



***Prunella vulgaris* L. BİTKİ EKSTRAKTLARININ
ANTI-MİKROBİYAL, ANTI-QUORUM SENSİNG
AKTİVİTELERİ VE MİKROBİYAL BİYOFİLM
ÜZERİNE ETKİLERİNİN SAPTANMASI**

BURAK SAĞLAM

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI
Doç. Dr. YAKUP BUDAK
Temmuz - 2017
Her hakkı saklıdır**

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prunella vulgaris L. BİTKİ EKSTRAKTLARININ ANTİ-MİKROBİYAL, ANTİ-
QUORUM SENSİNG AKTİVİTELERİ VE MİKROBİYAL BİYOFİLM ÜZERİNE
ETKİLERİNİN SAPTANMASI

BURAK SAĞLAM

TOKAT
Temmuz - 2017

Her hakkı saklıdır

BURAK SAĞLAM tarafından hazırlanan "*Prunella vulgaris L.* Bitki Ekstraktlarının Anti-mikrobiyal, Anti-quorum Sensing Aktiviteleri ve Mikrobiyal Biyofilm Üzerine Etkilerinin Saptanması" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 21 TEMMUZ 2017 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü KİMYA ANA BİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Danışman
Doç. Dr. Yakup BUDAK
Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Üye
Prof. Dr. Mustafa CEYLAN
Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Üye
Yrd. Doç. Dr. Fulya DOĞANER
Aksaray Üniversitesi

İmza


.....

.....

.....

ONAY

Prof. Dr. Ebubekir ALTINTAŞ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
21.07.2017

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Burak SAĞLAM

21 Temmuz 2017

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Prunella vulgaris* L. BİTKİ EKSTRAKTLARININ ANTI-MİKROBİYAL, ANTI-QUORUM SENSİNG AKTİVİTELERİ VE MİKROBİYAL BİYOFİLM ÜZERİNE ETKİLERİNİN SAPTANMASI**

BURAK SAĞLAM

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. YAKUP BUDAK

Bu tez çalışmasında, ülkemiz florasında yaygın yayılış gösteren *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanol, etil asetat, su ve hekzan çözücülerıyla hazırlanan ekstraktlarının gram negatif bakterilerin iletişim molekülü olan AHL üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Ekstraktların anti-quorum sensing aktivitelerinin saptanması için Disk Difüzyon ve Agar Difüzyon Testleri kullanılmış ve viyolasin pigmenti miktarı ölçülmüştür. Ayrıca ekstraktların mikrobiyal biyofilm üzerine etkinlikleri saptanıp 595 nm’de spektrofotometrede okuma yapıp, sonuçlar kontrole karşı değerlendirilmiştir. Ekstraktların anti-mikrobiyal aktiviteleri Disk Difüzyon Tekniği kullanılarak, Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) ise Broth Dilüsyon Tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. In vitro deneme olarak yürütülen anti-fungal aktivite testlerinde *Potato Dekstrose Agar* besiyeri kullanılmıştır. Ekstraktların % 2’lik dozlarda *Phytophthora infestans*, *Sclerotinia sclerotium*, *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium oxysporum* patojenlerine ait 5 mm miselyum disklerin ekimi yapılarak anti-fungal aktivite çalışmaları yapılmıştır. Ekstraktların içerdiği kimyasal bileşenlerin analizleri ise GC-MS ve FT-IR yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarımız sonucunda, *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarından sadece metanol ekstraktının AHL üzerinde negatif bir etkiye sahip olup, anti-quorum sensing aktivite özelliği gösterdiği saptanmıştır. *Prunella vulgaris* L. bitki ekstraktlarından su ile elde edilen ekstraktın, diğer ekstraktlara göre biyofilm üzerinde daha fazla etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca ekstraktların fungusların miselyum gelişimi üzerindeki engelleyici etkisinin, kullanılan çözücünün ve fungusun türüne göre farklılaştığı gözlenmiştir. Anti-mikrobiyal testlerde ekstraktların direnç gösterdiği mikroorganizmalar belirlenmiştir. MİK çalışmamızda ise, su ile elde edilen ekstraktın kullanılan bakteri suşlarından hiçbirini inhibe etmediği gözlenmiştir.

2017, 66 SAYFA

ANAHTAR KELİMELEER: *Prunella vulgaris* L., Anti-mikrobiyal, Anti-quorum sensing, Anti-biyofilm, Anti-fungal, GC-MS, FT-IR, *Chromobacterium violaceum*

ABSTRACT

MASTER THESIS

ANTI-MICROBIAL, ANTI-QUORUM SENSING ACTIVITIES OF *Prunella vulgaris* L. PLANT EXTRACTS AND DETERMINING THEIR EFFECTS ON MICROBIAL BIOFILM

BURAK SAĞLAM

**GAZIOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. YAKUP BUDAK

In this thesis study, the aim is to investigate the effects of the extracts of *Prunella vulgaris* L. plant, which is widespread in the flora of our country, prepared with methanol, ethyl acetate, water and hexane solvents, on AHL, which is the communication molecule of gram negative bacteria. In order to determine the anti-quorum sensing activities of the extracts, the Disk Diffusion and Agar Diffusion Tests were used; and the violacyn pigment amount was measured. In addition, the activities of the extracts on microbial biofilm was determined, and read at 595 nm in spectrophotometer. The results were then evaluated with the controls. The anti-microbial activities of the extracts were determined by using the Disk Diffusion Technique; and the Minimum Inhibition Concentrations (MIC) were determined by using Broth Dilution Technique. In the anti-fungal activity tests, which were run as In vitro trials, the *Potato Dextrose Agar* broth medium was used. 2% of the extracts were planted in 5mm mycelium disks of *Phytophthora infestans*, *Sclerotinia sclerotium*, *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* pathogens, and the anti-fungal activity was investigated. The analyses of the chemical components of the extracts were performed with GC-MS and FT-IR methods. As a result of our study, it was determined that only the methanol extract among the other *Prunella vulgaris* L. extracts had a negative effect on AHL, and showed Anti-Quorum Sensing Activity. It was also determined that the extract that was obtained with water from *Prunella vulgaris* L. had more effects on the biofilm when compared with the other extracts. In addition, it was observed that the inhibitory effects of the extracts on the development of the mycelium of the fungi varied according to the types of the fungus and the solvent. In anti-microbial tests, the microorganisms to which the extracts showed resistance were determined. In MIC work, it was observed that the extract that was obtained with water did not inhibit any of the bacteria strains used.

2017, 66 PAGE

KEYWORDS: *Prunella vulgaris* L., Anti-microbial, Anti-quorum sensing, Anti-biofilm, Anti-fungal, GC-MS, FT-IR, *Chromobacterium violaceum*

İTHAF

Bütün hayatım boyunca olduğu gibi yüksek lisans eğitimin boyunca da, bir an olsun üzerimden desteğini esirgemeyen, benim için her fedakârlığı yapan değerli aileme..



ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimimin ilk gününden itibaren bana destek olan, çalışmalarında öncelikli ve en fazla emeğe sahip olan, her zaman nasihat ve tecrübeleriyle bana yol gösteren ve öğrencisi olmaktan büyük gurur duyduğum danışman hocam Doç. Dr. Yakup BUDAK'a,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca bilgi, deneyim ve tecrübelerinden faydalandığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mustafa CEYLAN'a,

Laboratuvar çalışmalarında güler yüzünü hiçbir zaman esirgemeyen, bilgisi ve hoşgörüsüyle ihtiyacım olduğu her an bana destek veren canım hocam Yrd. Doç. Dr. Meliha Burcu GÜRDERE'ye,

Tez deney ve yazım aşamalarında yardımlarını eksik etmeyen, bu tez çalışmasının istisnasız her aşamasında büyük emeği ve katkısı olan, akademik bilgi ve tecrübeleriyle ihtiyacım olduğu her zaman büyük katkı sağlayan, tanımaktan ve beraber çalışmaktan keyif aldığım canım hocam Arş. Gör. Dr. Demet ERDÖNMEZ'e,

Tezimin düzenlenmesi sırasında yardımlarını gördüğüm sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Fulya Doğaner'e,

Anti-mikrobiyal testlerimin gerçekleştirilmesi sırasında yardımlarını gördüğüm hocam Yrd. Doç. Dr. Canan USTA'ya,

Katkılarını ve yardımlarını her daim gördüğüm, üzerimde hakkı olan arkadaşlarım Oğuz ÖZBEK ve Arş. Gör. Osman Nuri ASLAN'a,

İhtiyacım olduğu zaman yardımlarını esirgemeyen Uzm. Hüseyin AKŞİT, Arş. Gör. Hüseyin AKBAŞ, Ziraat Fakültesi yüksek lisans öğrencileri Atilla ÖKSÜZ ve Çiğdem ÖZYİĞİT'e,

Tanımaktan büyük onur duyduğum kıymetli dostum, saygıdeğer abim doktora öğrencisi Ali DESTEGÜL'e, derin minnet ve şükranlarımı sunmayı borç bilirim...

BURAK SAĞLAM

Tokat, 2017

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
İTHAF	iii
ÖNSÖZ	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1. <i>Lamiaceae</i> Familyası	3
2.2. <i>Prunella vulgaris</i> L.	4
2.2.1. <i>Prunella vulgaris</i> L. (Yara Otu) hakkında genel bilgiler.....	4
2.2.2. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin kullanım alanları	6
2.3. Sekonder Metabolitler.....	6
2.4. Biyofilm ve Quorum Sensing	8
2.5. Anti-quorum Sensing Aktivite.....	9
2.5.1. Quorum sensing üretiminin engellenme mekanizması.....	10
2.5.2. N-Açıl homoserin lakton sinyal molekülünün yok olması	10
2.5.3. N-Açıl homoserin lakton sinyal molekülünün alınımının önlenmesi.....	12
2.5.4. Bakteriyel iletişim sisteminin engelleyicileri	13
2.6. Biyolojik Aktivite	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Kullanılan araç ve malzemeler	18
3.1.2. Kullanılan kimyasallar	18
3.1.3. Kullanılan cihazlar	18
3.1.4. Bitkisel materyal	19
3.1.5. Kullanılan mikroorganizmalar	20
3.2. Yöntem.....	21
3.2.1. Ekstraksiyon.....	21
3.2.2. Anti-biyofilm testler	22
3.2.3. Anti-fungal testler	22

Sayfa

3.2.4. Anti-mikrobiyal testler.....	23
Disk Difüzyon Yöntemi.....	23
Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Değerlerinin Belirlenmesi	24
3.2.5. Anti-quorum sensing testleri.....	24
Anti-quorum Sensing Disk Difüzyon ve Agar Difüzyon Testi	24
Anti-quorum Sensing Aktivitenin Spektrofotometrik Ölçümü	25
Viyolasin Pigment İzolasyonu Prosedürü.....	25
3.2.6. GC-MS ve FT-IR analizleri	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Ekstraksiyon Verimleri	27
4.2. Ekstraktların Bakteriyel Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkisi	27
4.3. Ekstraktların Anti-quorum Sensing Aktivitelerin Belirlenmesi	30
4.4. Anti-fungal Test Sonuçları.....	32
4.5. Anti-mikrobiyal Test Sonuçları	38
4.6. GC-MS Analiz Sonuçları.....	41
4.6.1. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin hekzanlı ekstraktının GC-MS analiz sonuçları	41
4.6.2. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin etil asetatlı ekstraktının GC-MS analiz sonuçları	43
4.6.3. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin metanol ekstraktının GC-MS analiz sonuçları.....	46
4.7. <i>Prunella vulgaris</i> L. Ekstraktlarının FT-IR Analiz Sonuçları	49
4.7.1. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin etil asetatlı ekstraktının FT-IR analiz sonuçları.....	49
4.7.2. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin hekzanlı ekstraktının FT-IR analiz sonuçları.....	50
4.7.3. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin metanollü ekstraktının FT-IR analiz sonuçları	51
4.7.4. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin sulu ekstraktının FT-IR analiz sonuçları.....	52
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	53
6. KAYNAKLAR	58
7. ÖZGEÇMİŞ	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrad Derece
cfu	Koloni Oluşturma Birimi
g	Gram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
µL	Mikrolitre
psi	Basınç Birimi
rpm	Dakikadaki Dönüş Hızı
µg	Mikrogram

Kısaltmalar

Açıklama

AHL	Açıl-Homoserin Lakton
CAS No	Veri Tabanı Kayıt Numarası
DMSO	Dimetil Sülfoksit
FID	Alev İyonlaşma Dedektörü
GC-MS	Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi
IR	Infrared
KBr	Potasyum Bromür
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon
PDA	<i>Potato Dekstrose Agar</i>
QS	Quorum Sensing
RT	Alıkonma Süresi
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
UV-VIS	Ultraviyole-Görünür Bölge

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. <i>Prunella vulgaris</i> L. genel görünümü	4
Şekil 2.2. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin Türkiye'de yayılışı.....	5
Şekil 2.3. Biyofilm oluşum süreci	9
Şekil 2.4. N-açıl homoserin lakton üretiminin engellenme mekanizması	10
Şekil 2.5. N-açıl homoserin lakton sinyal molekülünün bakteriler tarafından alınımının önlenmesi.....	13
Şekil 3.1. Öğütülmüş <i>Prunella vulgaris</i> L. görünümü	19
Şekil 3.2. Anti-quorum sensing aktivite çalışmaları kapsamında kullanılan bakteri türleri	20
Şekil 4.1. <i>Prunella vulgaris</i> L. ekstraktlarının viyolasin pigment üretimine etkisi.....	30
Şekil 4.2. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin metanol ekstraktının bakteriyel iletişim molekülü olan C6-HSL üzerindeki etkisi.....	31
Şekil 4.3. <i>Prunella vulgaris</i> L. ekstraktlarının anti-fungal aktivite testlerinden birkaç görüntü	37
Şekil 4.4. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin hekzanlı ekstraktında yer alan bileşiklerin kimyasal yapıları	42
Şekil 4.5. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin hekzanlı ekstraktının GC kromatogramı.....	42
Şekil 4.6. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin etil asetatlı ekstraktında yer alan bileşiklerin kimyasal yapıları	45
Şekil 4.7. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin etil asetatlı ekstraktının GC kromatogramı.....	46
Şekil 4.8. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin metanollü ekstraktının GC kromatogramı	47
Şekil 4.9. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin metanollü ekstraktında yer alan bileşiklerin kimyasal yapıları	48
Şekil 4.10. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin etil asetatlı ekstraktının IR spektrumu	49
Şekil 4.11. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin hekzanlı ekstraktının IR spektrumu.....	50
Şekil 4.12. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin metanollü ekstraktının IR spektrumu	51
Şekil 4.13. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin sulu ekstraktının IR spektrumu.....	52

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin dünyadaki yaygın isimleri	5
Çizelge 2.2. N-açıl homoserin laktonun engellenmesi	11
Çizelge 2.2. (Devam) N-açıl homoserin laktonun engellenmesi	12
Çizelge 2.3. Bitkilerden ve mantarlardan elde edilen bazı çevre algılama sistemi inhibitörleri	14
Çizelge 2.3. (Devam) Bitkilerden ve mantarlardan elde edilen bazı çevre algılama sistemi inhibitörleri	15
Çizelge 3.1. Anti-quorum sensing aktivite çalışmalarında kullanılan bakteri türleri	21
Çizelge 3.2. GC-MS Cihazı Çalışma Koşulları	26
Çizelge 4.1. <i>Prunella vulgaris</i> L. bitki ekstraktlarının biyofilm oluşturma yetenekleri	29
Çizelge 4.2. <i>Prunella vulgaris</i> L. bitki ekstraktlarının anti-quorum sensing aktiviteleri	31
Çizelge 4.3. <i>Prunella vulgaris</i> L. ekstraktlarının <i>Phytophthora infestans</i> üzerindeki miselyum gelişimini engelleme oranları	33
Çizelge 4.4. <i>Prunella vulgaris</i> L. ekstraktlarının <i>Sclerotinia sclerotium</i> üzerindeki miselyum gelişimini engelleme oranları	34
Çizelge 4.5. <i>Prunella vulgaris</i> L. ekstraktlarının <i>Rhizoctonia solani</i> üzerindeki miselyum gelişimini engelleme oranları	35
Çizelge 4.6. <i>Prunella vulgaris</i> L. ekstraktlarının <i>Fusarium oxysporum</i> üzerindeki miselyum gelişimini engelleme oranları	36
Çizelge 4.7. <i>Prunella vulgaris</i> L. ekstraktlarının 10 farklı patojenik bakteri suşuna inhibisyon etkileri	38
Çizelge 4.8. <i>Prunella vulgaris</i> L. ekstraktlarının minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) sonuçları	40
Çizelge 4.9. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin hekzanlı ekstraktının GC-MS analiz sonucu	41

Çizelge**Sayfa**

Çizelge 4.10. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin hekzanlı ekstraktının GC-MS analizinde bulunan bileşiklerin CAS numaraları	41
Çizelge 4.11. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin etil asetatlı ekstraktının GC-MS analiz sonucu	43
Çizelge 4.12. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin etil asetatlı ekstraktının GC-MS analizinde bulunan bileşiklerin CAS numaraları	44
Çizelge 4.13. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin metanollü ekstraktının GC-MS analiz sonucu.....	46
Çizelge 4.14. <i>Prunella vulgaris</i> L.'nin metanollü ekstraktının GC-MS analizinde bulunan bileşiklerin CAS numaraları	47

1. GİRİŞ

İnsanların bitkilere olan ilgisi ilk çağlardan itibaren süregelmiştir. Beslenme amaçlı olarak başlayan bu süreç, bitkilerin tıbbi ve zehirli özelliklerinin keşfine yol açmıştır. Önceleri tahmin ve içgüdüsel olarak gelişen ve deneme-yanılma yoluyla gerçekleşen bu keşifler, bitkilerin şifalı ilaç olarak kullanılabileceği düşüncesiyle birlikte boyut değiştirmiştir.

Asur ve Hitit kaynaklarından edinilen bilgiler, Türkiye’de bitkilerin şifa amacıyla eski çağlardan beri kullanıldığını göstermektedir. Türkiye’de ‘Aktar’ olarak tanınan ‘Herbalist’ler bitkiler ve bitki özleri üzerinde araştırmalar yaparak tedaviler gerçekleştirmektedir. Selçuklu ve Osmanlı Devletlerine ait olan yazılı eserlerimiz atalarımızın bitkilerin tedavi amaçlı kullanımına büyük önem verdiğini göstermektedir. Bitkilerle tedavi konusunda ün kazanmış ‘El Kanun Fı’t Tıbb’ adlı eserin sahibi olan İbn-i Sina, ölümsüzlük iksirini bulduğu rivayet edilen Lokman Hekim, Yunan tıbbının babası Hipokrat ve ünlü İslam hekimi Al Gafini de bitkilerin tıbbi özelliklerini kullanarak hastalıklarla mücadele etmişlerdir.

Kimyasal ve tıbbi açıdan büyük önem arz eden bitkiler, günümüzde tıbbın tamamlayıcısı olarak ya da alternatif tıpta oldukça geniş kullanım alanı bulmaktadır. İnsanoğlu sentetik ilaçların yan etkilerinin anlaşılması üzerine son yıllarda bitkisel kaynaklı ilaçların önemini anlamış ve bitkilerle tedaviye yönelmiştir. Gelişmiş ülkelerdeki reçetelerin % 25’i bitkisel kökenli etken madde kaynaklı ilaçlardan oluşmaktadır (Farnsworth ve ark., 1985). Günümüzde ‘Fitoterapi’ adı verilen uygulamalarla bitki özleriyle tedavi yolları aranmaktadır.

Gelişen teknoloji ve bilimsel çalışmalar sonucunda Kimya, Biyoloji ve Tıp gibi disiplinler arası işbirliğinin katkısıyla günümüzde birçok bitki yapısı aydınlatılmıştır. Dünyada 750 000-1 000 000 arasında bitki türünün yer aldığı tahmin edilmektedir. Bu bitkilerin hemen hemen yarısı insanoğlu tarafından isimlendirilmiştir. Bu sayı henüz yeterli seviyede olmamasına rağmen, bu sayıya her yıl yaklaşık 2000 yeni bitki eklenmektedir (Baytop, 1999).

İlaç sektöründe kullanılan bitkiler, yaklaşık 60 milyar dolarlık bir piyasaya sahiptir (Kumar, 2009). Potansiyeli açısından henüz yeterli seviyede olmasa da ülkemiz bitkisel drog ihraç edip ekonomimize önemli bir katkı sağlamaktadır. Bulunduğu coğrafya ve üç tarafı denizlerle çevrili olması nedeniyle ülkemiz zengin bitki çeşitliliğine sahiptir.

Ayrıca endemik bitkilerin fazla olması nedeniyle araştırmacılar açısından cazibe merkezi konumundadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, hastalıkların tedavisinde kullanılan 20 000 bitkinin yaklaşık 1000 tanesi ülkemizde tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Dünyada yer alan endemik bitkilerin üçte birinden fazlası ülkemizde, özellikle de Akdeniz bölgesinde yer almaktadır. Bu sayı Avrupa kıtasındaki ülkelerde yer alan endemik bitki sayısının toplamından bile fazladır.

Türkiye 174 familyada, yaklaşık 1250 cins ve 12 000'i aşkın tür ve tür altı takson ile dünyada hatırı sayılır bir floraya sahip olup adeta gen merkezi konumundadır (Davis, 1985, 1988; Güner ve ark., 2000). 234 tanesi yabancı kaynaklı olan bu taksonların geri kalanları ise yerel yayılıştadır (Ekim ve ark., 1989; Erik ve Tarıkahya, 2004).

Bu çalışma; halk arasında yara otu olarak bilinen; *Lamiaceae* familyasının, *Prunella* cinsine ait *Lamiales* sınıfının, *Magnoliophyta* (Kapalı tohumlar) bölümünün yarı endemik, özel kokulu, aromatik ve tıbbi bir türü olan *Prunella vulgaris* L. (yara otu) bitkisini kapsamaktadır. Kütahya Belediyesi Hekim Sinan Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bahçesinden temin edilen kurutulmuş haldeki *Prunella vulgaris* L. (yara otu) bitkisi öğütülüp su, etil asetat, metanol ve hekzan çözücülerini kullanılarak ekstraktları elde edilecektir. Yapılacak olan çalışmalarda, *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının anti-mikrobiyal etkilerinin araştırılması, bitkinin içerdiği kimyasal bileşenlerin analizinin GC-MS yöntemiyle gerçekleştirilmesi; ayrıca ekstraktların mikrobiyal biyofilm üzerine etkilerinin ve gram negatif bakterilerin iletişim molekülü olan açil-homoserin lakton (AHL) üzerine etkilerinin saptanması amaçlanmaktadır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. *Lamiaceae* Familyası

Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyası dünyada ilk kez De Jussieu tarafından *Labiatae* olarak isimlendirilmiştir (Hedge, 1992). 1836'da Lindley'in isimbabalığını yaptığı bu familyanın yaklaşık 80 milyon yıl öncesine dayandığı tahmin edilmektedir (Güner ve ark., 2000). Milattan önce 1552'de Dioscoridis, *Materia Medica* adlı eserinde 40 adet *Lamiaceae* familyasına ait bitkiye yer vermiştir (Baytop, 2000). Dünyada *Lamiaceae* (Ballıbabagiller) familyasına ait 250 cins ve 7000 tür bitki bulunmaktadır (Kahraman ve ark., 2009). Türkiye'de en fazla Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren *Lamiaceae* (Ballıbabagiller) familyası, 45 cinsten 574 bitki türüyle ve % 44.5 endemizm oranıyla ülkemiz florasında yer almaktadır (Davis ve ark., 1982; Davis ve ark., 1988; Güner ve ark., 2000). Çiçeklenme zamanı Haziran-Ağustos ayları arasında olan *Lamiaceae* familyası ülkemizde Toroslar ve Amanoslarda yoğun olarak bulunur. İçerdikleri uçucu yağlar, özel kokulu aromatik bileşikler ve sekonder metabolitlerce zengin olan *Lamiaceae* familyası; tıpta, farmakolojide, gıda ve kozmetik sektörlerinde büyük önem taşımaktadır (Başer, 1993). Türkiye'de ortalama 1200 ile 2500 rakımlar arasında yetişen *Lamiaceae* familyasının çoğu üyesi (nane, karabaş otu, mercanköşk, adaçayı, kekik, yayla çayı, oğul otu, fesleğen, lavanta gibi) ilaç, koku, gıda, içecek gibi pek çok alanda yaygın şekilde değerlendirilmektedir (Karadoğan, 2003). *Lamiaceae* türleri çiçek morfolojisi bakımından, arıların nektar emmesine uygun bir yapıda olup, iyi birer polen ve nektar kaynağıdır. Bu nedenlerden dolayı arıcılık ve bal üretimi açısından oldukça faydalıdır (Erbil, 2012). Bu familyanın türleri geleneksel tıp ve tarım, aromaterapi ve alternatif tıpta da kullanılmaktadır (Polat ve ark., 2013). Familya üyelerinde bol miktarda bulunan özel kokulu aromatik bileşiklerin veya uçucu yağların, kişinin psikolojisini ve sağlığını etkilediği bilinmektedir (Lee ve ark., 2011).

Familyaya ait türlerde; terpenoid, iridiod, fenolik bileşikler ve flavonoidler gibi bileşikler bulunmaktadır (Naghibi ve ark., 2005). Familya ile ilgili 1978-1991 yıllarında 2889 çalışma tespit edilmiştir (Richardson, 1992). Familya üyelerinde 147 farklı flavonoid aglikon tespit edilmiştir. Flavonoidler flavon (% 60), flavonol (% 16) ve flavonon (% 20) ayrıca dehidroflavonol (% 2) ve kalkon (% 2) içermektedir. *Lamiaceae* familyasına ait yenebilen türlerin anti-oksidan çalışmaları sıklıkla yapılmaktadır (Heim ve ark., 2002). Familya zengin fenolik bileşiklere sahiptir (Sumaryono ve ark., 1991;

Morimoto ve ark., 1994; Bertelsen ve ark., 1995; Tada ve ark., 1996; Kovatcheva ve ark., 1996). Lamiaceae familyası üyeleri genellikle (örtü ve salgı tüyleri) tüylü olmakla beraber familyanın salgı tüyleri generatif organlarında yer almaktadır.

2.2. *Prunella vulgaris* L.

2.2.1. *Prunella vulgaris* L. (Yara Otu) hakkında genel bilgiler

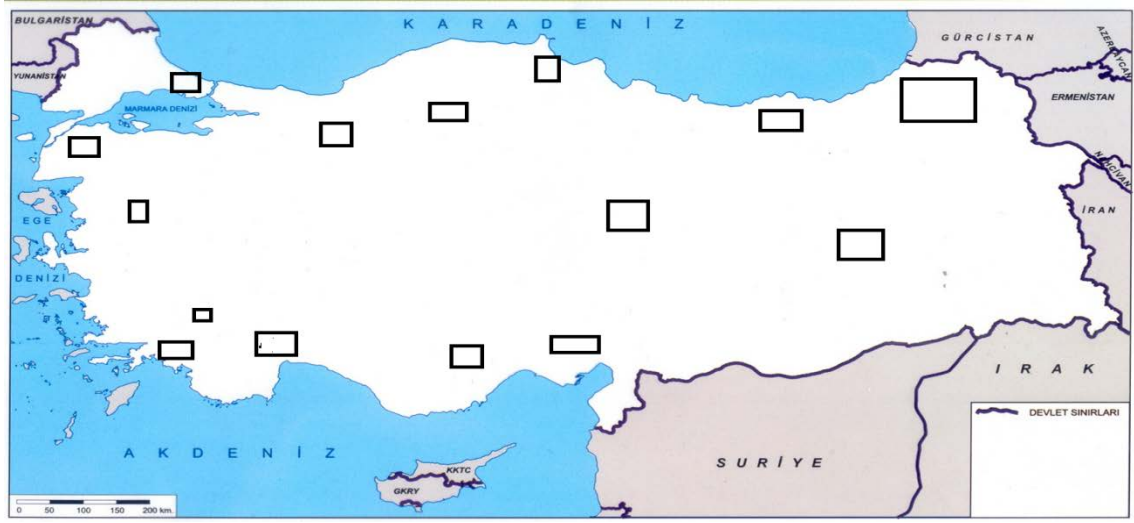
Avrupa ve Asya'da çok uzun zamanlardır kullanıldığı bilinen *Prunella vulgaris* L. Avrupa kıtasında kendi kendine iyileştirici (self-heal) olarak bilinirken, Asya kıtasında hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Fang ve ark., 2005).

Yara otu, ballıbabagiller familyasından *Prunella* cinsine ait *Lamiales* sınıfından, *Magnoliophyta* (kapalı tohumlar) bölümünden yarı endemik, aromatik ve tıbbi bir bitki türüdür. Çimlenme zamanı Mayıs-Eylül ayları arasında olan *Prunella vulgaris* L.'nin gövdesi dik ve boyu 6-40 santimetre arasındadır (Şekil 2.1). Şekil 2.2'de görüldüğü üzere yamaçlarda, çayırlarda, akarsu kenarlarında, yol kenarlarında, rakımı 0-2900 metre arasındaki yerlerde ve özellikle ılıman iklim bölgelerinde, asidik bazik ve nötral topraklarda rahatlıkla yetişebilir.



Şekil 2.1. *Prunella vulgaris* L. genel görünümü (Anonim, 2017)

Yaprak ve gövdeleri protein, yağ, karbonhidrat, karoten, vitamin B ve nikotinik asit içeren *Prunella vulgaris* L. Akdeniz, Avrupa, Rusya, Kuzey Afrika, Amerika, Doğu Asya ve Avustralya'da farklı yerel isimlerle yayılış gösterir (Çizelge 2.1) (Ahmed ve Ezer, 2008). Kuzey Batı Afrika, Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da 9 türü bulunur (Edmonson, 1982; Lamaison ve Petitjean-Freytet, 1990).



Şekil 2.2. *Prunella vulgaris* L.'nin Türkiye'de yayılışı

Çizelge 2.1. *Prunella vulgaris* L.'nin dünyadaki yaygın isimleri (Anonim, 2016)

ÜLKE	YAYGIN İSİM
Acre	<i>Busuioc De Câmp</i>
Almanya	<i>Kleine braunelle</i>
Avustralya	<i>Brunella</i>
Azerbaycan	<i>Boğaz otu</i>
Çin	<i>Xia Ku Cao</i>
Çek Cumhuriyeti	<i>Cernohlávek Obecný</i>
Fransa	<i>Brunelle Commune</i>
İspanya	<i>Consuelda Menor</i>
İsveç	<i>Brunört</i>
İzlanda	<i>Blákolla</i>
İtalya	<i>Prunella commune</i>
Hollanda	<i>Gewone Brunel</i>
Norveç	<i>Blåkoll</i>
Polonya	<i>Glowienka pospolita</i>
Rusya	<i>Cemogolovka Obyknoennaja</i>
Türkiye	Yara otu

2.2.2. *Prunella vulgaris* L.'nin kullanım alanları

Prunella vulgaris L. (yara otu) anti-viral, anti-bakteriyel ve anti-oksidan etkilerinden ve içerdiği sekonder metabolitlerin yanı sıra C ve K vitaminlerinden dolayı; ilaç, gıda ve kozmetik sanayinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Avrupa'dan Çin'e kadar dünyanın çoğu bölgesinde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan yara otu, boğaz ağrılarına karşı iyi geldiği ve yaraların iyileşmesini hızlandırdığı için 17'nci yüzyılda da sıklıkla kullanılmıştır (Matthiolus, 1626). Yapılan farmakolojik çalışmalar sonucunda *P. vulgaris* L.'nin anti-tümör özelliği de ortaya konmuştur (Lee ve Lin, 1988). Ayrıca yara otu diş plaklarının onarılmasında, diş eti iltihaplarında ve gargara olarak da etkilidir (Adámková ve ark., 2004). *Prunella vulgaris* L. cildi, kemik ve bağ dokusunu desteklediği bilinen maddeleri içermekle beraber halk tarafından yıllardan beri safra kesesi ve karaciğerin işlevini geliştirmek ve bağışıklık sistemini desteklemek için kullanılmaktadır (Markova ve ark., 1997). *Prunella vulgaris* L.'den hazırlanan ilaçlar, iç ve dış yaraların tedavisinde de kullanılmaktadır (Tuzlacı, 2006). UV ışınlarının zararlı etkisine karşı insan cildini koruyan *Prunella vulgaris* L.'nin dermatolojide de kullanımı dikkat çekmektedir (Psotova ve ark., 2006). Yara otu özellikle yaralanmalar sırasında kanın pıhtılaşmasını kolaylaştırmak için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Yara otu; spazm çözücü, acı tonik, idrar söktürücü, solucan dökücü ve yıkama suyu olarak da dış yaralarda etkilidir. Kanama ve ishallerde büzücü olarak da kullanılan yara otu, sara nöbetlerinin tedavisinde ve balgam söktürücü olarak da kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Potasyum tuzu bakımından zengin olduğundan dolayı yara otu diüretik olarak da kullanılmaktadır (Lee ve Lin, 1988).

2.3. Sekonder Metabolitler

Günümüzde farmakoloji (öncü madde), gıda (tatlandırıcı, renk verici), tekstil (boya), kozmetik (krem, tonik, maske), veterinerlik, tıp (anti-mikrobiyal ve anti-tümöral) ve tarımda kullanılan kimyasallar doğal bitkisel kaynaklı sekonder metabolitlerden elde edilmektedir (Sökmen ve Gürel, 2001). Ekonomideki önemi gitgide artan ve bitkiye özgü olan sekonder metabolitler, bitkinin çevreye karşı uyumunda; savunma, hücreler arası haberleşme, korunma, hayatta kalma ve üreme gibi çeşitli avantajlar sağlayan kimyasal maddelerdir (Bourgaud ve ark., 2001; Sökmen ve Gürel, 2001; Zarate ve ark., 2003).

Bitkilerden izole edilen yaklaşık 100 000 sekonder metabolit vardır ve her yıl yaklaşık 4000 yeni bileşik izole edilmektedir (Verpoorte ve ark., 1999). Bitkilerde bulunan sekonder metabolitler; fenolik bileşikler, terpenler ve alkaloidlerdir. Yara otu bitkisinde birçok sekonder metabolit yer almaktadır. Yapılan çalışmalar yara otu bitkisinde; triterpenik saponinlerin ve flavonoidlerin, antosiyaninlerin, organik asitlerin, kumarinlerin, tanenlerin, yağ asitlerinin, uçucu yağların, steoidlerin, vitaminlerin, aminoasitlerin, diterpenlerin, seskiterpenlerin ve eser elementlerin bulunduğunu göstermiştir. Flavonoid olarak yara otu bitkisinde, kamferol ve kuersetin (Saxena ve Archana, 1984; Lamaison ve ark., 1991), astragalin (Zhan ve Yang, 1995), izokuersetin, hiperosit, rutin (Dmitruk ve ark., 1986; Lamaison ve Petitjean-Freytet, 1990), luteolin (Dmitruk ve ark., 1987) tespit edilmiştir.

Fenolik bileşik olarak ise; p-kumarik asit (Wang ve ark., 2000), cis ve trans kafeik asit (Sendra, 1963; Lamaison ve ark., 1991) ve rosmarinik asit (Lamaison ve ark., 1991; Wang ve ark., 2000) saptanmıştır. Yara otu bitkisinde ursolik asit (Popa ve Pasechnik, 1974) ve oleanolik asit (Sendra, 1963) eser miktarda klorojenik asit (Lamaison ve Petitjean, 1990) ve kumarin (Dmitruk ve ark., 1986) tespit edilmiştir.

Yara otunun metanollü ekstraksiyonuyla triterpenik saponinin yapısı aydınlatılmıştır (Kojima ve ark., 1988).

Steroid olarak yara otu bitkisinde miristik asit, oleik asit, stearik asit, linolenik asit, palmitik asit ve laurik asit bulunmuştur (Jain ve Saxena, 1984). Yara otu bitkisinde, karoten, fitol ve flavonoid (Dmitruk ve ark., 1986) ayrıca % 8.0-% 8.45 oranında tanen (Dorosh ve Domaratskaya, 1956) tespit edilmiştir.

Yara otunun metanol ekstreleri ile aseton ve eterden oluşan fraksiyonunda antosiyaninler bulunurken (Saxena ve Archana, 1984); etanol ekstraktlarında galaktoz, sakkaroz ve früktoz gibi şekerlere rastlanıp; su ekstraktlarında ise rafinoz saptanmıştır (Natherova ve Rezacova, 1972). Yara otu bitkisinin çiçeklerinde ise siyanidin ve delfinidin tespit edilmiştir (Sendra, 1963).

Yara otunda C ve K vitaminleri bulunmuştur (Dorosh ve Domaratskaya, 1956; Schnieder, 1984). Yara otunda bulunan hegzadekanoik asit oranı ise % 17.16 olarak tespit edilmiştir (Wang ve ark., 1994).

2.4. Biyofilm ve Quorum Sensing

Günümüzde bakterilerin yaşamsal faaliyetlerinin çoğalmak ve üremekten ibaret olmadığı aynı veya farklı bakterilerin hücrelerinin birbirleri arasında iletişim sağladığı ortaya konulmuştur. Bu iletişimi sağlayan sistem ise quorum sensing ‘çevreyi algılama’ olarak adlandırılmaktadır. İlk olarak gram negatif bakterilerde saptanmış olan çevre algılama sistemi; Gram pozitif bakteriler ve bazı mantarlarda da kullanılmakta olan mikrobiyal iletişim sistemidir (De Kievit and Iglewski, 2000; Chen ve ark., 2004; Hogan, 2006). Quorum sensing, maksimum popülasyona ulaşan bakterilerin, ürettikleri sinyal moleküllerini farketmelerini sağlayan bir sistemdir (Boşgelmez-Tınaz, 2003). Bakteriler, bir otokontrol sistemi olan quorum sensing sayesinde çevrelerindeki mikrobiyal yoğunluk ve hücre sayılarından haberdar olabilmekte ve antibiyotik biyosentezi ya da yeni protein üretiminin yanı sıra birçok virulans özelliğini (biyofilm, anti-mikrobiyal direnç, patogeneze vb.) gerçekleştirebilmektedir.

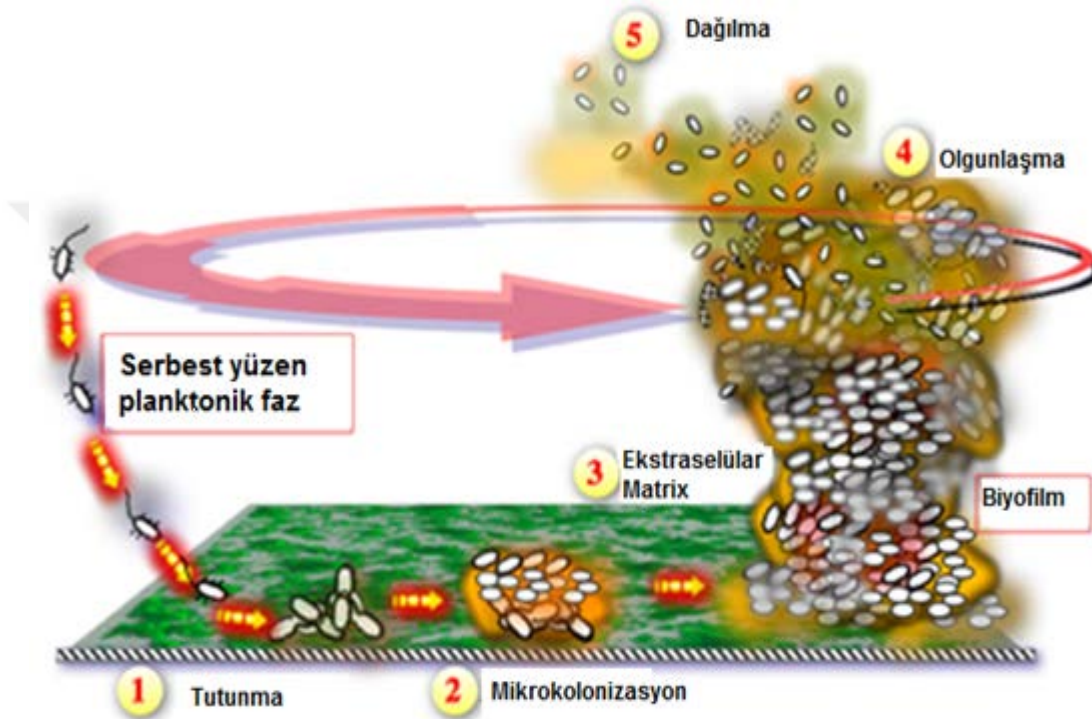
Bu iletişim sisteminin engellenmesiyle enfeksiyonların tedavisinde önemli bir başarı elde edilip, bakterilerin sayısı azaltılabilecektir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), hemen hemen tüm bakteri türlerinde gözlenen antibiyotik direncinin en yüksek olduğu ülkeler sıralamasında Türkiye’ye ilk sıralarda yer vermiştir (Bozkurt ve ark., 2014). Antibiyotiklere karşı artan bu direnç, haliyle kullanmakta olduğumuz ilaçların yeterliliğini de önemli ölçüde azaltmaktadır. Başka bir deyişle değişen koşullara göre kendini adapte edip ilaçlara karşı biyofilm gibi yeni korunma önlemleri oluşturan bakteriler direnç kazanmaktadır.

İlk kez dişlerdeki plaklarda gözlenen biyofilm ise, cansız bir yüzeye tutunan bakterilerin mukoz yapıda bir araya gelip oluşturdıkları dış koşullara karşı dayanıklı mikroplar şehridir (Watnick ve Kolter, 2000). Biyofilm bakteriyi bağışıklık sistemine karşı korur ve korunan bu bakteri antibiyotiğe ve anti-mikrobiyal ajanlara karşı direnç gösterir.

Bakterilerin çoğu canlı veya cansız yüzeylerde biyofilm oluşturabilmektedir. Oluşturdukları bu biyofilm, patojenlerin anti-mikrobiyal ajanlardan ve konağın immün yanıtından kaçmasını sağlamaktadır (Towner, 2009).

Bakterilerin biyofilm oluşturmaları sürecinde öncelikle canlı ya da cansız yüzeye flagella hareketi yardımıyla ulaşabilmesi ve adhezyon proteinleriyle birlikte oluşturdıkları ortamda birikerek cansız yüzeylere mikroorganizmaların tutunması gerekmektedir. Bu sürecin peşinden biyofilm oluşumu süreklilik kazanır ve olgunlaşma

devam eder. Biyofilm oluşumunda bakteri yoğunluğunun algılanmasıyla başlayan süreç, ortamdaki moleküllerin ve katyonların birikmesiyle ivme kazanır ve katman halinde yoğunlaşır. Ekstraselüler olarak ortama verilen tersiyer bir yapı içerisinde bakterileri çevreleyen ekstraselüler bir matrix içinde karbonhidratlar, nükleik asitler, proteinler gibi biyolojik faaliyetler için önemli bileşenler yer alır. Bu matriks içine bakteriler tarafından bazı sinyaller yayılır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Biyofilm oluşum süreci (Yousef, 2013)

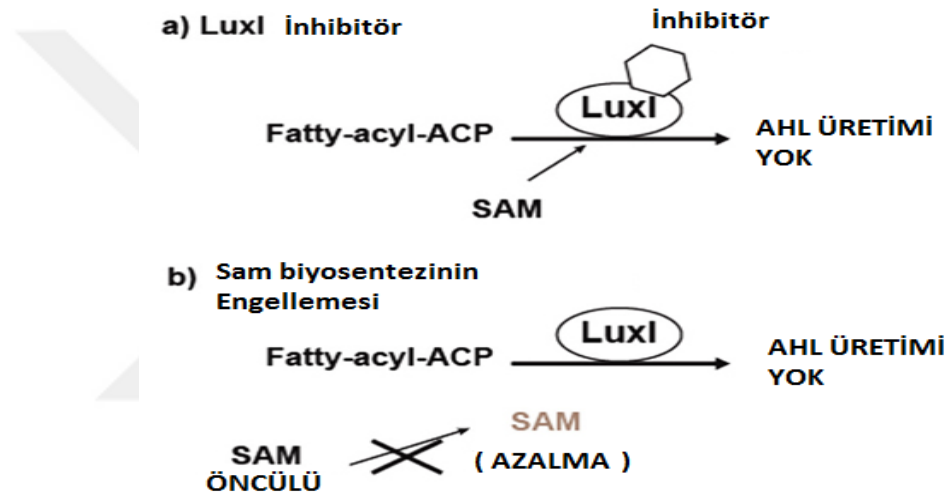
2.5. Anti-quorum Sensing Aktivite

Virülansta etkinliği tespit edilen sistemin engellenmesi birçok hastalığın tedavisine yeni bir bakış açısı getirmektedir. Tıpkı bu engellenmenin oluşumunda antibiyotiklerin etki mekanizmalarında olduğu gibi; ya sinyal molekülünün üretimi önlenecek, ya sinyal molekülü yok olacak ya da diğer bakterilerin sinyal moleküllerini bulması önlenecektir.

2.5.1. Quorum sensing üretiminin engellenme mekanizması

P. aeruginosa'ya ait izolatların incelenmesi için yapılan çalışmalar sonucunda azitromisinin, bakteri iletişimi için sorumlu gen bölgelerini etkilediği böylece sinyal moleküllerini azalttığı ve elastaz gen ekspresyonunu önlediği; triklosan molekülünün ise sinyal molekül sentezinden sorumlu olan enzimi engellediği saptanmıştır (Tateda ve ark., 1996).

2013 yılında yapılan bir çalışmada ise Hirakawa ve Tomita, N-açıl homoserin lakton üretiminin engellenme mekanizmasını saptamışlardır (Şekil 2.4).

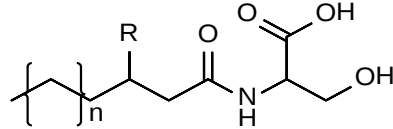
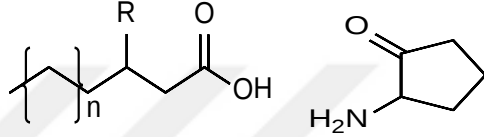
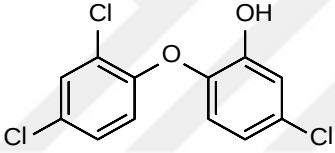
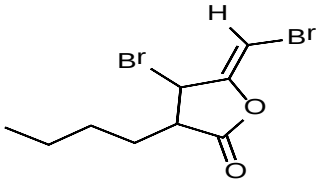


Şekil 2.4. N-açıl homoserin lakton üretiminin engellenme mekanizması (Hirakawa ve Tomita, 2013)

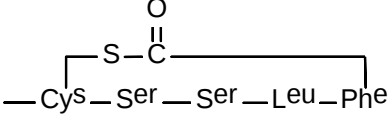
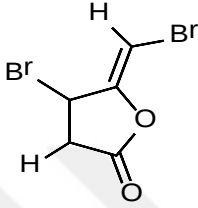
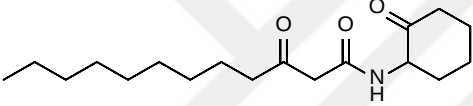
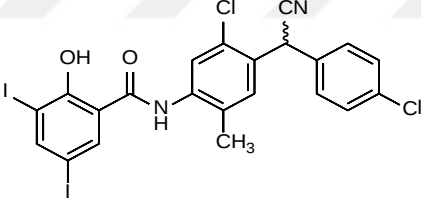
2.5.2. N-Açıl homoserin lakton sinyal molekülünün yok olması

N-açıl homoserin lakton moleküllerinin parçalanması enzimler ya da bazı engelleyiciler tarafından sağlanır. Gram negatiflerin sinyal molekülleri AHL laktonaz ve AHL açılaz tarafından, Gram pozitiflerin sinyal molekülleri inhibitörler tarafından parçalanıp yok edilebilirken; fenolik inhibitörlerden ise "closantel" ve "RWJ-49815" histidin kinazı engelleyerek protein metabolizmasını bozduğu belirlenmiştir (Zhang ve Dong, 2004). Çizelge 2.2'de bakteriyel sinyali etkileyen moleküller ve bu moleküllere ait fonksiyonlar verilmiştir.

Çizelge 2.2. N-açıl homoserin laktonun engellenmesi (Zhang ve Dong, 2004)

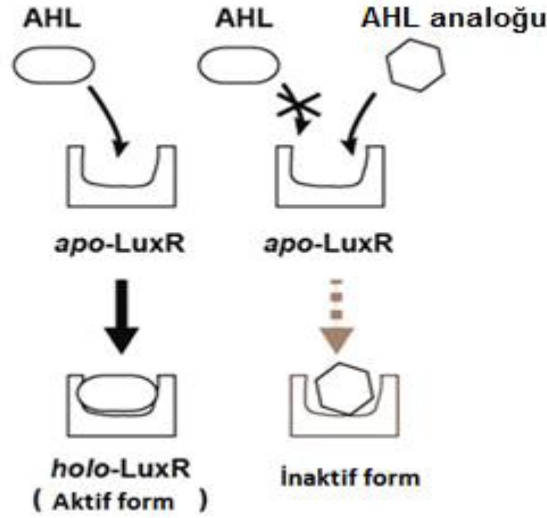
Bakteriyel sinyali etkileyen moleküller	Fonksiyonu
<u>Enzimler</u>	
AHL-laktonaz	AHL sinyal molekülünün degradasyonu 
AHL-açılaz	AHL sinyal molekülünün degradasyonu 
<u>İnhibitörler</u>	
Triclosan	Yağ asitlerinin biyosentezinin engellenmesi 
Furanon	
<i>Delisea pulchra</i>	Hızlı LuxR degradasyonu 

Çizelge 2.2. (Devam) N-açıl homoserin laktonun engellenmesi (Zhang ve Dong, 2004)

Bakteriyel sinyali etkileyen moleküller	Fonksiyonu
Truncated AIP-2 	Otoindükleyici peptidlerin antagonisti
Furanon C-30 	AHL moleküllerinin antagonisti
3-okso-C12-(2-aminosikloheksanon) 	3-okso-C12-AHL antagonisti
Closantel 	Histidin kinaz inhibisyonu

2.5.3. N-Açıl homoserin lakton sinyali molekülünün alınımının önlenmesi

Sinyal alıcı proteinlerin sentezini inhibe etmek veya önlemek için sinyal alıcı proteinlerin AHL analogları aracılığıyla reseptöre bağlanmasını azaltmak farklı bir mekanizma olarak da test edilmektedir. Kırmızı makro alg olan *Delisea pulchra* tarafından üretilen ve kendi keselerinde depolanan furanon bileşiklerinin, Açıl-Homoserin Lakton sinyal analogu olduğu ve LuxR proteinine yapıcı bağlanıp AHL'nin salınmasını sağladığı bu sayede de *V. fischeri*'nin bakteriyel çevresini inhibe ettiği görülmüştür (Zhang ve Dong, 2004) (Şekil 2.5).

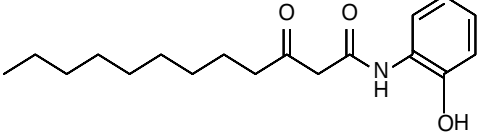
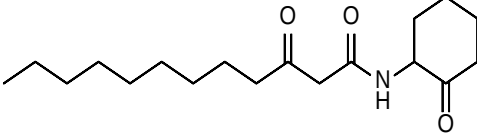
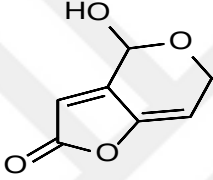
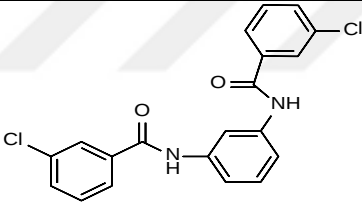
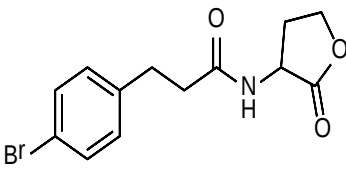
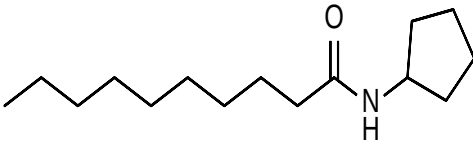


Şekil 2.5. N-açıl homoserin lakton sinyal molekülünün bakteriler tarafından alınımının önlenmesi (Hirakawa ve Tomita, 2013)

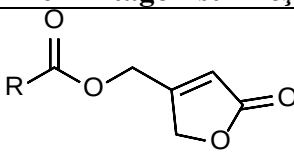
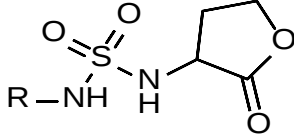
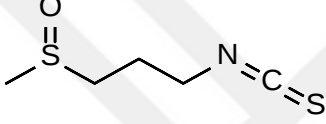
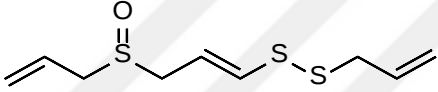
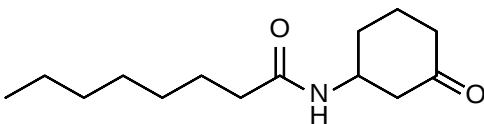
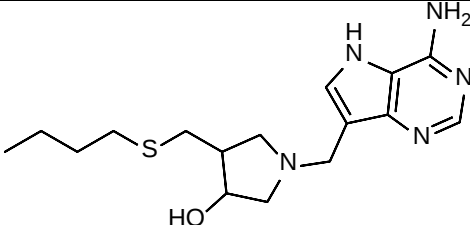
2.5.4. Bakteriyel iletişim sisteminin engelleyicileri

Quorum sensing engelleyici moleküllerin ya da bileşiklerin izolasyonu bitki ve mantarlardan yapılabilmektedir. Kısaca ifade etmek gerekirse, bitki ve mantarlar birbirleriyle iletişim kurabilen bakteriler ile yaşam alanını paylaşmaktadır. Dolayısıyla bitki ve mantarların; quorum sensing sistemini inhibe eden bileşikler üretmek suretiyle, bakteriler hastalıkların oluşumunu ve hastalıkların bulaşmasını önlediği bu sayede kendileri açısından bir korunma yöntemi geliştirdikleri tespit edilmiştir (Rasmussen ve Givskov, 2006a, b). Çizelge 2.3’de bu tipteki inhibitörler verilmiştir. Furanon bileşenleri ile yapılan denemeler sonucunda furanon 12’nin, N-açıl-homoserin laktonun aktifliğini uyardığı ve viyolasinin üretimini ciddi şekilde azalttığı görülmüştür (Martinelli, Grossmann ve ark., 2004). *C. violaceum* 026 suşlarının furanon 12’nin uzun zincirli AHL moleküllerine benzer şekilde, optimal AHL bulunduğunda bile viyolasin üretimini inhibe ettiği saptanmıştır (Martinelli ve ark., 2004). *Delisea pulchra*’dan elde edilen halojenlenmiş furanonların, etkili bir N-açıl-homoserin lakton antagonisti olduğu tarif edilmektedir.

Çizelge 2.3. Bitkilerden ve mantarlardan elde edilen bazı çevre algılama sistemi inhibitörleri

Alıcı Antagonist Bileşik Yapıları	Kaynak
 3-okso-C12-(2-aminofenol)	Smith ve ark., 2003
 3-okso-C12-(aminosikloheksanon)	Smith ve ark., 2003
 Patulin	Rasmussen ve ark., 2005
 N,N-(1,3-fenilen)bis(3-klorobenzamid)	Muh ve ark., 2006
 4-bromofenilpropionil-HSL	Geske ve ark., 2007
 N-siklopentildekanamid	Ishida ve ark., 2007

Çizelge 2.3. (Devam) Bitkilerden ve mantarlardan elde edilen bazı çevre algılama sistemi inhibitörleri

Alıcı Antagonist Bileşik Yapıları	Kaynak
 Hidroksimetilfuranon ester	Kim ve ark., 2007
 Sülfonil üreaz inhibitör	Frezza ve ark., 2008
 1-izotiyasiyanato-3-(metilsülfinil)propan	Jakobsen ve ark., 2012
 Ajoene	Jakobsen ve ark., 2012
AHL sentez inhibitörleri	Kaynak
 J8-C8	Chung ve ark., 2011
 But-DADMe-Immucilin-A	Gutierrez ve ark., 2009

2.6. Biyolojik Aktivite

Yapılan çalışmalarda yara otunun anti-enflamatuvar (Yeşilada ve Sezik, 1990; Psotova ve ark., 2003); anti-viral (Zheng, 1988; Yao ve ark., 1992; Ryu ve ark., 1992; Yamasaki ve ark., 1998; Xu ve ark., 1999; Kageyama ve ark., 2000; Liu ve ark., 2002; Chiu ve ark., 2004; Nolkemper ve ark., 2006), anti-kanser ve anti-tümör (Lee ve Lin, 1988; Lee ve ark., 1988; Zhang ve ark., 2006), anti-oksidan (Liu ve Ng, 2000; Skottova ve ark., 2004; Psotova ve ark., 2005; Psotova ve ark., 2006) ve anti-hiperglisemik (Zheng ve ark., 2007) aktivite özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan araştırmalar sonucunda yara otunda bulunan rutin ve oleanolik asitin yara otunun anti-enflamatuvar aktivite göstermesini sağladığı tespit edilmiştir (Park ve ark., 1995). Başka bir araştırmada ise, SKI 306X'in (Uzakdoğu Asya'da lenfadenit ve artrit gibi iltihaplı hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan *Clematis mandshurica*, *Trichosanthes kirilowii* ve *Prunella vulgaris* L. karışımından arıtılmış bir özüt) uygun dozlarda alındığında eklem kıkırdaklarını koruyucu etki gösterdiği anlaşılmıştır (Choi ve ark., 2002).

İltihapları tedavi etmek amacıyla yapılan bir çalışmada ise yara otunun anti-enflamatuvar aktivite gösterdiği saptanmıştır (Yeşilada ve Sezik, 1990). *Prunella vulgaris* L.'nin su ve etanol fraksiyonlarıyla (Zheng, 1988; Ryu ve ark., 1992; Chiu ve ark., 2004; Nolkemper ve ark., 2006) ayrıca su ekstreleriyle (Xu ve ark., 1999) yapılan çalışmalarda *Prunella vulgaris* L.'nin anti-viral aktivite özelliği gösterdiği tespit edilmiştir.

Yara otu ekstrelerinden elde edilen poliholozitlerin anti-mikrobiyal ve anti-enflamatuvar aktivite oluşmasında etkili olacağı sonucuna varılmıştır (Fang ve ark., 2005). Yara otundan elde edilen etanollü ekstraktların farelerde immünosüpresif (bağışıklık sistemini baskılayan) aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Sun ve ark., 2005).

Yara otunun sulu ekstraktlarıyla yapılan çalışmalarda anti-mutajenik aktivitesi araştırılmıştır (Lee ve Lin, 1988). Yara otunun metanollü ekstreleriyle anti-kanser ve sitototik etkileri araştırılmıştır (Lee ve ark., 1988).

Yara otunun su ve etanol ekstraktlarıyla yapılan çalışmalarda, yara otunun içeriği olan rosmarinik asitin yara otunun anti-oksidan aktivite göstermesini sağladığı tespit edilmiştir (Lamaison ve ark., 1991).

Yara otunun su-etanol özleriyle fareler üzerinde yapılan bir diğ er araştırmada ise yara otunun anti-hiperglisemik aktivite göstermesinin yanı sıra, içeriğindeki saponinlerin farelerde hipotansif etki g sterdiğı de saptanmıştır (Wang ve ark., 1994). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada yara otunun anti-östrojenik aktiviteye sahip olduğı tespit edilmiştir (Collins ve ark., 2006).



3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu yüksek lisans tezi kapsamında bitki örneklerinin kurutulup öğütülmesi, ekstraksiyon işlemleri, numunelerin hazırlanması ve saklanması Gaziosmanpaşa Üniversitesi Kimya Bölümü Kataliz ve Organik Sentez Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı. Bitki ekstraktlarının FT-IR analizleri Gaziosmanpaşa Üniversitesi Kimya Bölümü Termik Analiz Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Bitki ekstraktlarının Anti-mikrobiyal test çalışmaları Gaziosmanpaşa Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda; Anti-fungal test çalışmaları Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Fitopatoloji Laboratuvarı'nda, Anti-biyofilm ve Anti-quorum sensing çalışmaları Aksaray Üniversitesi ASÜBTAM Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda; GC-MS analizleri ise Aksaray Üniversitesi ASÜBTAM Kromatografik Analiz Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan araç ve malzemeler

Desikatör, çeşitli cam malzemeler, manyetik karıştırıcı.

3.1.2. Kullanılan kimyasallar

Etil asetat, metanol, etanol, hekzan, asetik asit, DMSO, bütanol, KBr, SDS.

3.1.3. Kullanılan cihazlar

Jasco FT/IR 430 spektrofotometre

Agilent GC-7890A

Agilent MS-5975C

G11520SD Kuru hava sterilizatörü

Hettich Universal 320R Masaüstü santrifüj

Nüve FN120 Sterilizatör ve statik etüv

Thermo Scientific Genesys 10S Uv-Vis spektrofotometre

Sheldon Shellab S16-2 ZZMFG Çalkalamalı etüv

IKA Vortex Genius 3 Shaker

Thermo Scientific Orion-3 Star pH-metre

Daihan MSH-20A Isıticılı manyetik karıştırıcı

Precisa XB220A Hassas terazi

Denver Instrument XP-300 Kaba terazi

Altus AL370A No-frost Buzdolabı

Renas RBT-1250 Öğütücü

IKA Rotary RE 300 Evaporatör

3.1.4. Bitkisel materyal

Kütahya ilinden çiçeklenme zamanı olan Temmuz 2015 tarihinde toplanmış olan yara otu bitkisi, Kütahya Belediyesi Hekim Sinan Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bahçesi'nden (boylam: 29 55 74, enlem: 39 27 59, yükseklik: 993 m) temin edilmiştir. Bu çalışmada yara otu bitkisinin toprak üstü kısımları kullanılmıştır.

Temin edilen *Prunella vulgaris* L.(yara otu) bitkisi, güneşe maruz kalmayacak şekilde gölgede ve üzerinde baskısı olmayan kartonlarda 4 hafta bekletilerek havadar ortamda kurutuldu. Kurutulan *Prunella vulgaris* L. bitkisi Renas marka RBT-1250 öğütücüde öğütülüp kaba toz haline getirildikten sonra laboratuvar ortamında saklandı (Şekil 3.1).



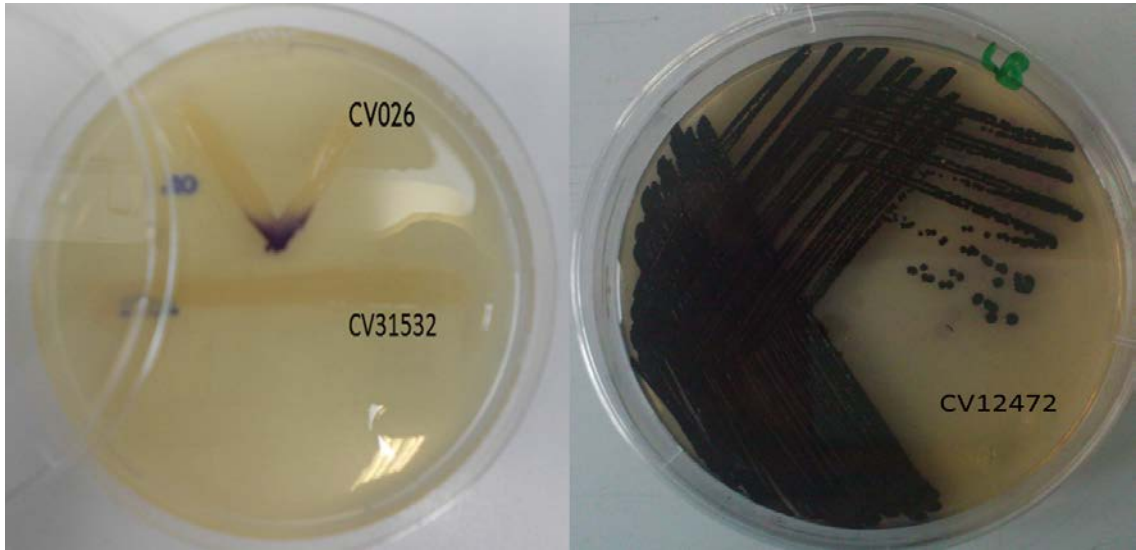
Şekil 3.1. Öğütülmüş *Prunella vulgaris* L. görünümü

3.1.5. Kullanılan mikroorganizmalar

Anti-fungal testlerde kullanılan *Phytophthora infestans*, *Sclerotinia sclerotium*, *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mikroorganizmaları Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Fitopatoloji Laboratuvarı stok kültürlerinden temin edilmiştir.

Anti-mikrobiyal testlerde kullanılan gram pozitif (*Streptococcus pyogenes* (ATCC® 19615), *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923), *Bacillus cereus* (ATCC®10876), *Clostridium perfringens* (ATCC 22525)) ve gram negatif (*Salmonella typhimurium* (ATCC® 14028), *Serratia marcescens* (ATCC® 8100), *Escherichia coli* (ATCC® 25922), *Proteus vulgaris* (ATCC® 13315), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC® 13883)), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 27853)) bakteri suşları Gaziosmanpaşa Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı stok kültüründen temin edilmiştir.

Çizelge 3.1’de özellikleri verilip *Chromobacterium violaceum*’un 3 farklı türü (*C. violaceum* CV026, *C. violaceum* ATCC 31532, *C. violaceum* ATCC 12472) olan ve anti-quorum sensing test çalışmaları sırasında kullanılan bakteri türleri (Şekil 3.2) Prof. Dr. Robert Mclean’den (Biyoloji Bölümü, Texas State Üniversitesi, ABD) temin edilmiştir.



Şekil 3.2. Anti-quorum sensing aktivite çalışmaları kapsamında kullanılan bakteri türleri

Çizelge 3.1. Anti-quorum sensing aktivite çalışmalarında kullanılan bakteri türleri

Kullanılan Bakteri Türü	Özelliği
<i>Chromobacterium violaceum</i> CVO26	Biyosensör
<i>Chromobacterium violaceum</i> 31532	Pozitif Kontrol
<i>Chromobacterium violaceum</i> 12472	Yabanıl Tip

Prunella vulgaris L. bitkisinin anti-biyofilm aktivitesinin belirlenmesi işleminde kullanılan *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ve *Moraxella catarrhalis* bakterileri için Brain Heart Infusion Broth (BHI) besiyeri kullanılmıştır Anti-biyofilm testlerinde kullanılan bakteriler Aksaray Üniversitesi ASÜBTAM Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndaki kültür stoklarından ve Hacettepe Üniversitesi Biyoloji bölümü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Mikrobiyal Taksonomi Laboratuvarı bakteriyel stoklarından tedarik edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstraksiyon

Kütahya Belediyesi Hekim Sinan Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bahçesinden temin edilen ve kurutulup öğütülen *Prunella vulgaris* L. bitkisi, her bir balona onar g olmak üzere 4 farklı balona alındı. Her bir balonda tek bir çözücü olacak şekilde ayrı ayrı 90 mL etil asetat, 90 mL hekzan, 90 mL distile su ve 90 mL metanol balonlara ilave edildi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla 48 saat karıştırıldıktan sonra, 48 saatin sonunda tülbent ve süzgeç kâğıdı yardımıyla droglar süzüldü ve çözücüler rotary evaporatörde alçak basınç altında 40 °C'yi geçmeyen ısıda uzaklaştırıldı. Bitkilerden elde edilen ekstraktlar test işlemlerinde kullanılmak üzere koyu renkli cam şişelerde ağzıları kapalı olarak -20 °C'de buzdolabında muhafaza edildi.

3.2.2. Anti-biyofilm testler

Prunella vulgaris L. bitkisinin anti-biyofilm aktivitesinin belirlenmesi işleminde kullanılan bakteriler *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Moraxella catarrhalis* için Brain Heart Infusion Broth (BHI) besiyeri kullanılmıştır. BHI besiyerlerine 10⁶ cfu/mL test edilecek mikroorganizma süspansiyonu eklenmiştir. Daha sonra uygun sıcaklıklar olan 30-37 °C’lerde 24 saat üremeleri sağlanmıştır. 24 kuyucuklu polistren plaklarda bakteri türleri için BHI besiyerlerinden 800 µL, üretilen kültürlerden 100 µL ve *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarından (her bir ekstrakt için ayrı deney düzeneği kurulmuştur) 100 µL eklenmiştir ve 48 saat boyunca 37 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası plaklar 1xPBS (fosfat tamponu) ile yıkanmış ve 65 °C’de kurutulduktan sonra kristal viyole ile boyanmıştır. Boyama işleminin ardından plaklar 3 kez distile su ile yıkanmıştır ve ardından % 30’luk asetik asit çözeltisi ile çözülmüştür. Çözülen kuyucuklardaki kristal viyole çözeltisine 595 nanometrede spektrofotometrede okuma yapılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Bütün deneyler üç kez tekrarlanacak şekilde planlanmıştır. Elde edilen sonuçlar kontrole (sadece bakteri ve besiyeri) karşı değerlendirilmiştir (Alem ve Douglas, 2004; Kaya ve ark., 2016; O’Toole, 2011).

3.2.3. Anti-fungal testler

İn vitro deneme olarak gerçekleştirilen bu testte besiyeri olarak *Potato Dekstrose Agar* (PDA) kullanılmıştır. Hazırlanan *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının son konsantrasyonu % 2 olacak şekilde otoklavlanan *Potato Dekstrose Agar* (PDA) besiyerlerine eklenmiştir. Katılaştıran PDA besiyerine; *Phytophthora infestans*, *Sclerotinia sclerotium*, *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* patojenlerine ait 5 mm miselyum disklerin ekimi yapılmıştır ve 25 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Uygulamalar 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. 7 gün süren inkübasyon süresinden sonra funguslara ait miselyum çapları ölçülmüştür.

Kontrol grubu olarak ekstraksız besiyerleri kullanılmıştır. Uygulama yapılan petrilerdeki veriler kontrol grubu ile karşılaştırılarak % engelleme oranları saptanmıştır.

Engelleme oranı hesaplanmasında kullanılan formül aşağıda verilmiştir (Deans ve Sobada, 1990).

$$\text{MGI (\%)} = [(dc - dt) / dc] \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{MGI} = \text{Engelleme (\%)} \quad (3.2)$$

$$dc = \text{Kontrol petrisindeki radial büyüme (mm)} \quad (3.3)$$

$$dt = \text{Muameleli petrideki radial büyüme (mm)} \quad (3.4)$$

Anti-fungal testler boyunca petrilerde gelişim göstermeyen fungusların misel parçaları, ekstraktan ari steril PDA besiyerlerine alınmış ve 7 gün boyunca gözlenmiştir.

3.2.4. Anti-mikrobiyal testler

Anti-mikrobiyal testlerde *Prunella vulgaris* L. bitkisinin su, hekzan, etil asetat ve metanollü ekstraktlarının 4 adet gram pozitif ve 6 adet gram negatif olmak üzere toplamda 10 adet insan patojeni olan bakteri suşlarının üremelerine karşı etkileri Disk Difüzyon Tekniği kullanılarak saptandı.

Anti-mikrobiyal testlerde kullanılan gram pozitif (*Streptococcus pyogenes* (ATCC® 19615), *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923), *Bacillus cereus* (ATCC®10876), *Clostridium perfringens* (ATCC 22525)) ve gram negatif (*Salmonella typhimurium* (ATCC® 14028), *Serratia marcescens* (ATCC® 8100), *Escherichia coli* (ATCC® 25922), *Proteus vulgaris* (ATCC® 13315), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC® 13883), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 27853)) bakteri suşları Gaziosmanpaşa Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı stok kültüründen temin edilmiştir.

Disk Difüzyon Yöntemi

Prunella vulgaris L. bitkisinin ekstraktları filtrasyonla steril hale getirildikten sonra (0.22 µm çaplı filtre, Millex®) 100 mg/mL olacak şekilde stoklar hazırlanmıştır. Önceden yüzeyine 0.1 mL bakteri kültürü inoküle edilen Muller Hinton Agar (MHA) içeren besi ortamlarına 6 mm çaplı steril diskler (Glass Microfibre, Whatman®) yerleştirildi. Bu disklerin her birine 5 µL bitki ekstresi emdirildi. In vitro ortamda *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarına disk başına 250 µg'lık konsantrasyonda bitki ekstresi uygulandı.

Pozitif kontrol olarak ise anti-mikrobiyal test çalışmalarında sıklıkla kullanılan, bakterisidal etki gösterip hücre duvarı kalın olan gram pozitif bakterilere karşı daha fazla etkili olan penisilin (15 g) ve bütün bakteri türlerine karşı etkili olup geniş bir spektruma sahip olan tetrasiklin (15 g) kullanıldı. Diskler etrafında oluşan inhibisyon zonları mm cinsinden ölçüldü (Turker ve Usta, 2008).

Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Değerlerinin Belirlenmesi

Prunella vulgaris L. ekstrelerinin anti-mikrobiyal etkileri tarandıktan sonra en etkili *Prunella vulgaris* L. ekstrelerinin minimal inhibisyon konsantrasyonları değerleri belirlenmiştir. Ekstrelerin stok solüsyonlarından (100 mg/mL) seri dilüsyonları elde edilip (0.195-100 mg/mL) Broth Dilüsyon Metodu uygulanarak MİK değerleri saptanmıştır. Pozitif kontrol olan penisilin ve tetrasiklin de aynı ölçekte dile edilmiştir (Wayne, 2003).

3.2.5. Anti-quorum sensing testleri

Anti-quorum Sensing Disk Difüzyon ve Agar Difüzyon Testi

30 C sıcaklıkta 18 saat üretilen *C. violaceum* 026 biyosensör suşunun kültür bulanıklığı 0.5'e (108 cfu/mL) ayarlandı. 10 mL yumuşak Luria Bertani (LB) agar besiyerine 100 L *C. violaceum* 026 ve 50 L C6-Homoserin lakton (HSL) bakteri sinyal molekülü eklendi. Katılaşan yumuşak Luria Bertani (LB) agar besiyerine literatüre uygun konsantrasyonlarda elde edilmiş olan *Prunella vulgaris* L. ekstraktları emdirilmiş diskler yerleştirildi. Daha sonra inkübasyon için 30 C sıcaklıktaki etüvde 48 saat bekletildi. Agar difüzyon testi için ise; % 0.9 agar, 100 L *C. violaceum* 026 ve 50 L C6-HSL ekstraktı bulunan LB besiyeri katılaştığında 4 mm genişliğinde kuyucuklar açılıp, bu kuyucuklara farklı dozlardaki *Prunella vulgaris* L. ekstraktları eklendi. Petriler 30 C sıcaklıkta 48 saat inkübasyona bırakıldı. Birbirini doğrulama amaçlı Agar difüzyon ve disk difüzyon testleri en az üçer kez tekrarlandı (Zaki ve ark., 2013; Priya ve ark., 2013; Zahin ve ark., 2010; Chong ve ark., 2011).

Anti-quorum Sensing Aktivitenin Spektrofotometrik Ölçümü

Anti-quorum sensing aktivitenin spektrofotometrik ölçümü, farklı çözücülerde hazırlanmış olan *Prunella vulgaris* L. bitki ekstraktlarından prosedüre uygun olarak elde edilen viyolasin pigmentinin izolasyonu ile gerçekleştirildi.

Viyolasin Pigment İzolasyonu Prosedürü

Chromobacterium violaceum 026 veya *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472'nin 20 mL Luria Bertani besiyerindeki taze kültüründen 100 µL alındı ve 1 mL Luria Bertani besiyerine inoküle edildi. 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılan kültür vorteks ile karıştırılıp ve bu tüpten 200 µL kültür alınıp 1.5 mL ependorf tüpe aktarıldı. Hücrenin parçalanması için üzerine 200 µL % 10 SDS çözeltisi eklenip 5 dakika boyunca vortekslendikten sonra 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Viyolasin pigmenti izolasyonu için suyla doyurulmuş olan bütanol 900 µL (50 mL n-bütanol + 10 mL distile su) olarak tüpe eklendi ve 5 saniye vortekslendi. Daha sonra 10 000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Üstteki faz yeni bir tüpe aktarılarak 585 nanometrede mikroplate spektrofotometrede okunup viyolasin miktarı tespit edildi (Erdönmez, 2014).

3.2.6. GC-MS ve FT-IR analizleri

Prunella vulgaris L. bitkisinin ekstraktlarının FT-IR spektrumları KBr diskleri hazırlanarak Jasco FT/IR 430 model spektrofotometre ile 4000-400 cm^{-1} aralığında alınmıştır.

Prunella vulgaris L. bitkisinin ekstraktlarının GC-MS analizleri; Çizelge 3.2’de verilen koşullarda, Agilent marka GC-7890A gaz kromatografisi cihazı ve Agilent marka MS-5975C kütle spektrometre cihazı ile yapılmıştır.

Çizelge 3.2. GC-MS Cihazı Çalışma Koşulları

Dedektör	FID
Taşıyıcı gaz	Helyum
Kolon	HP InnowaxCapillary; uzunluk 60.0 m x film kalınlığı 0.25 μm x iç çap 0.25 mm
Enjeksiyon hacmi	1 μL
Basınç	30.8 psi
Şırınga boyutu	10 μL
Dolum hızı	2 $\mu\text{L/s}$
Maksimum çalışma sıcaklığı	325 $^{\circ}\text{C}$
Toplam akış	76.865 mL/dk
Toplam analiz süresi	60 dk
Split oranı	40:1

Fırın programı 50 $^{\circ}\text{C}$ ’ye ayarlandı. 2 dakika başlangıç sıcaklığında beklendi. Daha sonra fırın programı 15 $^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ ısıtma hızıyla 120 $^{\circ}\text{C}$ ’ye çıkarıldı. Bu sıcaklıkta 2 dakika beklendikten sonra fırın programı 5 $^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ ısıtma hızıyla 300 $^{\circ}\text{C}$ ’ye çıkarıldı ve 16 dakika bu sıcaklıkta tutuldu.

4. BULGULAR

4.1. Ekstraksiyon Verimleri

Prunella vulgaris L. bitkisinin ekstraksiyon verimleri aşağıda verilen formülle hesaplandı.

$$\% \text{ verim} = (W1*100)/W2 \quad (4.1)$$

Formülde yer alan W1 ifadesi, kuru ekstraktın ağırlığını; W2 ifadesi ise ekstraksiyonda kullanılmış olan kuru haldeki bitkisel materyalin ağırlığını gram cinsinden ifade etmektedir.

Çözücü olarak etil asetat kullanıldığında ekstraksiyon verimi;

$$\% \text{ verim} = (1.04*100)/10 = 10.4 \text{ olarak hesaplandı.} \quad (4.2)$$

Çözücü olarak su kullanıldığında ekstraksiyon verimi;

$$\% \text{ verim} = (1.28*100)/10 = 12.8 \text{ olarak hesaplandı} \quad (4.3)$$

Çözücü olarak metanol kullanıldığında ekstraksiyon verimi;

$$\% \text{ verim} = (1.12*100)/10 = 11.2 \text{ olarak hesaplandı.} \quad (4.4)$$

Çözücü olarak hekzan kullanıldığında ekstraksiyon verimi;

$$\% \text{ verim} = (0.63*100)/10 = 6.3 \text{ olarak hesaplandı.} \quad (4.5)$$

4.2. Ekstraktların Bakteriyel Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkisi

Bu tez çalışması kapsamında yer alan anti-biyofilm testlerde; *Prunella vulgaris* L. bitki ekstraktlarının mikrobiyal biyofilm üzerine etkinlikleri saptanıp 595 nm’de spektrofotometrede okumalar yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar pozitif kontrol olarak kullanılan ve bakterilerin yüzeye tutunmasındaki en yüksek absorbans değerini veren nitroselüloz membrana tutunmaya karşı değerlendirilmiş olup Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Listeria monocytogenes, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella enterica* gibi gıda patojenlerinin oluşturduğu biyofilm üzerinde yara otunun ekstraktlarının etkisi görülmesine karşın *E. coli* 0157:H7 gibi önemli gıda patojenlerinde etkinliği gözlenmemiştir.

Listeria monocytogenes'in üzerine hekzan ile hazırlanan ekstrenin en az etkiyi gösterdiği görülmektedir. *Vibrio parahaemolyticus*'a yara otunun su ile hazırlanan ekstresi en fazla etkiye sahipken bunun yanı sıra yara otunun metanol ile hazırlanan ekstresi de en az etkiye sahiptir. *Salmonella enterica*'ya hekzan ile hazırlanan ekstrenin en az etkiyi gösterdiği tespit edilirken, metanol ile hazırlanan ekstrenin ise en fazla etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Elde edilen tüm ekstraktlar, toplum sağlığını etkileyen ve toplu ölümlere sebep olan *Shigella sonnei*'nin oluşturduğu biyofilmi etkilemektedir. *E. coli* O157: H7 EHEC (*Enterohemorajic Escherichia coli*) grubu içinde bulunmaktadır. *E. coli* O157: H7 dondurulmuş ya da soğukta saklanan ürünlerde, düşük su aktivitesine sahip ürünlerde ve asidik gıdalarda uzun süre canlılığını sürdürebilir. *E. coli* O157: H7; *Shigella dysenteriae* tip 1'in ürettiği "shiga toksin" ile homolog yapıda "shiga benzeri toksin 1 (stx 1)" ve "shiga benzeri toksin 2 (stx 2)" adı verilen kısaca verotoksin olarak adlandırılan bu toksinleri üreten en tehlikeli gıda kaynaklı patojen bakteriler arasında değerlendirilmektedir. Bu iki ciddi enfeksiyon etkeninden *E. coli* O157: H7 bakterisinin biyofilm üretme kapasitesini yara otu ekstraktlarının etkilemediği fakat *Shigella sonnei* bakterisinin ürettiği biyofilm üzerinde ise etil asetat ile hazırlanan ekstraktın en fazla etkilediği görülmüştür. Hastane kaynaklı enfeksiyon etkenlerinden *S. auerus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* ve *E. faecalis* gibi biyofilm oluşturma yetenekleri yüksek olan ve çeşitli yüzeylere tutunan bu bakterilerde, çözücülerin etkinliği saptanmamıştır. *M. catarrhalis*'in oluşturduğu biyofilmi ise sadece yara otunun metanol ekstresi etkilemiştir. *K. oxytoca*'nın oluşturduğu biyofilme yara otunun su ve metanol ekstraktlarının etkisinin yüksek olduğu gözlenmiştir. *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* bakterilerinin biyofilm oluşturma yeteneklerini etkilemediği saptanmıştır.

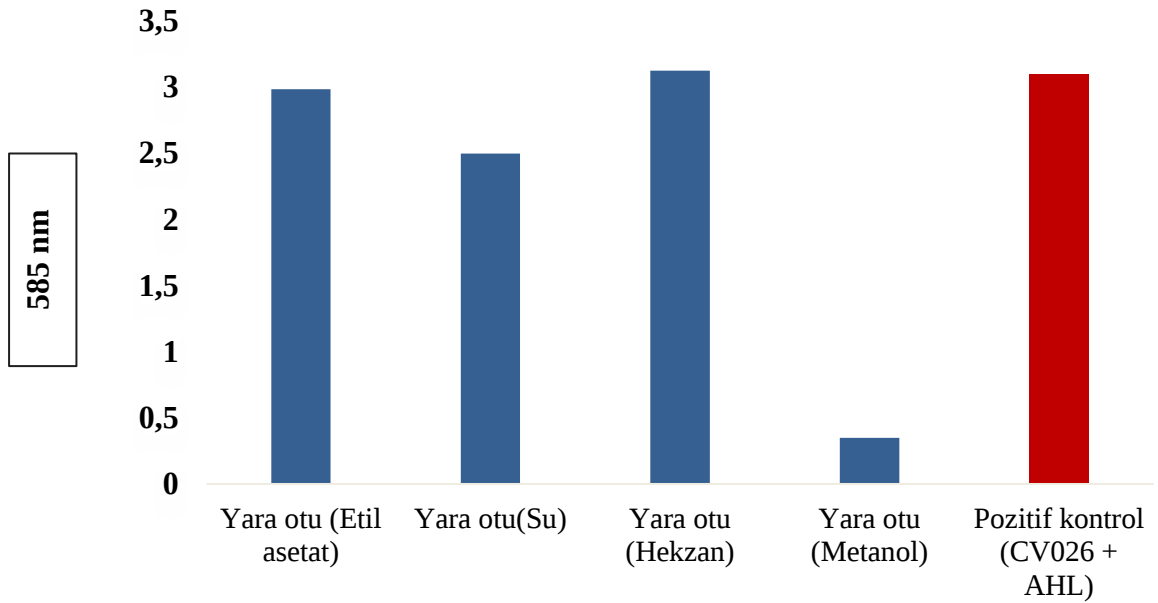
Çizelge 4.1. *Prunella vulgaris* L. bitki ekstraktlarının biyofilm oluşturma yetenekleri

Bakteri Bitki ekstraktı	Yara otu (Metanol)	Yara otu (Etil asetat)	Yara otu (Su)	Yara otu (Hekzan)	Nitroselüloz Membrana Tutunma (Kontrol)
<i>Listeria m.</i>	3.105	3.048	2.87	3.29	2.96
<i>Salmonella t.</i>	3.162	3.031	1.821	2.742	3.501
<i>Vibrio p.</i>	3.1	2.96	2.801	2.921	3.01
<i>Salmonella e.</i>	3.106	3.405	3.162	3.425	3.106
<i>S.aureus</i>	2.354	2.354	2.354	2.354	2.354
<i>P. aeruginosa</i>	1.879	1.879	1.879	1.879	1.879
<i>E. faecalis</i>	1.765	1.765	1.765	1.765	1.765
<i>Bacillus s.</i>	2.734	2.734	2.734	2.734	2.734
<i>Bacillus c.</i>	2.784	2.784	2.784	2.784	2.784
<i>Acinetobacter b.</i>	2.319	2.319	2.319	2.319	2.319
<i>Shigella s.</i>	1.319	1.109	1.462	1.265	1.467
<i>E. coli O157:H7</i>	2.673	2.673	2.673	2.673	2.673
<i>E. coli</i>	1.593	1.593	1.593	1.593	1.593
<i>K. pneumoniae</i>	1.672	1.672	1.672	1.672	1.672
<i>K. oxytoca</i>	1.253	1.453	1.153	1.453	1.453
<i>M. catarrhalis</i>	1.274	1.842	1.842	1.842	1.842

4.3. Ekstraktların Anti-quorum Sensing Aktivitelerin Belirlenmesi

Çalışmamızda *Chromobacterium violaceum* CV026 (Biyosensör suş), *Chromobacterium violaceum* 12472 (Yabanıl Tip), *Chromobacterium violaceum* 31532 (Pozitif Kontrol) bakteri suşları kullanıldı. *Prunella vulgaris* L. 'nin ekstraktlarının anti-quorum sensing aktivitesinin etkisini saptamak için birbirini doğrulamak amaçlı Disk Difüzyon ve Agar Difüzyon Testinin yanı sıra oluşan viyolasin pigmenti miktarı da ölçülmüştür.

Chromobacterium violaceum 026 suşu ve C6-açıl homoserin lakton sinyal molekülü olan ortamdan izole edilen viyolasin pigmenti pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Veriler sonucunda farklı çözücülerden elde edilen *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarından sadece metanol ekstraktının bakteriyel iletişim molekülü olan AHL üzerinde negatif bir etkisinin olduğu dolayısıyla *Prunella vulgaris* L. bitkisinin sadece metanollü ekstraktının anti-quorum sensing aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Etil asetat, su ve hekzan kullanılarak elde edilen ekstraktların ise bakteriyel iletişim molekülü olan AHL üzerinde herhangi bir etkinliği saptanmamıştır. Anti-quorum sensing aktivitenin belirlenmesinde virülans özellik olarak bilinen viyolasin pigment üretimine *Prunella vulgaris* L.'nin etkisinin saptanması enfeksiyonların tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir (Şekil 4.1).



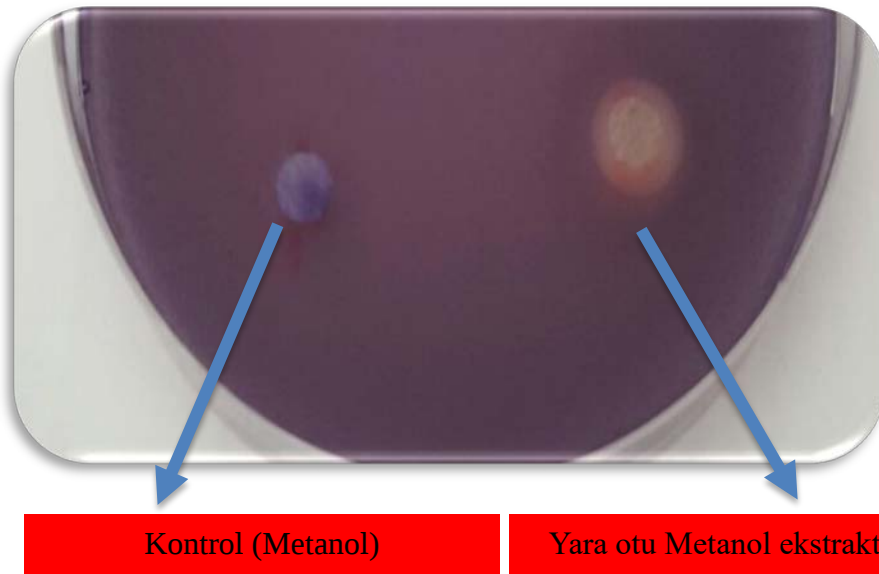
Şekil 4.1. *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının viyolasin pigment üretimine etkisi

Prunella vulgaris L. bitkisinin ekstraktlarına ait anti-quorum sensing aktiviteleri Çizelge 4.2’de yer almaktadır.

Çizelge 4.2. *Prunella vulgaris* L. bitki ekstraktlarının anti-quorum sensing aktiviteleri

Bitki ekstraktları	Anti-quorum sensing aktivite
Metanol	VAR
Etil asetat	YOK
Su	YOK
Hekzan	YOK

Yara otunun metanol ekstraktının anti-quorum sensing aktivitesi çalışmamızda saptanmış ve C6-HSL gibi gram negatif patojen bakteriler tarafından sıklıkla kullanılan bakteriyel iletişim molekülünü etkilediği belirlenmiştir. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanollü ekstraktının bakteriyel iletişim molekülü olan C6-HSL üzerindeki etkisi Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. *Prunella vulgaris* L.’nin metanol ekstraktının bakteriyel iletişim molekülü olan C6-HSL üzerindeki etkisi (Disk Difüzyon Yöntemi)

4.4. Anti-fungal Test Sonuçları

Şekil 4.3’de birkaç görüntüsü verilen anti-fungal testlerden elde edilen sonuçlara göre, yara otunun hekzan çözücüsüyle hazırlanan ekstraktlarının % 2’lik dozlarının *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani* ve *Sclerotinia sclerotium* üzerinde yapılan her 3 tekrarlı denemelerinde de patojenlerin miselyum gelişimini % 100 oranında engellediği saptanmıştır. Yara otunun etil asetat çözücüsüyle hazırlanan ekstraktının *Phytophthora infestans* patojeninin miselyum gelişimini % 100 oranında engellediği görülmüştür (Çizelge 4.3). Yapılan diğer testlerde ise yara otu bitki ekstraktlarının farklı düzeylerde engelleme oranına sahip olduğu saptanmıştır. Yara otunun metanollü ekstraktlarının dozlarında yapılacak artış miktarına göre *Phytophthora infestans*, *Sclerotinia sclerotium* ve *Rhizoctonia Solani* patojenlerinin miselyum gelişimi engelleme oranında artış olacağı düşünülmektedir (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5).

Yara otunun etil asetatlı ekstraktlarıyla yapılacak çalışmalarda ekstraktların son konsantrasyonu % 2’den yüksek tutulursa miselyum gelişimini engelleme oranının artabileceği düşünülmektedir. Yara otunun hekzan kullanılarak hazırlanacak olan ekstraktının son konsantrasyonunun % 2’den büyük olması halinde *Fusarium oxysporum* patojeninin miselyum gelişimin büyük oranda engelleneceği tahmin edilmektedir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.3. *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının *Phytophthora infestans* üzerindeki miselyum gelişimini engelleme oranları

PHYTOPHTHORA İNFESTANS		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
YARA OTU HEKZAN							
Tekrar No	1	0	0	-5	-2.5	100	100
	2	0	0	-5	-2.5	100	
	3	0	0	-5	-2.5	100	
YARA OTU METANOL		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
Tekrar No	1	8.1	8.35	3.23	1.61	94.14	92.27
	2	10.91	12.21	6.56	3.28	88.07	
	3	7.88	8.06	2.97	1.48	94.6	
YARA OTU ETİL ASETAT		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
Tekrar No	1	0	0	-5	-2.5	100	100
	2	0	0	-5	-2.5	100	
	3	0	0	-5	-2.5	100	

Phytophthora infestans kontrol no: 27.5

Çizelge 4.4. *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının *Sclerotinia sclerotium* üzerindeki miselyum gelişimini engelleme oranları

SCLEROTİNİA SCLEROTIUM		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
YARA OTU HEKZAN							
Tekrar No	1	0	0	-5	-2.5	100	100
	2	0	0	-5	-2.5	100	
	3	0	0	-5	-2.5	100	
YARA OTU METANOL		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
Tekrar No	1	21.53	24.92	18.22	9.11	66.86	69.88
	2	18.8	17.18	12.99	6.50	76.38	
	3	23.47	23.50	18.48	9.24	66.39	
YARA OTU ETİL ASETAT		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
Tekrar No	1	13.15	12.54	7.84	3.92	85.74	82.40
	2	14.90	14.55	9.72	4.86	82.32	
	3	16.65	16.31	11.48	5.74	79.13	

Sclerotinia sclerotium kontrol no: 27.5

Çizelge 4.5. *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının *Rhizoctonia solani* üzerindeki miselyum gelişimini engelleme oranları

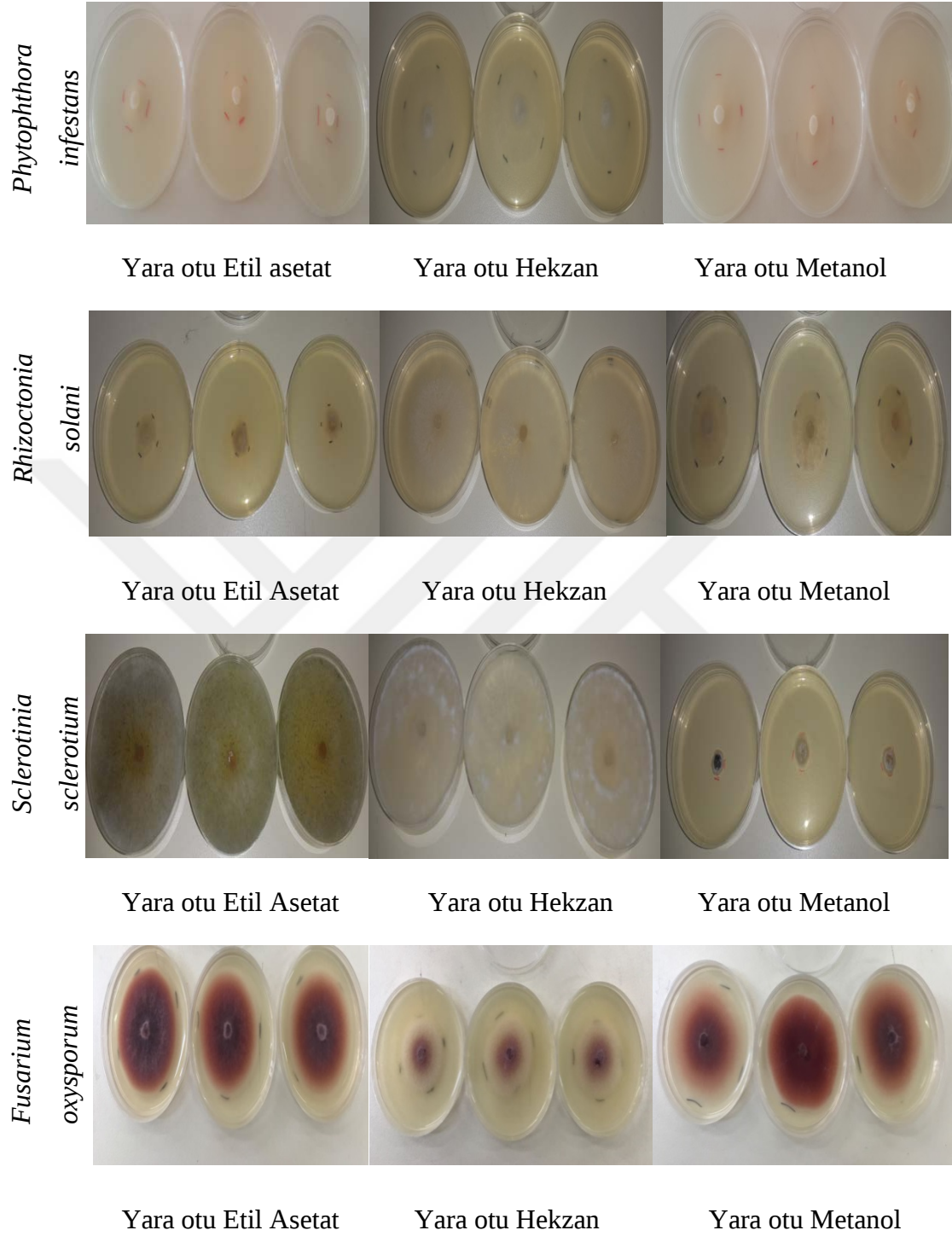
RHIZOCTONİA SOLANİ		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI(%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
YARA OTU HEKZAN							
Tekrar No	1	0	0	-5	-2.5	100	100
	2	0	0	-5	-2.5	100	
	3	0	0	-5	-2.5	100	
YARA OTU METANOL		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
Tekrar No	1	23.42	22.35	17.88	8.94	67.48	67.59
	2	22.04	22.74	17.39	8.69	68.38	
	3	23.02	23.37	18.19	9.09	66.92	
YARA OTU ETİL ASETAT		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
Tekrar No	1	26.27	25.47	20.87	10.43	62.05	57.29
	2	28.95	28.13	23.54	11.77	57.2	
	3	31.75	30.36	26.05	13.02	52.62	

Rhizoctonia solani kontrol no: 27.5

Çizelge 4.6. *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının *Fusarium oxysporum* üzerindeki miselyum gelişimini engelleme oranları

FUSARIUM OXYSPORUM		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
YARA OTU HEKZAN							
Tekrar No	1	34.59	31.73	28.16	14.08	48.8	50.40
	2	32.79	31.85	27.32	13.66	50.33	
	3	31.6	31.13	26.36	13.18	52.06	
YARA OTU METANOL		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
Tekrar No	1	48.14	45.9	42.02	21.01	23.6	21.93
	2	49.51	47.72	43.61	21.81	20.7	
	3	47.38	48.97	43.17	21.58	21.5	
YARA OTU ETİL ASETAT		ZON1 (mm)	ZON2 (mm)	TEK ÇAP ÖLÇÜM (mm)	İNKÜBASYON ÖLÇÜM (mm)	ENGELLEME ORANI (%)	ORTALAMA ENGELLEME ORANI (%)
Tekrar No	1	44.63	43.55	39.09	19.55	28.93	27.66
	2	44.82	45.22	40.02	20.01	27.24	
	3	44.97	45.55	40.26	20.13	26.80	

Fusarium oxysporum kontrol no: 27.5



Şekil 4.3. *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının anti-fungal aktivite testlerinden birkaç görüntü

4.5. Anti-mikrobiyal Test Sonuçları

Prunella vulgaris L. ekstratlarının Anti-mikrobiyal test sonuçları incelenip elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7’de ve MİK sonuçları ise Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının 10 farklı patojenik bakteri suşuna inhibisyon etkileri, (100 mg/mL); disk başına 250 µg bitki ekstresi; P, Penisilin (15µg); T, Tetrasiklin (15µg)

Bakteriyel Koloni Sayısı (0.5x10 ⁵ CFU/mL)	İnhibisyon Zonları (mm)					
	Yara Otu Ekstraktları				Pozitif Kontroller	
	Metanol	Hekzan	Etil Asetat	Su	P	T
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC®10876)	16	0	7	7	11	9
<i>Clostridium perfringens</i> (ATCC 22525)	14	14	16	7	12	16
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 25923)	8	7	14	7	11	12
<i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC® 19615)	10	15	19	6	12	9
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC® 14028)	13	16	7	6	10	12
<i>Escherichia coli</i> (ATCC® 25922)	7	14	14	8	10	12
<i>Serratia marcescens</i> (ATCC® 8100)	14	7	13	10	10	13
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC® 13883)	13	7	17	7	10	10
<i>Proteus vulgaris</i> (ATCC® 1331)	12	15	7	0	10	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC® 27853)	7	14	16	6	10	12

Bu yüksek lisans tez çalışması kapsamındaki *Prunella vulgaris* L. bitkisinin hekzan, etil asetat, su ve metanol çözücülerini kullanılarak elde edilen ekstraktlarının anti-mikrobiyal test çalışmaları Disk Difüzyon Yöntemi'ne göre yapıldı. Testlerde pozitif kontrol olarak penisilin (15µg) ve tetrasiklin (15µg) kullanıldı. Testlerden elde edilen sonuçlara göre (Çizelge 4.7) *Prunella vulgaris* L. bitki ekstraktları mikroorganizmaların büyük çoğunluğuna karşı aktivite göstermiştir.

Bacillus cereus'a (ATCC®10876) *Prunella vulgaris* L. bitkisinin hekzan ekstraktı etki göstermezken, metanol ekstraktı kontrollerin üzerinde etki göstermiştir.

Clostridium perfringens'e (ATCC 22525) *Prunella vulgaris* L. bitkisinin hekzan ve metanol ekstraktları penisilinden fazla tetrasiklinden az etki gösterirken, etil asetat ekstraktı ise penisilinden fazla tetrasiklinle aynı etkiyi göstermiştir.

Staphylococcus aureus'a (ATCC® 25923) *Prunella vulgaris* L. bitkisinin etil asetat ekstraktı kontrollerin üzerinde etki göstermiştir.

Streptococcus pyogenes'e (ATCC® 19615) *Prunella vulgaris* L. bitkisinin hekzan ve etil asetat ekstraktları kontrollerin üzerinde etki gösterirken, metanol ekstraktı penisilinden düşük tetrasiklinden yüksek etki göstermiştir.

Salmonella typhimurium'a (ATCC® 14028) *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanol ve hekzan ekstraktları kontrollerin üzerinde etki göstermiştir.

Escherichia coli'ye (ATCC® 25922) *Prunella vulgaris* L. bitkisinin hekzan ve etil asetat ekstraktları kontrollerin üzerinde bir etki göstermiştir.

Serratia marcescens'e (ATCC® 8100) *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanol ekstraktı kontrollerin üzerinde bir etki gösterirken, etil asetat ekstraktı penisilinden yüksek tetrasiklinle aynı etkiyi göstermiştir. Su ekstraktı ise penisilinle aynı, tetrasiklinden düşük etki göstermiştir.

Klebsiella pneumoniae'ye (ATCC® 13883) *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanol ve etil asetat ekstraktları kontrollerin üzerinde bir etki göstermiştir.

Proteus vulgaris'e (ATCC® 1331) *Prunella vulgaris* L. bitkisinin su ekstraktı etki göstermezken, metanol ve hekzan ekstraktları kontrollerin üzerinde bir etki göstermiştir.

Pseudomonas aeruginosa'ya (ATCC® 27853) *Prunella vulgaris* L. bitkisinin hekzan ve etil asetat ekstraktları kontrollerin üzerinde bir etki göstermiştir.

Çizelge 4.8. *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) sonuçları (mg/ml)

Bakteri suşları (0.5x10 ⁵ CFU/mL)	Yara Otu Ekstraktları			
	Metanol	Hekzan	Etil Asetat	Su
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC®10876)	1.56	0	0	0
<i>Clostridium perfringens</i> (ATCC 22525)	6.25	6.25	1.56	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 25923)	0	0	6.25	0
<i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC® 19615)	0	3.12	0.195	0
<i>Serratia marcescens</i> (ATCC® 8100)	6.25	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> (ATCC® 25922)	0	6.25	6.25	0
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC® 14028)	0	1.56	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC® 13883)	0	0	0.78	0
<i>Proteus vulgaris</i> (ATCC® 1331)	0	3.12	0	0
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC® 27853)	0	6.25	1.56	0

Prunella vulgaris L. bitkisinin ekstraktlarının MİK çalışması, en etkili ekstreler için yapıp sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanol ekstresinin *Bacillus cereus* (ATCC®10876) bakterisine karşı, hekzan ekstresinin *Salmonella typhimurium* (ATCC® 14028) bakterisine karşı, etil asetat ekstresinin ise *Streptococcus pyogenes* (ATCC® 19615) bakterisine karşı en dirençli ekstreler olduğu gözlemlendi. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin su ekstresinin ise MİK çalışmasında kullanılan bakteri suşlarından hiçbirini inhibe etmediği saptandı.

4.6. GC-MS Analiz Sonuçları

4.6.1. *Prunella vulgaris* L.'nin hekzanlı ekstraktının GC-MS analiz sonuçları

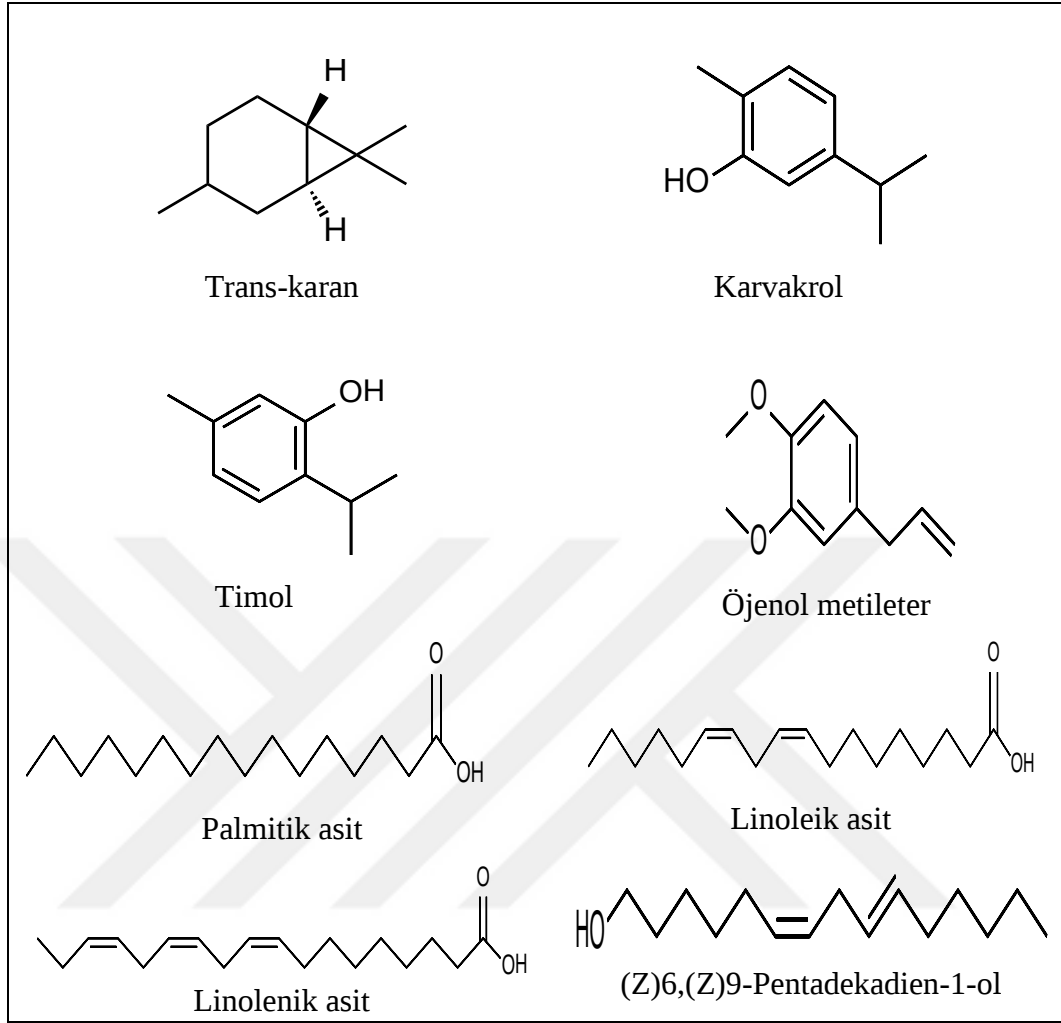
3.2.6'da belirtilen yönteme göre *Prunella vulgaris* L. bitkisinin hekzanlı ekstraktının GC-MS analizi yapılmıştır. Analiz sonucu  izelge 4.9'da, GC-MS analizinde bulunan bileşiklere ait CAS numaraları  izelge 4.10'da, *Prunella vulgaris* L. bitkisinin hekzanlı ekstraktında yer alan bileşiklerin kimyasal yapıları şekil 4.4'de, hekzanlı ekstraktın GC kromatogramı ise şekil 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.9. *Prunella vulgaris* L.'nin hekzanlı ekstraktının GC-MS analiz sonucu

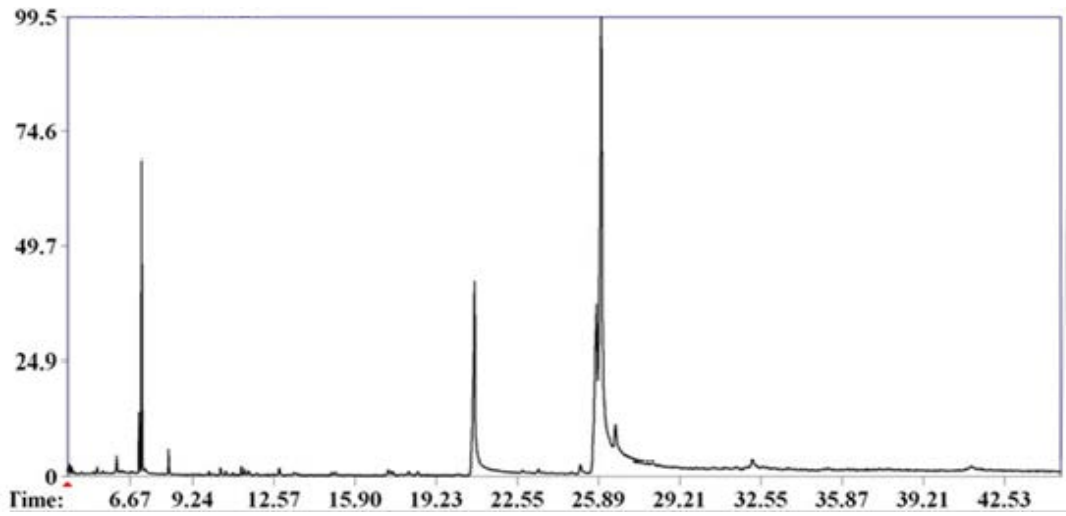
RT (dk)	% Oran	Bileşik İsmi	Kapalı Formül	Molekül Ağırlıkları (g/mol)
6.13	0.41	Trans-karan	C ₁₀ H ₁₈	138.25
7.05	1.19	Karvakrol	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22
7.14	5.81	Timol	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22
8.25	0.64	öjenol metileter	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178.23
20.8	16.13	Palmitik asit	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42
25.79	15.81	Linoleik asit	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.45
25.99	45.5	Linolenik asit	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	264.40
26.58	4.35	(Z)6,(Z)9-Pentadekadien-1-ol	C ₁₅ H ₂₈ O	224.38
Toplam	89.84			

Çizelge 4.10. *Prunella vulgaris* L.'nin hekzanlı ekstraktının GC-MS analizinde bulunan bileşiklerin CAS numaraları

Bileşik İsmi	CAS No
Trans-karan	018968-23-5 81
Karvakrol	000089-83-8 93
Timol	000089-83-8 94
Öjenol metileter	000093-15-2 95
Palmitik asit	000057-10-3 97
Linoleik asit	000060-33-3 99
Linolenik asit	000463-40-1 99
(Z)6,(Z)9-Pentadekadien-1-ol	077899-11-7 91



Şekil 4.4. *Prunella vulgaris* L.'nin hekzanlı ekstraktında yer alan bileşiklerin kimyasal yapıları



Şekil 4.5. *Prunella vulgaris* L.'nin hekzanlı ekstraktının GC kromatogramı

4.6.2. *Prunella vulgaris* L.'nin etil asetatlı ekstraktının GC-MS analiz sonuçları

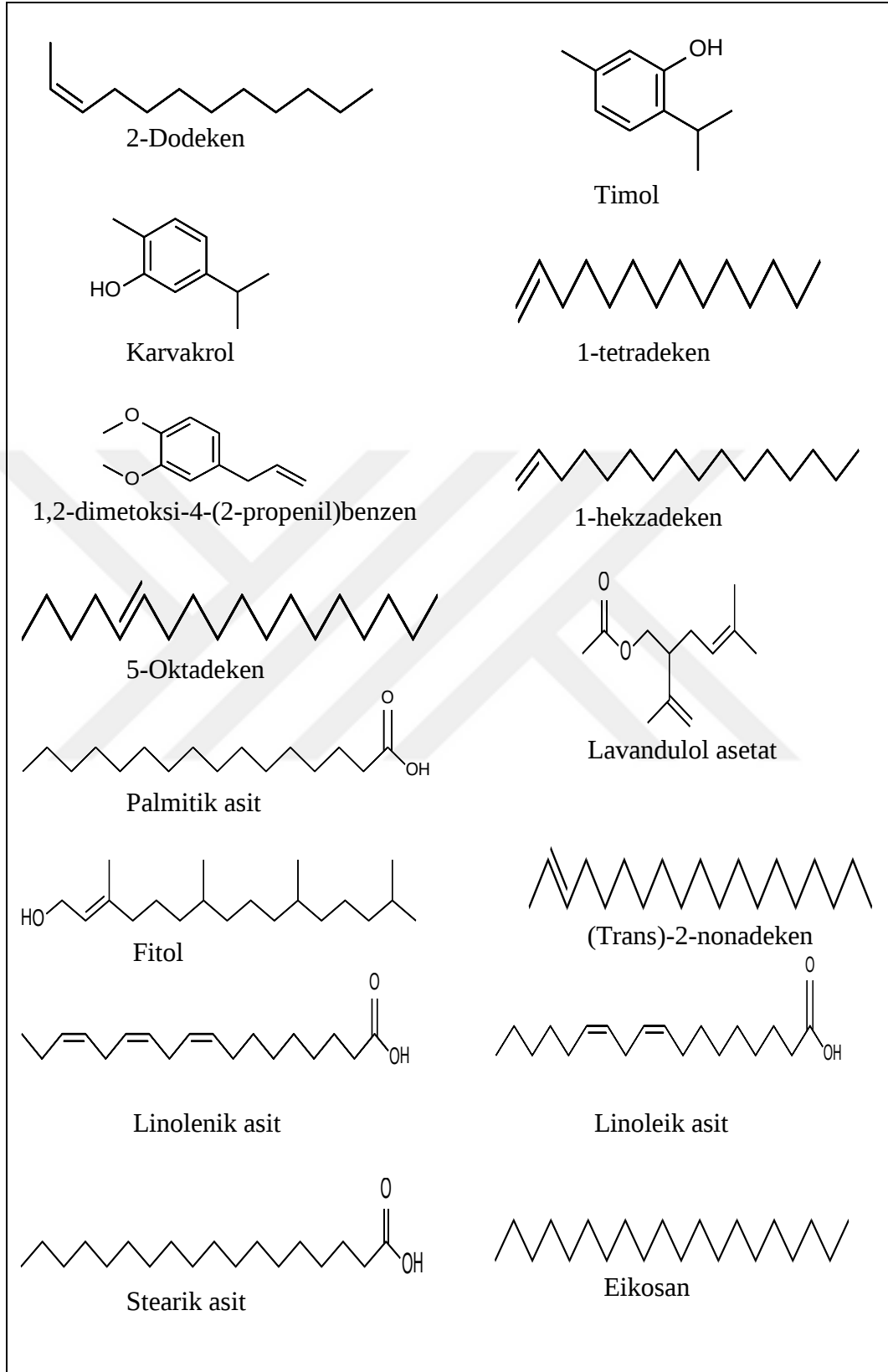
3.2.6'da belirtilen yöntemle göre *Prunella vulgaris* L. bitkisinin etil asetatlı ekstraktının GC-MS analizi yapılmıştır. Analiz sonucu Çizelge 4.11'de, GC-MS analizinde bulunan bileşiklere ait CAS numaraları Çizelge 4.12'de, *Prunella vulgaris* L. bitkisinin etil asetatlı ekstraktında yer alan bileşiklerin kimyasal yapıları Şekil 4.6'da, etil asetatlı ekstrakta ait GC kromatogramı ise Şekil 4.7'de yer almaktadır.

Çizelge 4.11. *Prunella vulgaris* L.'nin etil asetatlı ekstraktının GC-MS analiz sonucu

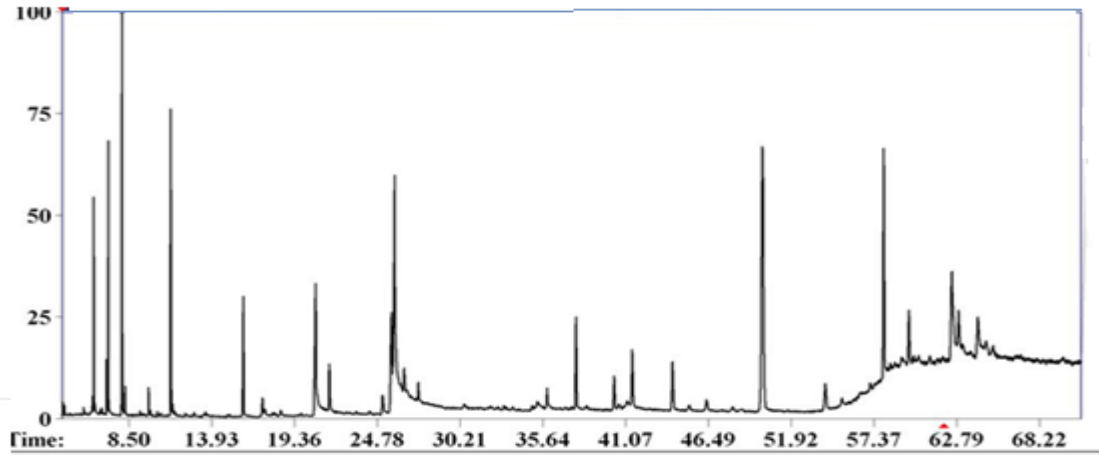
RT (dk)	% Oran	Bileşik İsmi	Kapalı Formül	Molekül Ağırlıkları (g/mol)
6.2	2.66	2-dodeken	C ₁₂ H ₂₄	168.32
7.05	0.69	Timol	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22
7.14	2.91	Karvakrol	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22
8.05	5.03	1-tetradeken	C ₁₄ H ₂₈	196.37
8.25	0.52	1,2-dimetoksi-4-(2-propenil)benzen	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178.23
11.25	5.11	1-hekzadeken	C ₁₆ H ₃₂	224.43
16.0	2.62	5-oktadeken	C ₁₈ H ₃₆	252.48
17.26	0.49	Lavandulol asetat	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.29
20.74	6.21	Palmitik asit	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42
21.66	1.83	(Trans)-2-nonadeken	C ₁₉ H ₃₈	266.51
25.13	0.98	Fitol	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53
25.72	4.29	Linoleik asit	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.45
25.92	14.32	Linolenik asit	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	264.40
26.52	2.19	Stearik asit	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.48
50.04	16.24	Eikosan	C ₂₀ H ₄₂	282.55
Toplam	66.09			

Çizelge 4.12. *Prunella vulgaris* L.'nin etil asetatlı ekstraktının GC-MS analizinde bulunan bileşiklerin CAS numaraları

Bileşik İsmi	CAS No
2-dodeken	007206-13-5 93
Timol	000089-83-8 87
Karvakrol	000499-75-2 93
1-tetradeken	001120-36-1 96
1,2-dimetoksi-4-(2-propenil)benzen	000093-15-2 97
1-hekzadeken	000629-73-2 99
5-oktadeken	007206-21-5 97
Lavandulol asetat	025905-14-0 58
Palmitik asit	000057-10-3 96
(Trans)-2-nonadeken	052132-58-8 94
Fitol	002855-19-8 83
Linoleik asit	000060-33-3 99
Linolenik asit	000463-40-1 99
Stearik asit	999073-00-2 90



Şekil 4.6. *Prunella vulgaris* L.'nin etil asetatlı ekstraktında yer alan bileşiklerin kimyasal yapıları



Şekil 4.7. *Prunella vulgaris* L.'nin etil asetatlı ekstraktının GC kromatogramı

4.6.3. *Prunella vulgaris* L.'nin metanol ekstraktının GC-MS analiz sonuçları

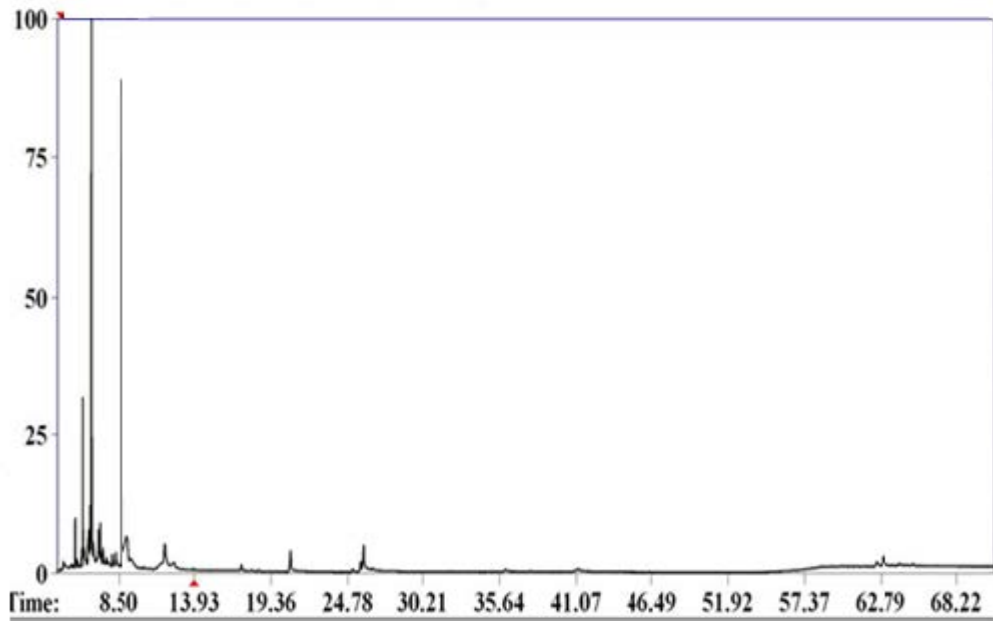
3.2.6'da belirtilen yöntemle göre *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanol ekstraktının GC-MS analizi yapılmıştır. Analiz sonucu Çizelge 4.13'de, GC-MS analizinde bulunan bileşiklere ait CAS numaraları Çizelge 4.14'de, GC kromatogramı Şekil 4.8'de, *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanollü ekstraktında yer alan bileşiklerin kimyasal yapıları ise Şekil 4.9'da yer almaktadır.

Çizelge 4.13. *Prunella vulgaris* L.'nin metanollü ekstraktının GC-MS analiz sonucu

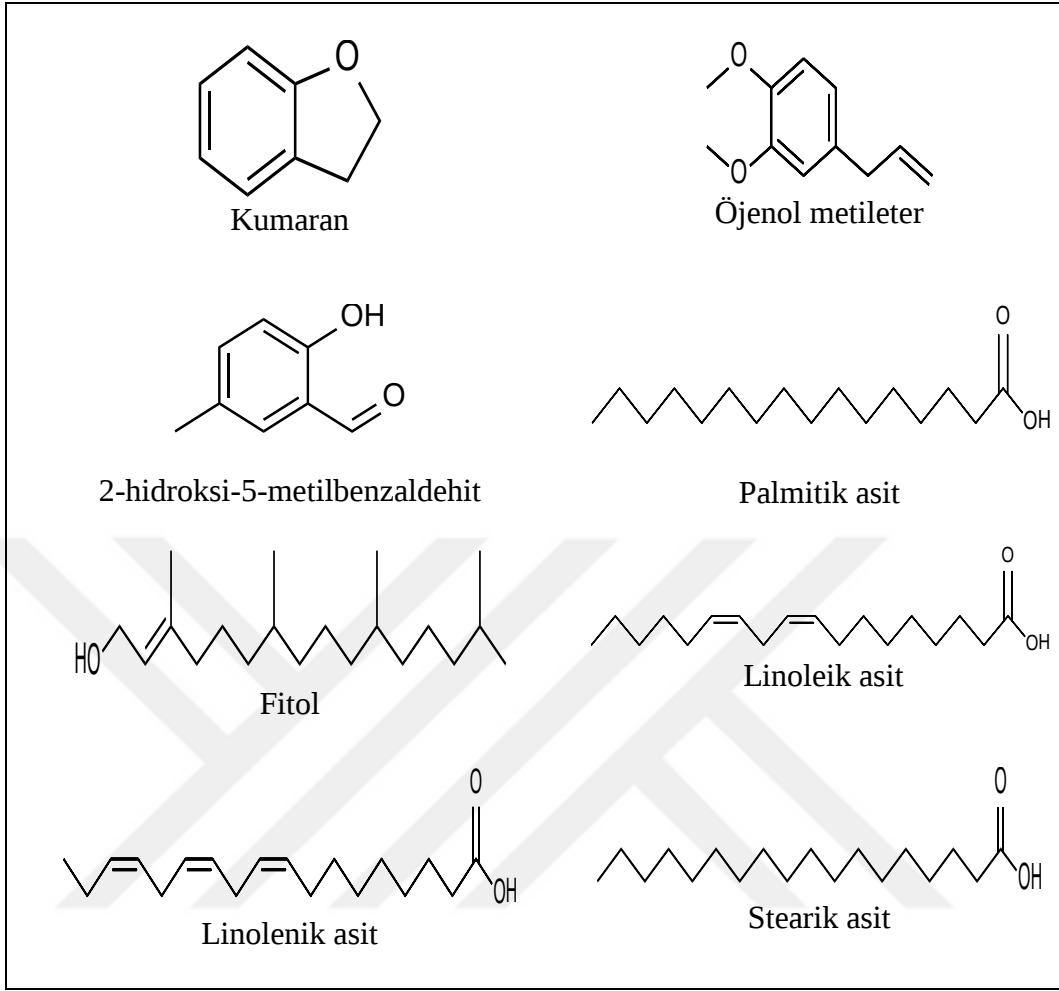
RT (dk)	% Oran	Bileşik İsmi	Kapalı Formül	Molekül Ağırlıkları (g/mol)
6.43	2.72	Kumaran	C ₈ H ₈ O	120.15
8.25	2.00	Öjenol metileter	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178.23
8.70	15.70	2-hidroksi-5-metilbenzaldehit	C ₈ H ₈ O ₂	136.15
20.73	2.04	Palmitik asit	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42
25.15	0.33	Fitol	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53
25.70	0.88	Linoleik asit	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	282.25
25.90	3.31	Linolenik asit	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	264.40
26.55	0.46	Stearik asit	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.48
Toplam	27.44			

Çizelge 4.14. *Prunella vulgaris* L.'nin metanollü ekstraktının GC-MS analizinde bulunan bileşiklerin CAS numaraları

Bileşik İsmi	CAS No
Kumaran	000496-16-2 46
Öjenol metileter	000093-1-2 90
2-hidroksi-5-metilbenzaldehit	010130-14-0 53
Palmitik asit	000057-10-3 98
Fitol	000150-86-7 49
Linoleik asit	000060-33-3 99
Linolenik asit	000463-40-1 98
Stearik asit	999073-00-2 56



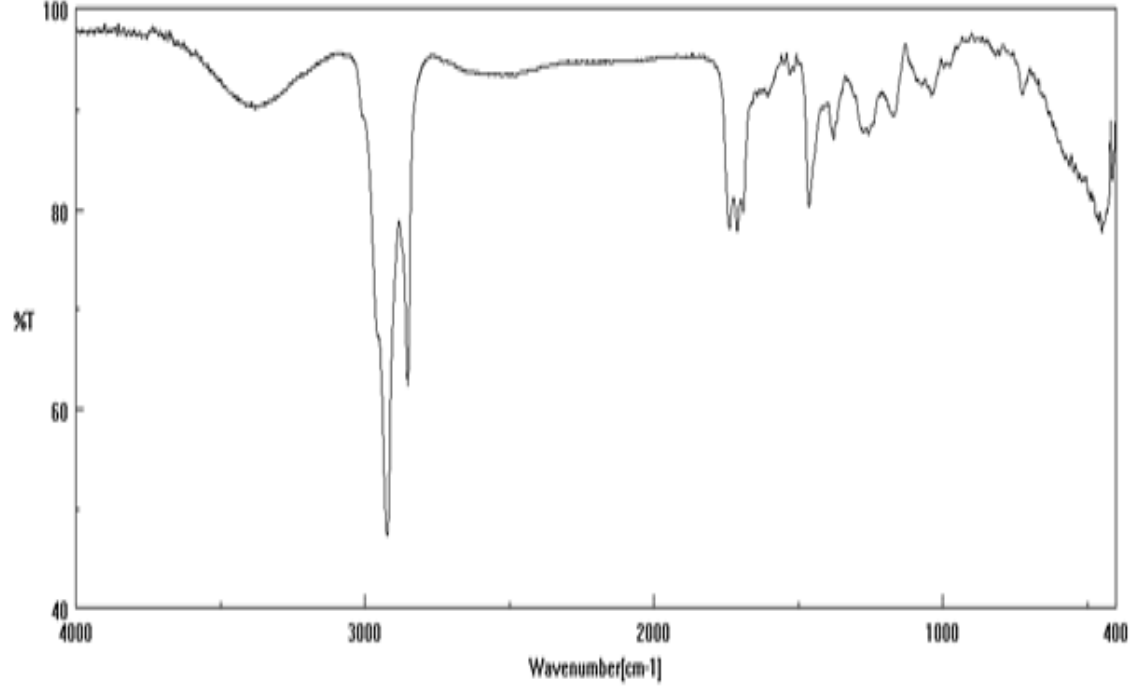
Şekil 4.8. *Prunella vulgaris* L.'nin metanollü ekstraktının GC kromatogramı



Şekil 4.9. *Prunella vulgaris* L.'nin metanollü ekstraktında yer alan bileşiklerin kimyasal yapıları

4.7. *Prunella vulgaris* L. Ekstraktlarının FT-IR Analiz Sonuçları

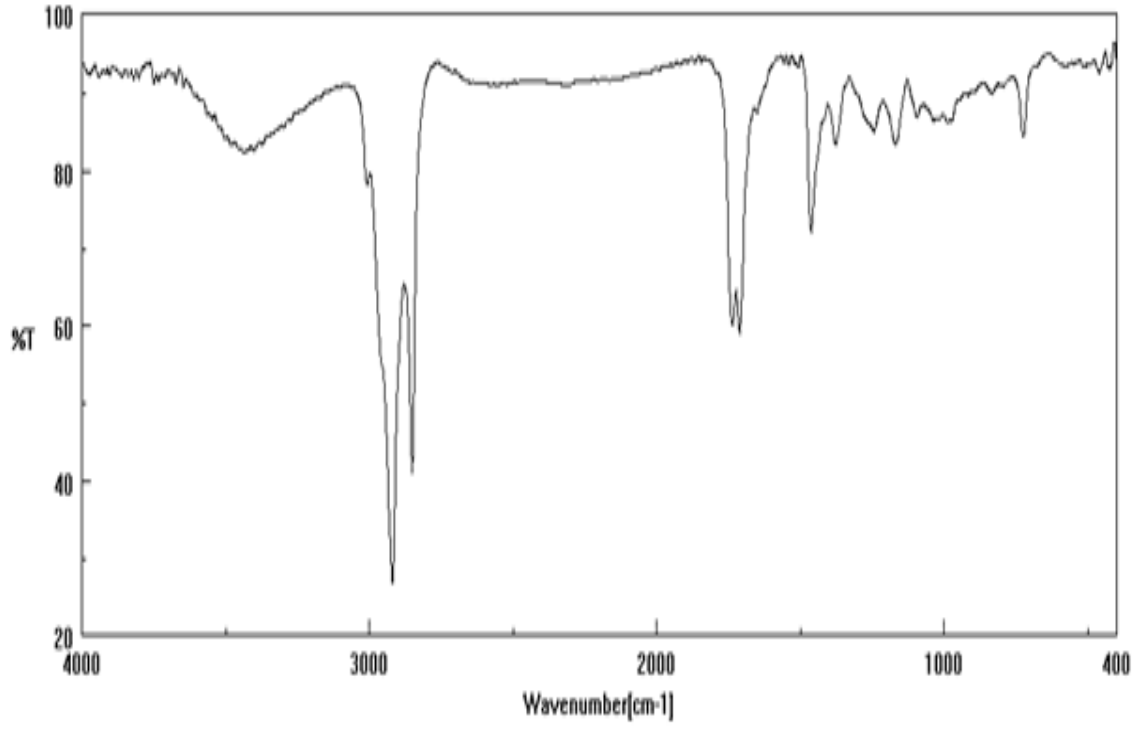
4.7.1. *Prunella vulgaris* L.'nin etil asetatlı ekstraktının FT-IR analiz sonuçları



Şekil 4.10. *Prunella vulgaris* L.'nin etil asetatlı ekstraktının IR spektrumu

IR Spektrumu (KBr, cm⁻¹): 3381, 2922, 2851, 1711, 1463, 1256, 1169, 1039.

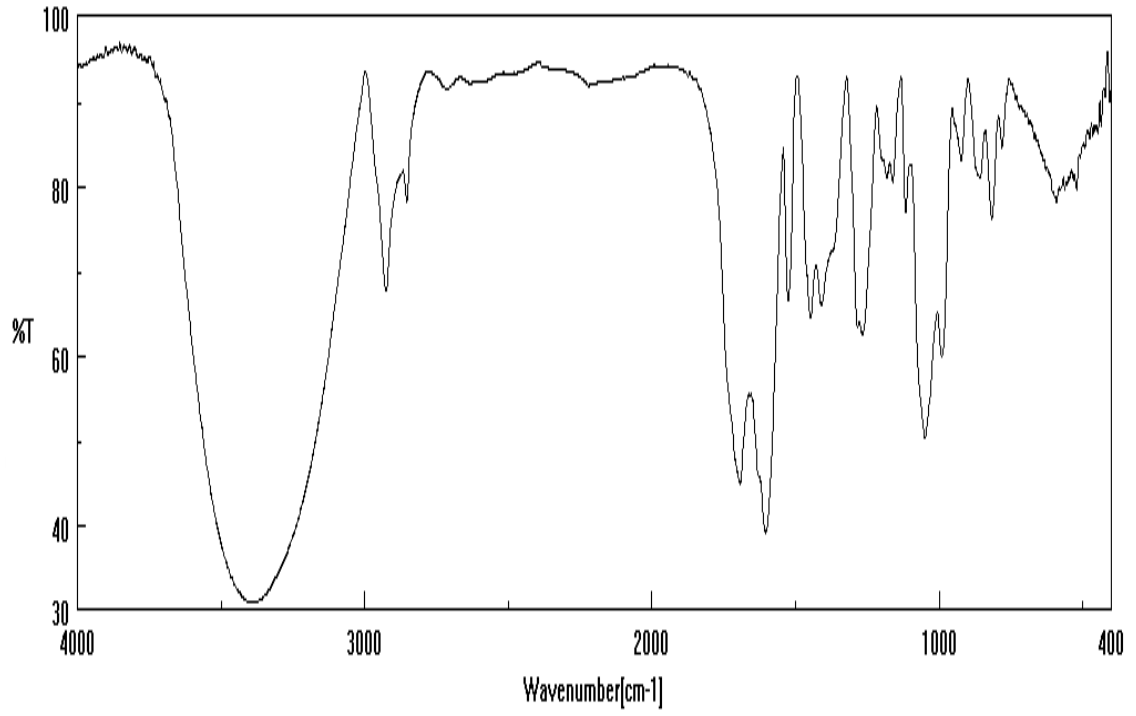
4.7.2. *Prunella vulgaris* L.'nin hekzanlı ekstraktının FT-IR analiz sonuçları



Şekil 4.11. *Prunella vulgaris* L.'nin hekzanlı ekstraktının IR spektrumu

IR Spektrumu (KBr, cm⁻¹): 3437, 2919, 2851, 1737, 1712, 1462, 1244, 1170.

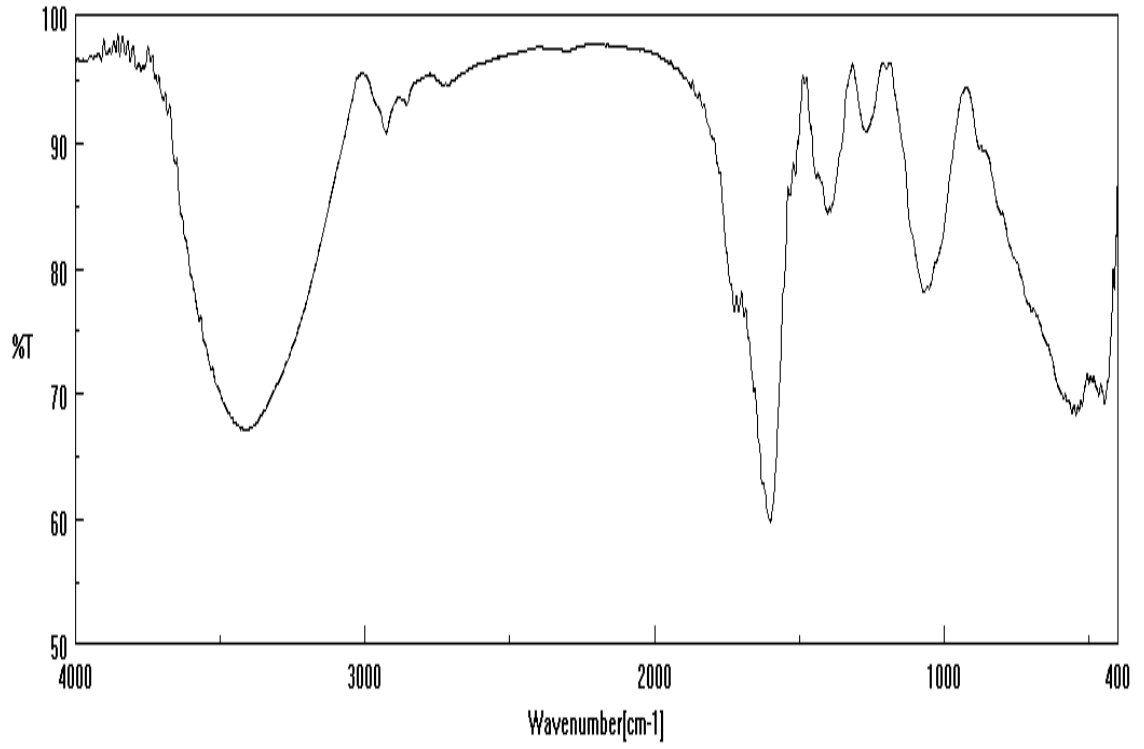
4.7.3. *Prunella vulgaris* L.'nin metanollü ekstraktının FT-IR analiz sonuçları



Şekil 4.12. *Prunella vulgaris* L.'nin metanollü ekstraktının IR spektrumu

IR Spektrumu (KBr, cm⁻¹): 3391, 2924, 2852, 1693, 1603, 1525, 1410, 1268, 1162.

4.7.4. *Prunella vulgaris* L.'nin sulu ekstraktının FT-IR analiz sonuçları



Şekil 4.13. *Prunella vulgaris* L.'nin sulu ekstraktının IR spektrumu

IR Spektrumu (KBr, cm⁻¹): 3409, 2926, 2855, 1602, 1410, 1402, 1268, 1071.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitki ekstraktlarının biyolojik aktivitelerini araştıran çeşitli araştırmalarda, farklı bitkiler için farklı çözücüler kullanılmaktadır. Bu çözücülerin arasında dietileter, metanol, n-bütanol, hekzan, etil asetat, aseton, klorofom ve diklorometan yer almaktadır. Çalışmamız kapsamında uygulanabilirliği ve ekonomikliği açısından metanol, su, etil asetat ve hekzan çözücülerini kullanılmıştır.

Bakteriyel iletişim sistemi tarafından düzenlenen biyofilm oluşturma yetenekleri birçok bakteri türünün enfeksiyon geliştirmesini kolaylaştırır. Yapılan çalışmalara göre, bakterilerin biyofilm oluşturarak bir yüzeyde çoğalmaları onların fiziksel ve kimyasal etkilerden, örneğin anti-bakteriyel maddelerden ve canlılığın bağışıklık sisteminden korunabildiğini göstermektedir. Ayrıca bakterinin kolay besin maddesi bulabilmesi ve ortamdaki diğer bakteriler ile besin mücadelesi vermemesi, ortamdaki hakim canlı olarak enfeksiyonu geliştirmesi önemli bir avantajdır. Biyofilm sadece patojen bakteriler tarafından üretilen bir yapı değildir, birçok bakteri tarafından üretilir. Dolayısıyla her canlı gibi bakteriler de yaşamlarını devam ettirebilmek için bazı mekanizmalar geliştirir, biyofilm oluşturma yetenekleri de bunlardan sadece biridir. Tabi bu durum gıda sektörü (gıda hijyeni, sanitasyon aşamaları, ürün kontaminasyonu) ve arıtım tesisleri (evsel su sistemleri) gibi alanlarda insan sağlığı açısından sorun teşkil etmektedir. Çeşitli bitkilerin uçucu yağları ile yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre, bitkilerden elde edilen uçucu yağların anti-biyofilm etkinliklerinin diğer bileşiklere göre daha fazla olduğu saptanmıştır (Bazargani ve Rohloff, 2016).

Çalışmamız kapsamında sağlık, gıda ve çevresel etkileri de yaygın olan bakteri türlerinin oluşturdukları biyofilm üzerine *Prunella vulgaris* L. bitki ekstraktlarının etkisi saptanmıştır. Diğer çözücüler ile hazırlanan ekstraktlara göre *Prunella vulgaris* L. bitkisinin su ile elde edilen ekstraktlarının biyofilm üzerinde daha fazla etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bu durum ise, doğal ortamında su ile temas halinde olan bitkilerde bakterilerin biyofilm oluşturamayacağını göstermesi bakımından önem taşımaktadır.

Anti-mikrobiyal testler kapsamında *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının 4 gram pozitif ve 6 gram negatif olmak üzere, 10 farklı insan patojeni mikroorganizmaya karşı anti-mikrobiyal aktiviteleri Disk Difüzyon Tekniği ile incelenmiştir. Ekstraktların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) Broth Dilüsyon Tekniği ile gözlenmiştir. Anti-mikrobiyal analizler yapılarak bitki ekstrelerinin direnç gösterdiği mikroorganizmalar saptanmıştır. Testlerden elde edilen sonuçlar *Prunella vulgaris* L. bitki ekstraktlarının, mikroorganizmaların büyük çoğunluğuna karşı aktivite gösterdiğini belirtmesi bakımından önemlidir. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon sonuçlarına göre ise, *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanol ile hazırlanan ekstresinin *Bacillus cereus* (ATCC®10876) bakterisine karşı, hekzan ile hazırlanan ekstresinin *Salmonella typhimurium* (ATCC® 14028) bakterisine karşı, etil asetat ile hazırlanan ekstresinin ise *Streptococcus pyogenes* (ATCC® 19615) bakterisine karşı en aktif ekstreler olduğu gözlemlendi. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin su ile hazırlanan ekstresinin ise Minimum İnhibisyon Konsantrasyon çalışmasında kullanılan bakteri suşlarından hiçbirini inhibe etmediği saptandı.

Anti-fungal aktivite testlerinde besiyeri olarak *Potato Dekstrose Agar* (PDA) kullanılmıştır. Hazırlanan *Prunella vulgaris* L. ekstraktlarının % 2'lik dozlarda *Phytophthora infestans*, *Sclerotinia sclerotium*, *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* patojenlerine ait 5 mm miselyum disklerin ekimi yapılarak anti-fungal aktivite çalışmaları yapılmıştır. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin ekstraktlarının % 2'lik dozlarının fungusların miselyum gelişimi üzerindeki engelleyici etkisinin ekstraktın hazırlandığı çözücünün türü ve fungusun türüne göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarla insan ve çevre sağlığı açısından birçok faydası bulunan *Prunella vulgaris* L. bitkisinin ekstraktlarının büyük oranda anti-fungal etki gösterdiği saptanmıştır.

Faydalı baharatlardan ve şifalı bitkilerden alınan toplam 46 ekstraktın in vitro anti-bakteriyel aktivitelerini saptamak amacıyla 5 gıda kaynaklı bakteri türü (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella anatum*) için agar-kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada, araştırılan ekstrelerin gıda kaynaklı patojenlere karşı anti-bakteriyel etki sergilediği ve çalışma sonuçlarının çalışmamızda elde edilen sonuçlarla benzer olduğu görülmüştür. Sözü

edilen bu çalışmada test edilen özütlerin anti-bakteriyel etkinliğinin fenolik bileşenlerle yakından ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Shan ve ark., 2007).

Prunella vulgaris L. bitkisinin anti-mikrobiyal aktivitesini belirlemek amacı ile yapılan çalışmalarda, bitki özütlerinin bazı gram negatif ve pozitif bakterilerle, bazı fungus türleri üzerinde anti-mikrobiyal aktivite özelliği gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen ekstraktların hem bakteriyel hem de fungus türleri üzerinde aktivite göstermiş olması bitkinin içeriğinde bulunan etkin maddelerin çeşitliliğini düşündürmektedir. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin GC-MS analizleri de bu beklentiyi doğrulamaktadır. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin hekzan ile hazırlanan ekstresinin GC-MS analizinde; Trans-karan, Karvakrol, Timol, Öjenol metileter, Palmitik asit, Linoleik asit, Linolenik asit, (Z)6,(Z)9-Pentadekadien-1-ol tespit edilmiştir. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin etil asetat ile hazırlanan ekstresinin GC-MS analizinde; 2-dodekan, Timol, Karvakrol, 1-tetradekan, 1,2-dimetoksi-4-(2-propenil)benzen, 1-hekzadekan, 5-oktadekan, Lavandulol asetat, Palmitik asit, 10-heneikosan, Fitol, Linoleik asit, Linolenik asit, Stearik asit, Eikosan tespit edilmiştir. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanol ile hazırlanan ekstresinin GC-MS analizinde; Kumaran, Öjenol metileter, 2-hidroksi-5-metilbenzaldehit, Palmitik asit, Fitol, Linoleik asit, Linolenik asit, Stearik asit tespit edilmiştir.

Ayrıca *Prunella vulgaris* L. bitkisinin etil asetat, su, metanol ve hekzandan elde edilen ekstraktlarının FT-IR spektrumları alınmıştır. Yara otunun etil asetat ekstraktının FT-IR spektrumunda 3381 cm^{-1} , 2922 cm^{-1} ve 2851 cm^{-1} , 1463 cm^{-1} , 1039 cm^{-1} , 1711 cm^{-1} , 1256 cm^{-1} ve 1169 cm^{-1} 'de yer alan pikler sırasıyla; -OH gerilme, alifatik C-H gerilme, alifatik C-H eğilme, aromatik C-H eğilme, C=O keton, C-O-C asimetrik gerilme ve C-O-C simetrik gerilme frekanslarına karşılık gelmektedir. Yara otunun hekzan ekstraktının karakteristik FT-IR spektrumunda; 3437 cm^{-1} , 2919 cm^{-1} ve 2851 cm^{-1} , 1462 cm^{-1} , 1737 cm^{-1} , 1712 cm^{-1} , 1244 cm^{-1} , 1170 cm^{-1} 'de yer alan pikler sırasıyla; -OH gerilme, alifatik C-H gerilme, alifatik C-H eğilme, aldehit C=O, keton C=O, C-O-C asimetrik bağ gerilme ve C-O-C simetrik bağ gerilme frekanslarına karşılık gelmektedir. Yara otunun metanol ekstraktının karakteristik FT-IR spektrumunda; 3391 cm^{-1} , 2924 cm^{-1} ve 2852 cm^{-1} , 1410 cm^{-1} , 1603 cm^{-1} ve 1525 cm^{-1} , 1693 cm^{-1} , 1268 cm^{-1} , 1162 cm^{-1} 'de çıkan pikler sırasıyla; -OH, alifatik C-H gerilme, alifatik C-H eğilme, aromatik C=C, C=O, C-

O-C asimetrik gerilme, C-O-C simetrik bağ gerilme frekanslarına karşılık gelmektedir. Yara otunun su ekstraktının karakteristik FT-IR spektrumunda; 3409 cm^{-1} , 2926 ve 2855 cm^{-1} , 1410 cm^{-1} , 1602 ve 1402 cm^{-1} , 1071 cm^{-1} , 1268 cm^{-1} 'de çıkan pikler sırasıyla; -OH, alifatik C-H gerilme, alifatik C-H eğilme, aromatik C=C, aromatik C-H eğilme, C-O-C asimetrik bağ gerilme frekanslarına karşılık gelmektedir. FT-IR analiz sonuçlarına göre, *Prunella vulgaris* L. bitkisinin etil asetat ve hekzan ekstraktlarında ise, hidroksi veya karboksil grupları ile karbonil grupları içeren bileşiklerin sayıca daha az olduğu görülmektedir. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanol ve su ekstraktlarında hidroksi veya karboksil grupları ile karbonil grupları içeren bileşiklerin sayıca daha çok olduğu görülmektedir.

Tez kapsamında yapılan anti-quorum sensing çalışmalarında kullanılan *Prunella vulgaris* L. bitkisinin etil asetat, su, hekzan ve metanol ile hazırlanan ekstraktlarından sadece metanol ile hazırlanan ekstraktının bakteriyel bir otokontrol sistemi olan quorum sensing (çevre algılama sistemi) sistemini inhibe ettiği saptanmış olup, C6-HSL gibi gram negatif patojen bakteriler tarafından sıklıkla kullanılan bakteriyel haberleşme sistemi molekülünü etkilediği ve Açıl-Homoserin Lakton molekülü üzerinde negatif düzeyde bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. C6-HSL, birçok gram negatif patojen (*Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *A. baumannii* gibi) bakteriler tarafından iletişim molekülü olarak kullanılmaktadır.

Prunella vulgaris L. bitkisinin geleneksel tıpta halk tarafından eski çağlardan beri kullanılagelmesi birçok tedavide de kullanılabileceğini göstermiştir. Ayrıca *Prunella vulgaris* L. bitkisinin metanol ile hazırlanan ekstraktının bakteriyel haberleşme sistemini engellemesi, hastalıklara sebebiyet veren enfeksiyonların tedavi sürecine de önemli bir katkı sağlayacaktır. Bu sayede canlılarda hastalıklara yol açan bakterilerin popülasyonunda ciddi biçimde azalmalar görülüp hastalıkların bulaşması önlenecek, hastalıkların tedavisine yeni bir boyut kazandırılacaktır. Yapılacak olan çalışmalar sonucunda tedavi süreci kısalsın, ekonomik kayıplar da minimize edilecektir.

Geleneksel tıpta kullanılan *Prunella vulgaris* L. gibi bitkilerin araştırılması, antibiyotik direnci olmadan bakteriyel hastalıkların önlenmesine katkıda bulunabilir. Yaptığımız çalışmalar gelecekte yapılacak çalışmalarla desteklenirse, gıdadan tarıma, tekstilden kozmetiğe, dermatolojiden sağlığa kadar yaşamın her alanında kendine yer edinmiş ve özellikle yurtdışındaki sanayi kuruluşlarınca yaygın olarak kullanılagelen ayrıca ülkemizde de yerel bir yayılım gösteren *Prunella vulgaris* L. bitkisinin önemi daha çok anlaşılacak olup, bilim dünyası için yeni keşiflerin kapısı aralanacaktır.



6. KAYNAKLAR

- Adamkova, H., Vicar, J., Palasova, J., Ulrichova, J., Šimanek, V., 2004. *Macleya cordata* and *Prunella vulgaris* in oral hygiene products – their efficacy in the control of gingivitis. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia* 148, 103–105.
- Ahmed, J.H. ve Ezer, N., 2008. *Prunella* L. türlerinin kimyasal bileşikleri ve biyolojik aktiviteleri. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 28(1), 93-113.
- Alem, M.A. ve Douglas, L.J., 2004. Effects of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs on biofilms and planktonic cells of *Candida albicans*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(1), 41-47.
- Anonim, 2016. Local Common Names. <http://www.cabi.org/isc/datasheet/116556-> (22.02.2016)
- Anonim, 2017. Self-Heal. home.howstuffworks.com/self-heal.htm-(28.05.2017).
- Başer, K.H.C., 1993. Essential Oils of Anatolian Labiateae: A Profile. *Acta Horticulturae*, 333, 217-237.
- Baytop, T., 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. *Nobel Tıp Kitabevleri*, 480s, İstanbul.
- Baytop, T., 2000. Anadolu Dağlarında 50 Yıl “Bir Bitki Avcısının Gözlemleri”. *Nobel Tıp Kitabevleri*, 188s, İstanbul.
- Bazargani, M.M., Rohloff, J., 2016. Antibiofilm activity of essential oils and plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilms. *Food Control*, 61, 156-164.
- Bertelsen, G., Christophersen, C., Nielsen, P.H., Madsen, H.L., Stadel, P., 1995. Chromatographic isolation of antioxidants guided by a methyl linoleate assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 1272-1275.
- Boşgelmez-Tınaz, G., 2003. Quorum Sensing in Gram-Negative Bacteria. *Turk Journal of Biology*, 27, 85-93.
- Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E., 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161(5), 839-851.
- Bozkurt, F., Kaya, S., Tekin, R., Gulsun, S., Deveci, O., Dayan, S., Hoşoğlu, S., 2014. "Analysis of antimicrobial consumption and cost in a teaching hospital." *J Infect Public Health*, 7(2), 161-169.
- Chen, H., Masaka, F., Quinghua, F., Jon, C., Gerald, R.F., 2004. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101(14), 5048-5052.
- Chiu, L.C., Zhu, W., Ooi, V.E., 2004. A polysaccharide fraction from medicinal herb *Prunella vulgaris* downregulates the expression of Herpes simplex virus antigen in Vero Cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(1), 63-68.
- Choi, J.H., Choi, J.H., Kim, D.Y., Yoon, J.H., Youn, H.Y., Yi, J.B., Rhee, H.I., Ryu, K.H., Jung, K., Han, C.K., Kwak, W.J., Cho, Y.B., 2002. Effects of SKI 306X. A new herbal agent, on proteoglycan degradation in cartilage explant culture and collagenase-in-duced rabbit osteoarthritis model osteoarthritis and cartilage, 10(6), 471-478.
- Chong, Y.M., Yin, W.F., Ho, C.Y., Mustafa, M.R., Hadi, A.H., Awang, K., ve ark., 2011. Malabaricone C from *Myristica cinnamomea* exhibits anti-quorum sensing activity. *Journal of Natural Products*, 74(10), 2261-2264.

- Chung, J., Goo, E., Yu, S., Choi, O., Lee, J., Kim, J., 2011. Small-molecule inhibitor binding to an N-acyl-homoserine lactone synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108(29), 12089-12094.
- Collins, N.H., Lessey, E.C., Fowler, L., Palomino, W.A., Houwing, A.M., Lessey, B.A., 2006. Herbal therapy for endometriosis: *Prunella vulgaris* (self heal) reduces the size and number endometriotic xenografts in immunodeficient RAG-2/gamma(c) knockout mice. *Fertility and Sterility*, 86(3) Supp. 1, 274.
- Davis, P.H., 1965-1985. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 1-9, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K., 1982. *Flora of Turkey and The East Aegen Islands*, Vol. 7, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K., 1988. *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Vol. 10, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Deans, S.G., Sobada, K.P., 1990. Antimicrobial Properties of Marjoram (*Origanum marjorana* L.) Volatile Oil. *Flavour Fragrance Journal*, 187-190.
- De Kievit, T.R., Iglewski, B.H., 2000. Bacterial Quorum Sensing in Pathogenic Relationships. *Infection and immunity*, 68(9), 4839-4849.
- Dmitruk, S.I., Dmitruk, S.E., Khoruzhaya, T.G., Berezovskaya, T.P., Pharmacognostic study of *Prunella vulgaris*. *Rastit Resur*, 21(4), 463-469 (1985), Ref: C.A. 104, 65934t (1986).
- Dmitruk, S.I., Dmitruk, S.E., Berezovskaya, T.P., Prishchep, T.P., 1987. Flavones of *Prunella vulgaris*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, 3, 449-450.
- Dorosh, N.M., Domaratskaya, O.P., Phytochemical studies on plants of the *Prunella vulgaris* variety and of the type of the common meadow geranium, *Referat. Zhur. Khim., Biol. Khim.* 2, 64-67 (1955), Ref: C.A. 50, 8812f (1956).
- Edmondson, J.R., 1982. *Prunella* L. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Ed: Davis, P.H., University Press, Edinburg, Vol. 7, 295-297.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Erik, S., Đlarıslan, R., 1989. *Türkiye'nin Tehlike Altındaki Nadir ve Endemik Bitkileri. Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayınları*.
- Erbil, N., 2012. Ardahan yöresinde yetişen *Lamiaceae* (*Labiatae*) familyasına ait bazı türlerin biyoaktiviteleri. Doktora tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş.
- Erdönmez, D., 2014. Nozokomiyal ve Toprak İzolatı *Acinetobacter* Türlerinin Quorum Sensing Sinyal Moleküllerinin Belirlenmesi. Doktora tezi, Biyoloji AnaBilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Erik, S., Tarıkahya, B., 2004. Türkiye Florası Üzerine. *Kebikeç İnsan Bilimleri İçin Kaynak Araştırmaları Dergisi*, Alp Matbaası, Ankara, 17, 139-163.
- Fang, X., Chang, R.C., Yuen, W.H., Zee, S.Y., 2005. Immune modulatory effects of *Prunella vulgaris* L. on monocytes/macrophages. *International Journal of Molecular Medicine*, 15(3), 491-6.
- Fang, X., Yu, M.M., Yuen, W.H., Zee, S.Y., Chang, R.C., 2005. Immune modulatory effects of *Prunella vulgaris* L. on monocytes/macrophages. *International Journal of Molecular Medicine*, 16(6), 1109-1116.
- Farnsworth, N.R., Akerev, O., Bingel, A.S., 1985. *The Bulletin of WHO.*, 63: 9865-9871.

- Frezza, M., Soulere, L., Reverchon, S., Guilian, N., Jerez, C., Queneau, Y., Doutheau, A., 2008. Synthetic homoserine lactone-derived sulfonylureas as inhibitors of *Vibrio fischeri* quorum sensing regulator. *Bioorg Med Chem* 16(7), 3550-3556.
- Geske, G.D., O' Neill, J.C., Miller, D.M., Mattmann, M.E., Blackwell, H.E., 2007. Modulation of bacterial quorum sensing with synthetic ligands: systematic evaluation of N-acylated homoserine lactones in multiple species and new insights into their mechanisms of action. *Journal of the American Chemical Society*, 129(44), 13613-13625.
- Gutierrez, J.A., Crowder, T., Rinaldo-Matthis, A., Ho, M.C., Almo, S.C., Schramm, V.L., 2009. Transition state analogs of 5'-methylthioadenosine nucleosidase disrupt quorum sensing. *Nature Chemical Biology*, 5(4), 251-257.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Baser, K.H.C. 2000. *Flora of Turkey*, Volume 11, Edinburgh University Press. Edinburgh.
- Hedge, I.C., 1992. A global survey of the *Lamiaceae*. *Advances in Labiatea Science*, 7-18.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- Hirakawa, H., Tomita, H., 2013. Interference of bacterial cell-to-cell communication: A new concept of antimicrobial chemotherapy breaks antibiotic. *Frontiers in Microbiology*, 4.
- Hoffmann, N., Lee, B., Hentzer, M., Rasmussen, T.B., Song, Z., Johansen, H.K., Givskov, M., Hoiby, N., 2007. Azithromycin blocks quorum sensing and alginate polymer formation and increases the sensitivity to serum and stationary-growth-phase killing of *Pseudomonas aeruginosa* and attenuates chronic *P. aeruginosa* lung infection in Cfr(-/-) mice. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 51(10), 3677-3687.
- Hogan, D.A., 2006. Talking to Themselves: Autoregulation and Quorum Sensing in Fungi. *Eukaryotic Cell*, 5(4), 613-619.
- Ishida, T., Ikeda, T., Takiguchi, N., Kuroda, A., Ohtake, H., Kato, J., 2007. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* by N-acyl cyclopentyl amides. *Appl Environ Microbiol*, 73(10), 3183-3188.
- Jain, M., Saxena, V.K., 1984. Chemical examination of the fat from the leaves of *Prunella vulgaris*. *India Journal of Chemistry*, 56(3), 133-134.
- Jakobsen, T.H., Bragason, S.K., Phipps, R.K., Christensen, L.D., Van Gennip, M., Alhede, M., Skindersoe, M., Larsen, T.O., Hoiby, N., Biarnsholt, T., Givskov, M., 2012. Food as a source for quorum sensing inhibitors: iberin from horseradish revealed as a quorum sensing inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol*, 78(7), 2410-2421.
- Jakobsen, T.H., Van Gennip, M., Phipps, R.K., Shanmugham, M.S., Christensen, L.D., Alhede, M., ve diğerleri, 2012. Ajoene, a sulfur-rich molecule from garlic, inhibits genes controlled by quorum sensing. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 56(5), 2314-2325.
- Kageyama, S., Kurokawa, M., Shiraki, K., 2000. Extract of *Prunella vulgaris* spikes inhibits HIV replication at reverse transcription in vitro and can be absorbed from intestine in vivo. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 11(2), 157-164.

- Kahraman, A., Celep, F., Doğan, M., 2009. A New Record for the Flora of Turkey: *Salvia macrosiphon* Boiss. (*Labiatae*). Tr. J. of Botany, 33, 53-55.
- Karadoğan, T., 2003. Goller Yoresinde *Lamiaceae* familyasına dahil bitki türlerinin tespiti ve aromatik değerlerinin belirlenmesi. Tubitak Proje NO: Togtag- 2599, Isparta, 1-25.
- Kaya, M., Sargin, I., Erdonmez, D., 2016. Microbial biofilm activity and physicochemical characterization of biodegradable and edible cups obtained from abdominal exoskeleton of an insect. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 36, 68-74.
- Kim, C., Kim, J., Park, H.Y., McLean, R.J., Kim, C.K., Jeon, J., Yi, S., Kim, Y.G., Lee, Y.S., Yoon, J., 2007. Molecular modeling, synthesis, and screening of new bacterial quorum-sensing antagonists. Journal of Microbiology and Biotechnology, 17(10), 1598-1606.
- Kojima, H., Tominaga, H., Sato, S., Tokayanagi, H., Ogura, H., 1988. Two novel hexacyclic triterpenoids from *Prunella vulgaris*. Phytochemistry, 27(9), 2921-2925.
- Kovatcheva, E., Pavlov, A., Koleva, I., Ilieva, M., Mihneva, M., 1996. Rosmarinic acid from *Lavandula vera* MM cell culture. Phytochemistry, 43(6), 1243-1244.
- Kumar, S.A., 2009. Plants-based Medicines in India. <http://pib.nic.in/feature/feyr2000/fmay2000/f240520006.html>-06.06.2010.
- Lamaison, J.L., Petitjean-Freytet, C., 1990. Derives hydroxycinnamiques et flavonoides dans le genre *Prunella* (*Lamiaceae*): Activites antioxydantes et interet chimiotaxonomique. Plantes Medicinales et Phytotherapie, 24(3), 152-157.
- Lamaison, J.L., Petitjean-Freytet, C., Carnat, A., 1991. Medicinal Lamiaceae with antioxidant properties, a potential source of rosmarinic acid. Pharmaceutica Acta Helveticae, 66, 185-188.
- Lee H., Lin, J.Y., 1988. Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese Medicine. Mutation Research/Genetic Toxicology, 204(2), 229-234.
- Lee, K.H., Lin, Y.M., Wu, T.S., Zhang, D.C., Yamagishi, T., Hayashi, T., Hall, I.H., Chang, J.J., Wu, R.Y., Yang, T.H., 1988. The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens* and *Hyptis capitata*: Ursolic acid and related derivatives. Planta Medica, 54, 308-311.
- Lee, C.J., Chen, L.G., Chang, T.L., Ke, W.M., Lo, Y.F., Wang, C.C., 2011. The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in *Lamiaceae* plants. Food Chemistry, 124, 833-841.
- Liu, F., Ng, T.B., 2000. Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. Life Sciences, 66(8), 725-735.
- Liu, S., Jiang, S., Wu, Z., Lv, L., Zhang, J., Zhu, Z., Wu, S., 2002. Identification of inhibitors of the HIV-1 gp41 six-helix bundle formation from extracts of Chinese medicinal herbs *Prunella vulgaris* and *Rhizoma cibotte*. Life Sciences, 71(15), 1779-1791.
- Markova, H., Sousek, J., Ulrichova, J., 1997. *Prunella vulgaris* L.--a rediscovered medicinal plant. Ceska a Slovenska farmacie: casopis Ceske farmaceuticke spolecnosti a Slovenske farmaceuticke spolecnosti 46(2), 58-63.

- Martinelli, D., Grossmann, G., Sequin, U., Brandi, H., Bachofen, R., 2004. Effects of natural and chemically synthesized furanones on quorum sensing in *Chromobacterium violaceum*. BMC Microbiology, 4, 25.
- Matthiolus, P.A. 1626. Kräuterbuch, Nürnberg.
- Mihalik, E., 1992. Histological Detection of Sudanophilic Lipids in Some Lamiaceae. Acta Horticulturae, 306, 259-267.
- Morimoto, S., Goto, Y., Shoyama, Y., 1994. Production of lithospermic acid-B and rosmarinic acid in callus-tissue and regenerated plantlets of *Salvia-Miltiorrhiza*. Journal of Natural Products, 57(6), 817-823.
- Muh, U., Hare, B.J., Duerkop, B.A., Schuster, M., Hanzelka, B.L., Heim, R., Olson, E.R., Greenberg, E.P., 2006. A structurally unrelated mimic of a *Pseudomonas aeruginosa* acyl-homoserine lactone quorum-sensing signal. Proc Natl Acad Sci USA 103(45), 16948-16952.
- Muh, U., Schuster, M., Heim, R., Singh, A., Olson, E.R., Greenberg, E.P., 2006. Novel *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing inhibitors identified in an ultra-high-throughput screen. Antimicrobial Agents Chemotherapy 50(11), 3674-3679.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed, S., M., Ghorbani, A., 2005. *Labiatae* Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2, 63-79.
- Natherova, L., Rezacova, A., 1972. Eine Pharmakognostische Studie über Drei Arten der Species Gattung *Prunella* L. Acta Facultatis Pharmaceuticae Comeniana, 21, 33-61.
- Nolkemper, S., Reichling, J., Stintzing, F.C., Carle, R., Schnitzler, P., 2006. Antiviral effect of aqueous extracts from species of the *Lamiaceae* family against Herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. Planta Medica, 72(15), 1378-1382.
- O'Toole, G.A., 2011. Microtiter dish biofilm formation assay. JoVE (Journal of Visualized Experiments), 47, 2437-2437.
- Park, S.K., Kim, H.S., Ahn, J.S., Kim, T.S., Park, P.U., Kwak, W.J., Han, C.K., Cho, Y.B., Kim, K.H., 1995. Preparation of antiinflammatory herbal drug, SK1306K. Yakhak Hoeji, 39(4), 385-394, Ref: B.A. 101(8), 117169 (1996).
- Polat, R., Çakılcıoğlu, U., ve Satıl, F., 2013. Traditional uses of medicinal plants in Solhan (Bingöl-Turkey). J. of Ethnopharmacology, 148, 951-963.
- Popa, D.P., Pasechnik, G.S., 1974. Higher terpenoids of some species of *Labiatae*. Khimiya Prirodnikh Soedinenii, 4, 529-530.
- Priya, K., Yin, W.F.F., Chan, K.G.G., 2013. Anti-quorum sensing Activity of the Traditional Chinese Herb, *Phyllanthus amarus*. Sensors (Basel, Switzerland), 13 (11), 14558-14569.
- Psotova, J., Kola, M., Sousek, J., Ivagera, Z., Vicar, J., Ulrichova, J., 2003. Biological activities of *Prunella vulgaris* extract. Phytotherapy Research, 17, 1082-1087.
- Psotova, J., Chlopčikova, S., Míketova, P., Šímanek, V., 2005. Cytoprotectivity of *Prunella vulgaris* on doxorubicin-treated rat cardiomyocytes. Fitoterapia, 76(6), 556-561.
- Psotova, J., Svobodova, A., Kolarova, H., Walterova, D., 2006. Photoprotective properties of *Prunella vulgaris* and rosmarinic acid on human keratinocytes. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 84(3), 167-174.

- Rasmussen, T.B., Skindersoe, M.E., Biarnsholt, T., Phipps, R.K., Christensen, K.B., Jensen, P.O., Andersen, J.B., Koch, B., Larsen, T.O., Hentzer, M., Eberli, L., Hoiby, N., Givskov, M., 2005. Identity and effects of quorum-sensing inhibitors produced by *Penicillium* species. *Microbiology*, 151(5), 1325-1340.
- Rasmussen, T.B., Givskov, M., 2006a. Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(2-3), 149-161.
- Rasmussen, T.B., Givskov, M., 2006b. Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. *Microbiology*, 152(4), 895-904.
- Richardson, P.M., 1992. The Chemistry of the lamiaceae: an introduction and overview. *Advances in Labiatae Science*, 291-297.
- Ryu, S.Y., Chong-Kyo, L., Chong, O.L., Hae, S.K., Ok, P.Z., 1992. Antiviral triterpens from *Prunella vulgaris*. *Archives of Pharmacal Research (Seoul)*, 15(3), 242-245.
- Schnieder, V., 1984. Vitamin C-Gehalte von heimischen Wildgemüse- und Wildobstarten II. *Ernährungs Umschau*, 31(2), 54-56.
- Saxena, V.R., Archana, S., 1984. Flower pigments of *Prunella vulgaris* Roxb., *Acta Ciencia Indica*, 10(1), 37-38.
- Sendra, J., 1963. Phytochemical studies on *Prunella vulgaris* and *Prunella grandiflora*-flavonoids and phenols carboxylic acids. *Dissertations Pharmacy*, 15(4), 483-489.
- Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., Corke, H., 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of food microbiology*, 117(1), 112-119.
- Skottova, N., Kazdova, L., Oliyarnyk, O., Vecera, R., Sobolova, L., Ulrichova, J., 2004. Phenolic rich extracts from *Silybum marianum* and *Prunella vulgaris* reduce a high-sucrose diet induced oxidative stress in hereditary hypertriglyceridemia rats. *Pharmacological Research*, 50(2), 123-130.
- Smith, R.S., Iglewski, B.H., 2003. *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. *Curr Opin Microbiology*, 6(1), 56-60.
- Smith, R.S., Iglewski B.H., 2003. *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target. *Journal of Clinical Investigation*, 112(10), 1460-1465.
- Sokmen, A., Gurel, E., 2001. Sekonder Metabolit Uretimi.Bitki Biyoteknolojisi, Selcuk Universitesi Basımevi, Konya, s. 211-261.
- Sumaryono, W., Proksch, P., Hartmann, T., Nimtz, M., Wray, V., 1991. Introduction of rosmarinic acid accumulation in cell-suspension cultures of *orthosiphon-aristatus* after treatment with yeast extract. *Phytochemistry*, 30(10), 3267-3271.
- Sun, H.X., Qin, F., Pan, Y.J., 2005. In vitro and in vivo immunosuppressive activity of *Spica Prunellae* ethanolic extract on the immune responses in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3) 31-36.
- Tada, H., Muarakami, Y., Omoto, T., Shimomura, K., Ishimaru, K., 1996. Rosmarinic acid and related phenolics in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*, 42(2), 431-434.

- Tateda, K., Ishii, Y., Matsumoto, T., Furuya, N., Nagashima, M., Matsunaga, T., Ohno, A., Miyazaki, S., Yamauchi, K., 1996. Direct evidence for antipseudomonal activity of macrolides: exposure-dependent bactericidal activity and inhibition of protein synthesis by erythromycin, clarithromycin, and azithromycin. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 40(10), 2271-2275.
- Towner, K.J., 2009. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *Journal of Hospital Infection* 73(4), 355-363.
- Turker, A.U., Usta, C., 2008. Biological screening of some Turkish medicinal plant extracts for antimicrobial and toxicity activities. *Nat Prod Res.*, 22(2), 136-46.
- Tuzlacı, E., 2006. Türkiye Bitkileri Sözlüğü, Türkçe-Latince / Latince-Türkçe Bitki Adlarının Özel Açıklamaları. Alfa Basım Yayın Dağıtım, 353 s, İstanbul.
- Wang, H., Zhang, Z., Su, Z., 1994. The constituents of the essential oil from three plants of the *Prunella*. *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, 29(11), 652-653.
- Wang, H., Zhang, Z., Su, Z., Li, C., 1994. Effect of total saponins from common selfheal (*Prunella vulgaris*) on experimental myocardial infarction and hypertension of anesthetized rats. *Zhongcaoyao*, 25(6), 302-303, Ref: C.A. 121, 245580j (1994).
- Wang, Z.H., Zhao, Y.Y., Wang, B., Al, T.M., Chen, Y.Y., 2000. Depsides from *Prunella vulgaris*. *Chinese Chemical Letters*, 11(11), 997-1000.
- Watnick, P., Kolter, R., 2000. Biofilm, City of Microbes. *Journal of Bacteriology*, 182(10), 2675-2679.
- Wayne, P.A., 2003. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. Approved Standard, NCCLS Document M7-A6.
- Xu, H.X., Lee, S.H.S., Lee, S.F., White, R.L., Blay, J., 1999. Isolation and characterization of an anti-HSV polysaccharide from *Prunella vulgaris*. *Antiviral Research*, 44, 43-54.
- Verpoorte, R., Van Der Heijden, R., Ten Hoopen, H.J.G., Memelink, J., 1999. Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolite Pathways for the Production of Fine Chemical. *Biotech. Lett*, 21, 467-479.
- Yamasaki, K., Otake, T., Mori, H., Morimoto, M., Ueba, N., Kurokawa, Y., Shiota, K., Yuge, T., 1998. Screening test of crude drug extraction on anti-HIV activity. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 113(11), 818-824.
- Yao, X.J., Wainberg, M.A., Parniak, M.A., 1992. Mechanism of inhibition of HIV-1 infection in vitro by purified extract of *Prunella vulgaris*. *Virology*, 187, 56-62.
- Yeşilada, E., Sezik, E., 1990. Screening of some Turkish medicinal plants used in the treatment of rheumatoid arthritis and inflammatory diseases for their anti-inflammatory Activities. *Planta Medica*, 56, 659.
- Yousef, E., 2013. Bacteria Biofilm. [https://www.slideshare.net/shrekym/bacteria-biofilm-18693273-\(29.05.2017\)](https://www.slideshare.net/shrekym/bacteria-biofilm-18693273-(29.05.2017)).
- Zahin, M., Hasan, S., Aqil, F., Khan, M.S., Husain, F.M., Ahmad, I., 2010. Screening of Certain Medicinal Plants from India for Their Anti-quorum sensing Activity. *Indian Journal of Experimental Biology*, 48(12), 1219-1224..
- Zaki, A.A., Shaaban, M.I., Hashish, N.E., Amer, M.A., Lahloub, M.F.F., 2013. Assessment of anti-quorum sensing activity for some ornamental and medicinal plants native to Egypt. *Scientia pharmaceutica*, 81(1), 251-258.

- Zarate, R., Yeoman, M.M., 2003. Application of Recombinant DNA Technology to Studies on Plant Secondary Metabolism. Festschrift Neumann, 1-7.
- Zhang, Y.J., Yang, C.R., 1995. Two new ursane glycosides from *Prunella vulgaris* in France. Acta Botanica Yunnanica, 17(4), 468-472. Ref: B.A. 101(7), 102332(1996).
- Zhang, L.H., Dong, Y.H., 2004. Quorum sensing and signal interference: diverse implications. Mol Microbiology, 53(6), 1563-1571.
- Zhang, K.J., Zhang, M.Z., Wang, Q.D., Liu, W.L., 2006. The experimental research about the effect of *Prunella vulgaris* L. on Raji cells growth and expression of apoptosis related protein, Zhong Yao Cai Zhongyaocai. Journal of Chinese Medicinal Materials, 29(11), 1207-1210.
- Zheng, M., 1988. An experimental study of antiviral action of 472 herbs on Herpes simplex Virus. Journal Traditional Chinese Medicine, 8(3), 203-206.
- Zheng, J., He, J., Ji, B., Li, Y., Zhang, X., 2007. Antihyperglycemic activity of *Prunella vulgaris* L. in streptozotocin-induced diabetic mice. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 16, 427-431.

7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Burak SAĞLAM

Doğum Tarihi ve Yeri: 02.08.1990/Lüleburgaz

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce

Telefon: 05445729949

E-mail: buraksaglam_60@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Yılı
Yüksek Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Kimya A.B.D.	2015-2017
Pedagojik Formasyon	Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi	2016-2017
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi Kimya Bölümü	2008-2013
Lise	Erciş Lisesi (YDA)	2004-2008

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2011-2012	Akat Kozmetik San. ve Tic. A.Ş.	Stajyer Öğrenci
2014-2015	Alke Sağlık Ürünleri San.ve Tic. A.Ş.	Üretim Mühendisi
2016-2017	Tokat Milli Eğitim Müdürlüğü	Öğretmen
2017-2017	Solmaz Ticaret	Sorumlu Müdür

BİLDİRİLER

Ulusal bilimsel toplantılarda sözlü olarak sunulan bildiri kitabında basılan bildiriler

Demet ERDÖNMEZ, **Burak SAĞLAM**, Yakup BUDAK “ Antibiyotiklere Alternatif Tedavi Yaklaşımı Olarak *Prunella vulgaris* (Yara Otu)’in Çeşitli Ekstraktlarının “QuorumSensing” Sistemini İnhibisyonu” Uluslararası Katılımlı 5. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, Antalya 2017.