus* L.), Castanea, 55, pp. 272–281.
- Grosso, G., Stepaniak, U., Topor-Madry, R., Szafraniec, K. ve Pajak, A., 2014. Estimated dietary intake and major food sources of polyphenols in the polish arm of the HAPIEE study, Nutrition, 30, pp. 1398-1403.
- Gundogdu, M., Muradoglu, F., Gazioglu Sensoy, R.I. ve Yilmaz, H., 2011. Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC, Scientia Horticulturae, 132, pp. 37–41.
- Gunes, M. ve Cekic, C., 2004. Some chemical and physical properties of fruits of differind mulberry species commonlygrown in Anatolia, Turkey, Asian Journal of Chemisrty, 16, pp. 1849-1855.
- Gupta, P., Lakes, A. ve Dziubla, T., 2016. A Free Radical Primer, Oxidative Stress and Biomaterials. Dziubla T. ve Butterfield D.A. (Eds.), Academic Press Inc., Elsevier, London, pp. 1-17.
- Gutowski, M. ve Kowalczyk, S.A., 2013. Study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance, Acta Biochim Pol., 60 (1), pp.1-16.
- Haaber, J., Friberg, C., McCreary, M., Lin, R., Cohen, S.N. ve Ingmer, H., 2015. Reversible antibiotic tolerance induced in *Staphylococcus aureus* by concurrent drug exposure, MBio., 6 (1), e02268-14.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, JM., 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease, Biochem. J., 219 (1), pp. 1-14.
- Halliwell, B., 1999. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition, Mutat Res, 443 (1-2), pp. 37-52.
- Han, X., Shen, T. ve Lou, H., 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. International Journal of Molecular Sciences, 8, pp. 950-988.
- Harborne, J.B., 1989. Methods in plant biochemistry, Plant Phenolics, Dey, P.M. ve Harborne, J.B. (Eds.), Academic Press, London, UK.
- Harborne, J.B., Baxter, H. ve Moss, G.P., 1999. Phytochemical dictionary: Handbook of bioactive compounds from plants, second ed, Taylor and Francis, London, UK.
- Harvey, A.L., Edrada-Ebel, R. ve Quinn, R.J., 2015. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era, Nat. Rev. Drug. Discov., 14, pp. 111-129.

- Haslam, E. ve Cai, Y., 1994. Plant polyphenols (vegetable tannins): gallik acid metabolism, Natural Product Reports, 11, pp. 41-66.
- Herrell, W.E. ve Heilman, D., 1941. Experimental and clinical studies on gramicidin, J. Clin. Invest., 20, pp. 583-591.
- Hojjatpanah, G., Fazaeli, M. ve Emam-Djomeh, Z., 2011. Effects of heating method and conditions on the quality attributes of black mulberry (*Morus nigra*) juice concentrate, International Journal of Food Science & Technology, 46 (5), pp. 956-962.
- Hollman, P.C.H. ve Katan, M.B., 1999. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability, Food and Chemical Toxicology, 37, pp. 937-942.
- Hosseini, A.S., Akramian, M., Khadivi, A. ve Arjmand, H.S., 2018. Phenotypic and chemical variation of black mulberry (*Morus nigra*) genotypes, Ind. Crops Prod., 117, pp. 260-271.
- Huang, H.P., Shih, Y.W., Chang, Y.C., Hung, C.N. ve Wang, C.J., 2008. Chemoinhibitory effect of mulberry anthocyanins on melanoma metastasis involved in the Ras/PI3K pathway, J. Agric. Food Chem., 56, pp. 9286-9293.
- Hughes, D., 2014. Selection and evolution of resistance to antimicrobial drugs, IUBMB Life, 66, pp. 521-529.
- Huo, Y., 2002. Mulberry cultivation and utilization in China Mulberry for Animal Production, FAO Animal Production, and Health Paper, 147, pp. 11-43.
- Ighodaroab, O.M. ve Akinloye, O.A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid, Alexandria Journal of Medicine, 54 (4), pp. 287-293.
- Ignat, I., Volf, I. ve Popa, V.I., 2011. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables, Food Chem., 126, pp. 1821-1835.
- Isabelle, M., Lee, B.L., Ong, C.N., Liu, X. ve Huang, D., 2008. Peroxyl radical scavenging capacity., polyphenolics, and lipophilic antioxidant profiles of mulberry fruits cultivated in southern China, J. Agric. Food Chem., 56, pp. 9410-9416.
- Ivanišević, J., Thomas, O.P., Lejeusne, C., Chevaldonné, P. ve Pérez, T., 2011. Metabolic fingerprinting as an indicator of biodiversity: towards understanding inter-specific relationship among Homoscleromorpha sponges, Metabolomics, 7, pp. 289-304.
- Jacobs, J.J., Gilbert, J.L. ve Urban, R.M., 1998. Current concepts review-corrosion of metal orthopaedic implants, The Journal of Bone and Joint Surgery, 80, pp. 268-82.

- Jacoby, G.A. ve Hooper, D.C., 2012. Review of quinolone family, Antibiotic Discovery and Development, Dougherty, T.J. ve Pucci, M.J. (Eds.), 2, Springer, New York, pp. 119-146.
- Jang, Y., Bae, D., Cho, J.K., Bahk, G.J., Lim, S.K. ve Lee, Y.J., 2014. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. isolated from dogs in Korea, Jpn. J. Vet. Res., 62, pp. 163-170.
- Jelled, A., Ben Hassine, R., Thouri, A., Flamini, G., Chahdoura, H., El Arem, A., Ben Lamine, J., Kacem, A., Haouas, Z., Ben Cheikh, H. ve Achour, L., 2017. Immature mulberry fruits richness of promising constituents in contrast with mature ones: A comparative study among three Tunisian species, Industrial Crops and Products, 95, pp. 434-443.
- Jevons, M., 1961. "Celbenin"-resistant staphylococci, Br. Med. J., 1, pp. 124-5.
- Jiang, H., Xu, L., Liu, J.C. ve Huang, X.Z., 2011. Research progress on active ingredients and pharmacological functions of black mulberry (*Morus nigra* L.), Science of Sericulture, 1, p. 20.
- Jones, D., Metzger, H.J., Schatz, A. ve Waksman, S.A., 1944. Control of Gram-negative bacteria in experimental animals by streptomycin, Science, 100, pp. 103-105.
- Kafkas, S., Özgen, M., Doğan, Y., Özcan, B., Ercişli, S. ve Serçe, S., 2008. Molecular characterization of mulberry accessions in Turkey by AFLP Markers, J. Am. Soc. Hortic. Sci., 133, pp. 593-597.
- Kalt, W., Forney, C.F., Martin, A. ve Prio, R.L., 1999. Antioxidant capacity, citamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits, J. Agric. Food Chem., 47, pp. 4638-4644.
- Karuppanapandian, T., Moon, J.C., Kim, C., Manoharan, K. ve Kim, W., 2011. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms, Aust. J. Crop. Sci., 5, p. 709.
- Kato, J., Nishimura, Y., Imamura, R., Niki, H., Hiraga, S. ve Suzuki, H., 1990. New topoisomerase essential for chromosome segregation in *E. coli*, Cell, 63, pp. 393-404.
- Khalifa, İ., Zhu, W., Li, K. ve Li, C., 2018. Polyphenols of mulberry fruits as multifaceted compounds: Compositions, metabolism, health benefits, and stability-A structural review, Journal of Functional Foods, 40, pp. 28-43.
- Kim, H.B., Kim, S.K., Seok, Y.S. ve Seo, S.D., 2015. A making the method of semi-dried mulberry fruit by vacuum freezing dryer, Journal of Sericultural and Entomological Science, 53 (1), pp. 50-54.
- Kim, H.G., Ju, M.S., Shim, J.S., Kim, M.C., Lee, S.H. ve Huh, Y., 2010. Mulberry fruit protects dopaminergic neurons in toxin-induced Parkinson's disease models, British Journal of Nutrition, 104 (01), pp. 8-16.

- Kimura, T., Nakagawa, K., Kubota, H., Kojima, Y., Goto, Y., Yamagishi K., Oita, S., Oikawa, S. ve Miyazawa, T., 2007. Food-grade mulberry powder enriched with 1-deoxynojirimycin suppresses the elevation of postprandial blood glucose in humans, J Agric Food Chem, 55, pp. 5869-5874.
- Kouegnigan Rerambiah, L., Ndong, J.C., Mbakob Mengue, M.P., Medzegue, S., Elisee-Ndam, M., Mintsa-Ndong, A. ve Djoba Siawaya, J.F., 2014. Antimicrobial profiles of bacterial clinical isolates from the Gabonese National Laboratory of Public Health: data from routine activity, Int. J. Infect. Dis., 29, pp. 48-53.
- Koyu, H., Kazan, A., Demir, S., Haznedaroglu, M.Z. ve Yesil Celiktaş, O., 2018. Optimization of microwave assisted extraction of *Morus nigra* L. fruits maximizing tyrosinase inhibitory activity with isolation of bioactive constituents, Food Chemistry, 248, pp. 183-191.
- Lattanzio, V., Kroon, P.A., Quideau, S. ve Treutter, D., 2008. Plant Phenolics – Secondary Metabolites with Diverse Functions, Recent Advances in Polyphenols Research, Daayf, F. ve Lattanzio, V. (Eds.), Wiley-Blackwell, Oxford, 1, pp. 1-35.
- Laxminarayan, R., Matsoso, P., Pant, S., Brower, C., Rottingen, J.A., Klugman, K. ve Davies, S., 2016. Access to effective antimicrobials: a worldwide challenge, Lancet, 387, pp. 168-175.
- Lee, J.S., Synytsya, A., Kim, H.B., Choi, D.J., Lee, S. ve Lee, J., 2013. Purification, characterization and immunomodulating activity of a pectic polysaccharide isolated from Korean mulberry fruit Oddi (*Morus alba* L.), International Immunopharmacology, 17 (3), pp. 858-866.
- Lee, S.Y., Moon, E., Kim, S.Y. ve Lee, K.R., 2013. Quinic acid derivatives from *Pimpinella brachycarpa* exert anti-neuroinflammatory activity in lipopolysaccharide-induced microglia, Bioorg. Med. Chem. Lett., 23, pp. 2140-2144.
- Levy, R.M., Huang, E.Y., Roling, D., Leyden, J.J. ve Margolis, D.J., 2003. Effect of antibiotics on the oropharyngeal flora in patients with acne, Arch. Dermatol., 139, pp. 467-471.
- Lewis, K., 2005. Persister cells and the riddle of biofilm survival, Biochemistry (Mosc), 70, pp. 267-274.
- Lewis, K., 2008. Multidrug tolerance of biofilms and persister cells, Curr. Top. Microbiol. Immunol., 322, pp. 107-131.
- Lewis, K., 2012. Antibiotics: Recover the lost art of drug discovery, Nature, 485, pp. 439-440.
- Lewis, K., 2013. Platforms for antibiotic discovery, Nat. Rev. Drug. Discov., 12, pp. 371-387.

- Li, Y., Bao, T. ve Chen, W., 2018. Comparison of the protective effect of black and white mulberry against ethyl carbamate-induced cytotoxicity and oxidative damage, Food Chem., 243, pp. 65–73.
- Liu, C.J. ve Lin, J.Y., 2013. Anti-inflammatory effects of phenolic extracts from strawberry and mulberry fruits on cytokine secretion profiles using mouse primary splenocytes and peritoneal macrophages, International Immunopharmacology, 16 (2), pp. 165-170.
- Locke, J.B., Zurenko, G.E., Shaw, K.J. ve Bartizal, K., 2014. Tedizolid for the management of human infections: in vitro characteristics, Clin. Infect. Dis., 58 (Suppl 1), pp. 35-42.
- Lu, J., Vlamis-Gardikas, A., Kandasamy, K., Zhao, R., Gustafsson, T.N., Engstrand, L. ve Holmgren, A., 2013. Inhibition of bacterial thioredoxin reductase: an antibiotic mechanism targeting bacteria lacking glutathione, FASEB J., 27, pp. 1394-1403.
- Luddeke, F., Hess, S., Gallert, C., Winter, J., Gude, H. ve Löffler, H., 2015. Removal of total and antibiotic resistant bacteria in advanced wastewater treatment by ozonation in combination with different filtering techniques, Water Res., 69, pp. 243-251.
- Ma, Y., Navarro, B., Zhang, Z., Lu, M., Zhou, X. ve Chi, S., 2015. Identification and molecular characterization of a novel monopartite geminivirus associated with mulberry mosaic dwarf disease, Journal of General Virology, 96 (8), pp. 2421-2434.
- Macel, M., van Dam, N.M. ve Keurentjes, J.J.B., 2010. Metabolomics: the chemistry between ecology and genetics, Mol. Ecol. Res., 10, pp. 583-593.
- Machii, H., Koyama, A. ve Yamanouchi, H., 2000. FAO Electronic Conference: Mulberry for animal production, Mulberry for animal production, Sanchez, M.D. (ed.), Food and Agriculture Organization of the United Nations, pp. 241-248.
- Macielag, M.J., 2012. Chemical properties of antimicrobials and their uniqueness. Antibiotic Discovery and Development. Dougherty T.J. ve Pucci M.J. (Eds.), 2, Springer, New York, pp. 793-820.
- Mahmoud, H.I., El Rab, S.M.G., Khalil, A.F. ve Ismael, S.M., 2014. Hypoglycemic effect of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits in diabetic rat, European Journal of Chemistry, 5 (1), pp. 65-72.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. ve Jimenez, L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition, 79, pp. 727-747.
- Memon, A.A., Memon, N., Luthria, D.L., Bhanger, M.I. ve Pitafi A.A., 2010. Phenolic acids profiling and antioxidant potential of mulberry (*Morus laevigata* W., *Morus nigra* L., *Morus alba* L.) leaves and fruits grown in Pakistan, Pol. J. Food Nutr. Sci., 60 (1), pp. 25-32.

- Mohd Nazri, N.A.A., Ahmat, N., Adnan, A., Syed Mohamad, S.A. ve Syaripah Ruzaina S.A., 2011. In vitro antibacterial and radical scavenging activities of malaysian table salad, Afr. J. Biotech., 10, pp. 5728-5735.
- Moker, N., Dean, C.R. ve Tao, J., 2010. *Pseudomonas aeruginosa* increases formation of multidrug-tolerant persister cells in response to quorum-sensing signaling molecules, J. Bacteriol., 192, pp. 1946-1955.
- Morelli, P., De, A.A., Manno, G., Marchese, A., Bassi, M., Lobello, R., Minicucci, L. ve Bandettini, R., 2015. Characterization of *Staphylococcus aureus* small colony variant strains isolated from Italian patients attending a regional cystic fibrosis care centre, New Microbiol., 38, pp. 23-43.
- Mundy, L., Pendry, B. ve Rahman, M., 2016. Antimicrobial resistance and synergy in herbal medicine, Journal of Herbal Medicine, 6, pp. 53–58.
- Mylonas, C. ve Kouretas, D., 1999. Lipid peroxidation and tissue damage, In Vivo, 13 (3), pp. 295-309.
- Neuman, R.C. Jr., 2013. Free radical addition and substitution reactions, Organic Chemistry, 1992-2013.
- Newman, D.J. ve Cragg, G.M., 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014, Journal of Natural Products, 79, pp. 629-661.
- Nicolaou, K.C., Boddy, C.N., Brase, S. ve Winssinger, N., 1999. Chemistry, biology, and medicine of the glycopeptide antibiotics, Angew Chem. Int. Ed. Engl., 38 (15), pp. 2096-2152.
- Nita, M. ve Grzybowski, A., 2016. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults, Oxidative Medicine and Cellular Longevity. pp, 1–23.
- O'Neill, J., 2014. The review on antimicrobial resistance. Antimicrobial resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations, Wellcome Trust, London.
- O'Neill, J., 2015. Antimicrobials in agriculture and the environment: Reducing unnecessary use and waste. The review on antimicrobial resistance, Wellcome Trust, London.
- Obad, J., Suskovic, J. ve Kos, B., 2015. Antimicrobial activity of Ibuprofen: new perspectives on an “Old” nonantibiotic drug, Eur. J. Pharm. Sci., 71, pp. 93-98.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. ve Yönden, Z., 2015. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. Journal of Clinical and Experimental Investigations, 6 (3), s. 331-336.

- Özden, M. ve Özden, A.N., 2014. Farklı renkteki meyvelerin toplam antosiyanin, toplam fenolik kapsamlarıyla toplam antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 9 (2), s. 1-12.
- Özgen, M., Serçe, S. ve Kaya C., 2009. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits, Scientia Horticulturae, 119, pp. 275–279.
- Özgökçe, F. ve Özçelik, H., 2004. Ethnobotanical aspects of some taxa in East Anatolia, Turkey Econ. Bot., 58 (4), pp. 697-704.
- Page, M.G., 2012. Beta-lactam antibiotics, *Antibiotic Discovery and Development*, Dougherty T.J. ve Pucci M.J. (Eds.), 2, Springer, New York, pp. 79-117.
- Parsons, J.B., Yao, J., Frank, M.W. ve Rock, C.O., 2015. FabH mutations confer resistance to FabF-directed antibiotics in *Staphylococcus aureus*, Antimicrob. Agents Chemother., 59, pp. 849-858.
- Pasberg-Gauhl, C., 2014. A need for new generation antibiotics against MRSA resistant bacteria, Drug Discov. Today Technol., 11, pp. 109-116.
- Patwardhan, B. ve Mashelkar, R.A., 2009. Traditional medicine-inspired approaches to drug discovery: can Ayurveda show the way forward? Drug Discov. Today Technol., 14, pp. 804-811.
- Pećanac, M., Janjić, Z., Komarcević, A., Pajić, M., Dobanovacki, D. ve Misković, S.S., 2013. Burns treatment in ancient times, Med. Pregl., 66, pp. 263-267.
- Pereira, D.M., Valentao, P., Pereira, J.A. ve Andrade, P.B., 2009. Phenolics: from chemistry to biology, Molecules, 14, pp. 2202-2211.
- Perencevich, E.N., Skov, R. ve Kluytmans, J., 2014. Identifying livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, JAMA. Intern. Med., 174, pp. 824-825.
- Pero, R.W., Lund, H. ve Leanderson, T., 2009. Antioxidant metabolism induced by quinic acid. Increased urinary excretion of tryptophan and nicotinamide, Phytother. Res., 23, pp. 335-346.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B. ve Periyasamy, L., 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases, Ind. J. Clin. Biochem., 30 (1), pp. 11–26.
- Pillar, C. ve Sahm, D., 2012. Resistance trends and susceptibility profiles in the US among prevalent clinical pathogens: lessons from surveillance, *Antibiotic Discovery and Development*, Dougherty, T.J. ve Pucci, M.J. (Eds.), Springer, New York, 2, pp. 753-792.
- Posada, A.C., Kolar, S.L., Dusi, R.G., Francois, P., Roberts, A.A., Hamilton, C.J., Liu, G.Y. ve Cheung, A., 2014. Importance of bacillithiol in the oxidative stress response of *Staphylococcus aureus*, Infect. Immun., 82, pp. 316-332.

- Pucci, M.J. ve Bush, K., 2013. Investigational antimicrobial agents of 2013, Clin. Microbiol. Rev., 26, pp. 792-821.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. ve Pouységu, L., 2011. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities and synthesis, Angewandte Chemie (International Edition), 50, pp. 586-621.
- Rheinwald, M., Hartmann, K., Hahner, M., Wolf, G., Straubinger, R.K. ve Schulz, B., 2015. Antibiotic susceptibility of bacterial isolates from 502 dogs with respiratory signs, Vet. Rec., 176, p. 357.
- Rios, J.L. ve Recio, M.C., 2005. Medicinal plants and antimicrobial activity, J. Ethnopharmacol., 100, pp. 80-84.
- Roca, I., Akova, M., Baquero, F., Carlet, J., Cavaleri, M., Coenen, S., Cohen, J., Findlay, D., Gyssens, I., Heure, O.E., Kahlmeter, G., Kruse, H., Laxminarayan, R., Liébana, E., López-Cerero, L., MacGowan, A., Martins, M., Rodríguez-Baño, J., Rolain, J.M., Segovia, C., Sigauque, B., Tacconelli, E., Wellington, E. ve Vila, J., 2015. The global threat of antimicrobial resistance: Science for intervention, *New Microbes New Infections*. Elsevier, 6, pp. 22-29.
- Russo, A., Campanile, F., Falcone, M., Tascini, C., Bassetti, M., Goldoni, P., Trancassini, M., Della Siega, P., Menichetti, F., Stefani, S. ve Venditti, M., 2015. Linezolid-resistant staphylococcal bacteraemia: a multicentre case-control study in Italy, Int J. Antimicrob. Agents, 45, pp. 255-261.
- Sánchez-Moreno, C., 2002. Compuestos polifenólicos: estructura y clasificación: presencia en alimentos y consumo: biodisponibilidad y metabolismo, Alimentaria, 329, pp. 19-28.
- Sánchez-Salcedo, E.M., Mena, P., García-Viguera, C., Hernández, F. ve Martínez J.J., 2015a. (Poly)phenolic compounds and antioxidant activity of white (*Morus alba*) and black (*Morus nigra*) mulberry leaves: Their potential for new products rich in phytochemicals, Journal of Functional Foods, 18, pp. 1039–1047.
- Santiago, C., Pang, E.L., Lim, K.H., Loh, H.S. ve Ting, K.N., 2015. Inhibition of penicillin-binding protein 2a (PBP2a) in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by combination of ampicillin and a bioactive fraction from *Duabanga grandiflora* BMC Complement, Altern. Med., 15 (1), p. 1.
- Sarangarajan, R., Meera, S., Rukkumani, R., Sankar, P. ve Anuradha, G., 2017. Antioxidants: Friend or foe? Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 10 (12), pp. 1111-1116.
- Sasan, M., Donyadide, N., Askari, E. ve Naderi-Nasab, M., 2014. Invasive community-acquired *Staphylococcus aureus* among pediatric population of Eastern Iran, Iran J. Microbiol., 6, pp. 84-86.
- Scalbert, A. ve Williamson, G., 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols, Journal of Nutrition, 130, pp.2073-2085.

- Scheurer, M., Hess, S., Luddeke, F., Sacher, F., Gude, H., Löffler, H. ve Gallert, C., 2015. Removal of micropollutants, facultative pathogenic and antibiotic resistant bacteria in a full-scale retention soil filter receiving combined sewer overflow, Environ. Sci. Process Impacts, 17, pp. 186-196.
- Schippmann, U., Leaman, D. ve Cunningham, A.B., 2006. Cultivation and wild collection of medicinal and aromatic plants under sustainability aspects, Medicinal and Aromatic Plants, Bogers, R.J., Craker, L.E. ve Lange, D. (Eds.), Springer, Dordrecht, p. 17.
- Seifert, J., Frank, M., Koln, T., Beniers, K., Kramer, A., Ekkernkamp, A. ve Gümbel, D., 2015. Epidemiology of multidrug resistant organisms in travellers: results of a 2-year screening in a German level 1 trauma center. Unfallchirurg, 45, pp. 255-261.
- Seyedmonir, E., Yilmaz, F. ve Içgen B., 2015. *mecA* gene dissemination among staphylococcal and nonstaphylococcal isolates shed in surface waters, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 95, pp. 131-138.
- Shanthi Sree, K.S., Yasodamma, N. ve Paramageetham, C.H., 2010. Phytochemical screening and in vitro antibacterial activity of the methanolic leaf extract: *Sebastiania chamaelea*, Müell. Arg. The Bioscan, 5, pp. 173-175.
- Sharma, A., Flores-Vallejo, R., Cardoso-Taketa, A. ve Villarreal, M.L., 2017. Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine, Journal of Ethnopharmacology, 208, pp. 264-329.
- Shlaes, D.M., 2006. An update on tetracyclines, Curr. Opin. Investig. Drugs, 7 (2), pp. 167-171.
- Sies, H., 1985. Oxidative Stress: Introductory Remarks, Oxidative Stress, Sies H. (Ed.), Academic Press Inc., London, pp. 2-5.
- Silva, E.M., Souza, J.N.S., Rogez, H., Reesb, J.F. ve Larondellea, Y., 2007. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region, Food Chem., 101 (3), pp. 1012–1018.
- Silver, L.L., 2011. Challenges of antibacterial discovery, Clin. Microbiol. Rev., 24, pp. 71-109.
- Singh, S.B. ve Barrett, J.F., 2006. Empirical antibacterial drug discovery-foundation in natural products, Biochemical Pharmacology, 71, pp. 1006–1015.
- Singha, S.B., Young, K. ve Silver, L.L., 2017. What is an “ideal” antibiotic? Discovery challenges and path forward, Antibiotics-Meeting the Challenges of 21st Century Health Care, Sánchez, S. ve Demain, A.L. (Eds.), Cansas, Part I, pp.63-73.
- Soe, M.M., Edwards, J.R., Sievert, D.M., Ricks, P.M., Magill, S.S. ve Fridkin, S.K., 2015. Evaluating state-specific antibiotic resistance measures derived from central

- line-associated bloodstream infections, national healthcare safety network, 2011, Infect Control Hosp. Epidemiol., 36, pp. 54-64.
- Soler-Rivas, C., Espín, J.C. ve Wichers, H.J., 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs, Phytochemical Analysis, 11, pp. 330–338.
- Sowjanya, K.M., Narendra, K., Swathi, J. ve Satya, K., 2013. Phytochemical extraction and antimicrobial efficiency of crude leaf extract of medicinal plant, *Cascabela thevetia*, Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci., 4, pp. 465-470.
- Stafford, H.A., 1983. Enzymic regulation of procyanidin biosynthesis, lack of a flav-3-en-3-ol intermediate, Phytochemistry, 22, pp. 2643-2646.
- Swain, T. ve Bate-Smith, E.C., 1962. Flavonoid compounds, Comparative Biochemistry, (3), Mason, H.S. ve Florkin, A.M. (Eds.), Academic Press, New York, pp. 755-809.
- Tan, A., 1998. Current status of plant genetic resources conservation in Turkey, The Proceedings of International Symposium on In Situ Conservation of Plant Genetic Diversity, Zencirci, N., Kaya, Z., Anikster, Y. ve Adams, W.T. (Eds.), Journal of Field Crops Central Research Institute, Ulus, Ankara-Türkiye, pp. 5–16.
- Tang, C.C., Huang, H.P., Lee, Y.J., Tang, Y.H. ve Wang, C.J., 2013. Hepatoprotective effect of mulberry water extracts on ethanol-induced liver injury via anti-inflammation and inhibition of lipogenesis in C57BL/6J mice, Food and Chemical Toxicology, 62, pp. 786-796.
- Thomas, M., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Hall, R., Beekwilder, J. ve Capanoglu, E., 2015. The effects of juice processing on black mulberry antioxidants, Food Chem., 186, pp. 277-284.
- Tonbul, S., 1990. “Elazığ ve Çevresinin İklim Özellikleri ve Keban Barajı’nın Yöre İklimi Üzerine Olan Etkileri”, Fırat Üniversitesi Coğrafya Sempozyumu, ELAZIĞ, s. 275-293.
- Touani, F.K., Seukep, A.J., Djeussi, D.E., Fankam, A.G., Noumedem, J.A. ve Kuete, V., 2014. Antibiotic-potential activities of four Cameroonian dietary plants against multidrug-resistant Gram-negative bacteria expressing efflux pumps BMC Complement, Altern. Med., 14 (1), p. 1.
- Trachootham, D., Lu, W., Ogasawara, M.A., Nilsa, R.D. ve Huang, P., 2008. Redox regulation of cell survival, Antioxid Redox Signal, 10 (8), pp. 1343-1374.
- Tripodi, M.F., Durante-Mangoni, E., Fortunato, R., Utili, R. ve Zarrilli, R., 2007. Comparative activities of colistin, rifampicin, imipenem and sulbactam/ampicillin alone or in combination against epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing OXA-58 carbapenemases, International Journal of Antimicrobial Agents, 30, pp. 537–540.

- Tsao, R. ve Yang, R., 2003. Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: Towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography, J. Chromatogr. A, 1018, pp. 29-40.
- Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, Nutrients, 2, pp. 1231-1246.
- Turan, İ., Demir, S., Kilinc, K., Arslan Burnaz, N., Ozer Yaman, S., Akbulut, A., Mentese, A., Aliyazicioglu, Y. ve Deger, O., 2017. Antiproliferative and apoptotic effect of *Morus nigra* extract on human prostate cancer cells, Saudi Pharmaceutical Journal, 25 (2), pp. 241-248.
- Tutin, G.T., 1996. *Morus* L., Flora Europa (2nd ed.). Psilotaceae to Platanaceae; 1, Tutin, G.T., Burges, N.A., Chater, A.O., Edmondson, J.R., Heywood, V.H., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. ve Webb, D.A. (Eds.), Cambridge University Press, Australia.
- Uhlemann, A.C., Knox, J., Miller, M., Hafer, C., Vasquez, G., Ryan, M., Vavagiakis, P., Shi, Q. ve Lowy, F.D., 2011. The environment as an unrecognized reservoir for community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* USA300: a case-control study, PLoS One; 6, e22407.
- Van Vuuren, S. ve Viljoen, A., 2011. Plant-based antimicrobial studies—methods and approaches to study the interaction between natural products, Planta Medica, 77, pp. 1168-1182.
- Vazirianzadeh, B., Dehghani, R., Mehdinejad, M., Sharififard, M. ve Nasirabadi, N., 2014. The first report of drug resistant bacteria isolated from the brown-banded cockroach, *Supella longipalpa*, in Ahvaz, South-western Iran, J. Arthropod. Borne Dis., 8, pp. 53-59.
- Vilhena, C. ve Bettencourt, A., 2012. Daptomycin: a review of properties, clinical use, drug delivery and resistance, Mini. Rev. Med. Chem., 12, pp. 202-209.
- Vitrac, X., Moni, J.P., Vercauteren, J., Deffieux, G. ve Mérillon, J.M., 2002. Direct liquid chromatography analysis of resveratrol derivatives and flavanonols in wines with absorbance and fluorescence detection, Analytica Chimica Acta, 458, pp. 103-110.
- Wagner, H. ve Ulrich-Merzenich, G., 2009. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals, Phytomedicine, 16, pp. 97-110.
- Waksman, S.A. ve Lechevalier, H.A., 1949. Neomycin, a New Antibiotic Active against Streptomycin Resistant Bacteria, including Tuberculosis Organisms, Science, 109, pp. 305-307.
- Waksman, S.A., Geiger, W.B. ve Reynolds, D.M., 1946. Strain Specificity and Production of Antibiotic Substances: VII. Production of Actinomycin by Different Actinomycetes, Proc. Natl. Acad. Sci., 32, pp. 117-120.

- Waksman, S.A., Horning, E.S. ve Spencer, E.L., 1942. The production of two antibacterial substances, fumigacin and clavacin, Science, 96, pp. 202-203.
- Wang, C.J., Wang, J.M., Lin, W.L., Chu, C.Y., Chou, F.P. ve Tseng, T.H., 2000. Protective effect of *Hibiscus* anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats, Food Chem Toxicol, 38, pp. 411-416.
- Wang, D., Wang, Z., Yan, Z., Wu, J., Ali, T., Li, J., Lv, Y. ve Han, B., 2015. Bovine mastitis *Staphylococcus aureus*: antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitive strains in China, Infect. Genet. Evol., 31C, pp. 9-16.
- Wang, L., Sun, X., Li, F., Yu, D., Liu, X. ve Huang, W., 2015. Dynamic changes in phenolic compounds, colour and antioxidant activity of mulberry wine during alcoholic fermentation, Journal of Functional Foods, 18, pp. 254-265.
- Wattanathorn, J., Muchimapura, S., Thukhammee, W., Tong-un, T., Wannanon, P. ve Phunchago, N., 2012. Mulberry fruits protects against age-related cognitive decline, American Journal of Applied Sciences, 9 (9), p. 1503.
- Wen, P., Hu, T.G., Linhardt, R.J., Liao, S.T., Wu, H. ve Zou, Y.X., 2019. Mulberry: A review of bioactive compounds and advanced processing technology, Trends in Food Science & Technology, 83, pp. 138-158.
- White, R.L., Burgess, D.S., Manduru, M. ve Bosso, J.A., 1996. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E-test, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 40, pp. 1914-1918.
- WHO, 2002. WHO Traditional Medicine Strategy 2002–2005, World Health Organization, Geneva.
- WHO, 2014. WHO (World Health Organization) Antimicrobial resistance: Global report on surveillance.
- WHO, 2015. Antimicrobial resistance, Fact sheet N°194, <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/en/>, Accessed 17th Mar 2016.
- Wiert, C., 2006. Medicinal Plants of Asia and the Pacific, CRC Press.
- Williams, V., Simor, A.E., Kiss, A., McGeer, A., Hirji, Z., Larios, O.E., Moore, C. ve Weiss, K., 2015. Is the prevalence of antibiotic resistant organisms changing in Canadian hospitals? A comparison of point-prevalence survey results in 2010 and 2012, Clin. Microbiol. Infect., 21, pp. 553-559.
- Winn, A.A., 1996. Adaptation to fine-grained environmental variation: an analysis of within-individual leaf variation in an annual plant, Evolution, 76, pp. 1569–1580.

- Xu, Z.-Q., Flavin, M.T. ve Eiznhamer, D.A., 2012. Macrolides and Ketolides, Antibiotic Discovery and Development, Dougherty, T.J. ve Pucci, M.J. (Eds.), 2, Springer, New York, pp. 181-228.
- Yaltirik, F., 1982. *Morus*, Flora of Turkey, Davis, P.H. (Ed.), vol. 7, Edinburgh University Press, Edinburgh, UK, pp. 641-642.
- Yang, C.S., Landau, J.M., Huang, M.T. ve Newmark, H.L., 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds, Annual Review of Nutrition, 21, pp.381-406.
- Yang, J. ve Lee, H., 2012. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of morin isolated from mulberry fruits (*Morus alba* L.), Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 55 (4), pp. 485-489.
- Yang, X., Yang, L. ve Zheng, H., 2010. Hypolipidemic and antioxidant effects of mulberry (*Morus alba* L.) fruit in hyperlipidaemia rats, Food and Chemical Toxicology, 48 (8), pp. 2374-2379.
- Yiğit, D. ve Yiğit, N., 2008. Antibacterial activity of black mulberry (*Morus nigra*) fruits and leaves, EÜFBED, 1 (1), pp. 39-47.
- Yilmaz, K.U., Zengin, Y., Ercisli, S., Demirtas, M.N., Kan, T. ve Nazli, A.R., 2012. Morphological diversity on fruit characteristics among some selected mulberry genotypes from Turkey, The Journal of Animal & Plant Sciences, 22(1), pp. 211-214.
- Ying, Z., Han, X. ve Li, J., 2011. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves, Food Chemistry, 127 (3), pp. 1273-1279.
- Yonekura-Sakakibara, K. ve Saito, K., 2009. Functional genomics for plant natural product biosynthesis, Nat. Prod. Rep., 26, pp. 1466-1487.
- Yoshimura, T., Harashima, M., Kurogi, K., Suiko, M., Liu, M.C. ve Sakakibara, Y., 2016. A novel procedure for the assessment of the antioxidant capacity of food components, Anal. Biochem., 507, pp. 7-12.
- Yu, Y., Xu, Y., Wu, J., Xiao, G., Fu, M. ve Zhang, Y., 2014. Effect of ultra-high pressure homogenisation processing on phenolic compounds, antioxidant capacity and anti-glucosidase of mulberry juice, Food Chem., 153, pp. 114-120.
- Zacharioudakis, I.M., Zervou, F.N., Ziakas, P.D. ve Mylonakis, E., 2014. Meta-analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and risk of infection in dialysis patients, J. Am. Soc.Nephrol., 25, pp. 2131-2141.
- Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A. ve Ceylan, R., 2014. *Sideritis galatica* Bornm.: a source of multifunctional agents for the management of oxidative damage, Alzheimer's's and diabetes mellitus, J. Funct. Foods, 11, pp. 538-547.
- Zerouali, K., Ramdani-Bouguessa, N., Boye, C. ve Hammami, A., 2016. Multicentric study in five African countries of antibiotic susceptibility for three main

pathogens: *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*, J. Chemother, 28 (4), pp.266-272.

Zhao, W.H., Hu, Z.-Q., Hara, Y. ve Shimamura, T., 2002. Inhibition of penicillinase by epigallocatechin gallate resulting in restoration of antibacterial activity of penicillin against penicillinase-producing *Staphylococcus aureus*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46, pp. 2266–2226.

Zheng, Z., Parsons, J.B., Tangallapally, R., Zhang, W., Rock, C.O. ve Lee, R.E., 2014. Discovery of novel bacterial elongation condensing enzyme inhibitors by virtual screening, Bioorg. Med. Chem. Let., 24, pp. 2585-2588.

Zkorzybski, T., Kowszyk-Gindifer, Z. ve Kurlylowicz, W., 1967. Antibiotics: Origin, Nature and Properties, Pwn-Polish Scientific Publisher, Warszawa, Polska, pp. 1-5.

ÖZGEÇMİŞ

Osman AKMEŞE, 11 Aralık 1984 tarihinde Elazığ'da doğdu. Elazığ Balakgazi Lisesi'nden 2003 yılında mezun oldu. Fırat Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünden 2008 yılında mezun oldu. 2014 yılında Gümüşhane Üniversitesinde Biyolog olarak göreve başladı ve halen göreve devam etmektedir.