

1. GİRİŞ

Bulaşıcı hastalıklar bakteri, virüs, parazit ve mantar gibi patojen mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklardır. Mikroorganizmalar fizyolojik fonksiyonları değiştiren ciddi hastalıklara sebep olmaktadır. Bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar dünyada milyonlarca insanı etkilemiştir ve dünya çapında ölüme neden olan hastalıklar arasında ikinci sırada yer almaktadır. Bakteriyel enfeksiyonlar bu yüzyılın da en ciddi küresel sağlık sorunlarından biridir (Abdul vd 2010, Singh vd 2012, Chanda vd 2013, Senthilkumar 2013).

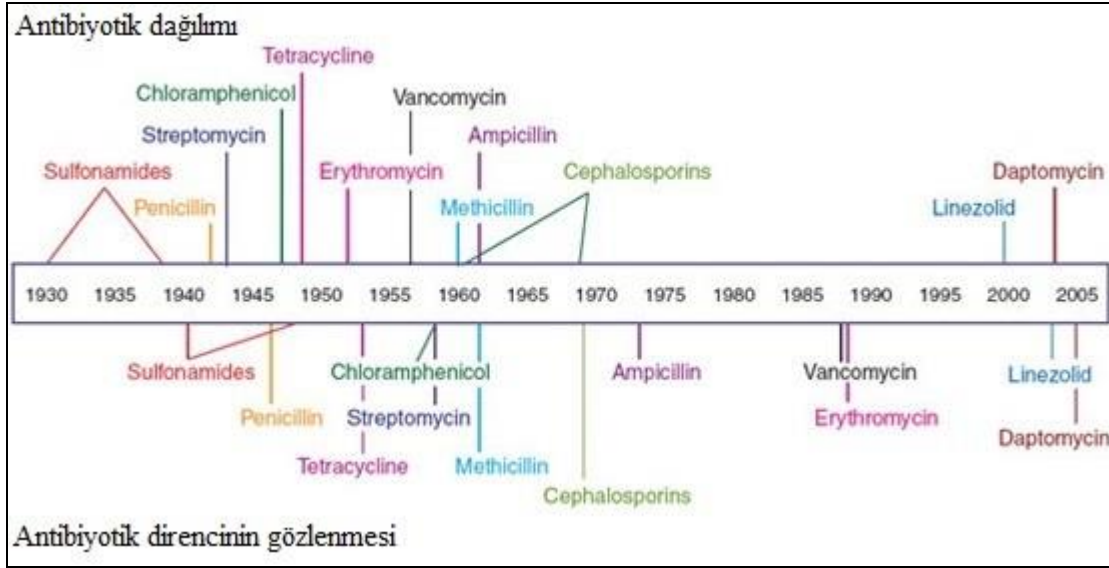
Klinik kullanım için antimikrobiyal ajanların keşfedilmesi ve geliştirilmesi bireylere ve topluma yararlar sağlamıştır. Eskiden sık sık ölümcül olan bulaşıcı hastalıklar tedavi edilebilmiştir (Saravanakumar vd 2009). Pastör ve Joubert'in bir bakteri türünün büyümesini önleyen başka bir bakteri türünü keşfetmeleri ile antimikrobialerin tarihi başlamıştır (Navaneethakrishnan vd 2011). Domagh 1935 yılında enfeksiyon hastalıklarının modern kemoterapisini sülfonamidlerle başlatmış ve prontosil ile ilgili çalışmalarıyla 1938 yılında Nobel ödülünü almıştır. Sülfonamid çağı hızla gelişmiş, penisilinin klinikte ilk denemesine kadar sülfonamidler antibakteriyel ajan olarak yaygın bir biçimde kullanılmışlardır (Aktuğlu 1997).

Stafilokok varyantları üzerinde çalışmalar yapan İngiliz bilim adamı Alexander Fleming, bir rastlantı sonucu kültür ortamına bulaşan bir küf mantarının çevresinde stafilokokların üreyemediklerini hatta tersine öldüklerini gözlemlemiştir. Bu mantarın kültür filtratları, birçok bakteriye karşı etkin bulunmuş ve Fleming, üreyen küf mantarının *Penicillium* türünden olmasından esinlenerek, etkili maddeye 'penisilin' adını vermiştir (Aktuğlu 1997). 1939-1943 yılları arasında *Actinomyces* sınıfına ait bazı türler üzerinde çalışmalar yapan Waksman ve arkadaşları, *Streptomyces griseus* kültürlerinden 'streptomisin' adını verdikleri antimikrobiyal ajan elde etmişlerdir. Bu antibiyotik birçok Gram (+) ve Gram (-) mikroorganizma yanında *Mycobacterium*'lara karşı da etkili olmuştur ve II. Dünya Savaşı'nda geniş insan kitlelerine yayılan tüberküloz hastalığının denetim altına alınmasında büyük katkı sağlamıştır. II. Dünya Savaşı'nın sonlarına doğru Kloramfenikol ve Klortetrasiklin bulunmuştur (Goodman ve Gilman 2001).

Penisilinin tedaviye sokulmasının ardından bitkilerde ve mikroorganizmalarda, özellikle küf mantarlarında bulunan ya da yapay olarak üretilen, bakteri ve diğer mikroorganizmaların gelişimini durduran ya da onları öldüren birçok madde elde edilmiştir ve bu maddelere 'antibiyotik' denilmiştir (Kılıçturgay 1996, Aktuğlu 1997).

Mikroorganizmalar çeşitli hastalıklara sebep olabilmektedir. Tıp biliminin ve teknolojinin gelişmesine rağmen, bulaşıcı hastalıklar özellikle gelişmekte olan ülkelerin kırsal bölgelerinde nüfusun birincil sağlık sorunudur (Shah vd 2012). Antibiyotiklerin keşfi ve kemoterapötik ajanlar olarak kullanılmaları tıp alanında enfeksiyon hastalıklarının tamamıyla ortadan kaldırılacağı inancına yol açmıştır (Khan vd 2009). Antibiyotiklerin tıp alanında, hayvansal deneylerde tedavi amaçlı ve tarım alanında büyümeyi arttırıcı olarak çok fazla kullanılmaları bakteriyel direncin gelişmesine neden olmuştur (Palaniappan ve Holley 2010). Bulaşıcı hastalıkların tedavisinde yaygın olarak

antimikrobiyal ilaçların gelişi güzel kullanılması, insan patojenik mikroorganizmaların direnç sıklığında artmaya neden olmuştur (Parekh ve Chanda 2007).



Şekil 1.1. Antibiyotiklerin dağılımı ve antibiyotik direncinin evrimi (Clatworthy vd 2007'den uyarlanmıştır).

Hayatta kalmak için, tüm canlı organizmalar çevrelerine uyum sağlamaya çalışmaktadırlar. Bakterilerin, varolan en eski ve yeni keşfedilen antimikrobiyal ajanlara karşı farklı direnç mekanizmalarının geliştirilmesini de içeren kendi çevrelerine uyum ve tahammül yeteneği göstermeleri şaşırtıcı olmamaktadır. Bunun bir sonucu olarak birçok bakteri suşu terapötik ajanlara veya çoklu ilaçlara dirençli hale gelmektedirler. Bu nedenle, bu patojenlerin sebep olduğu infeksiyonların tedavisi daha zor hale gelmiştir (Alanis 2005).

Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomisin dirençli enterokoklar (VRE) ve dirençli *Pseudomonas* halk sağlığında önemli problemlere yol açan bakterilerden bazılarıdır (Taubes 2008). Tüberküloz hastalığının tedavisinde büyük katkısı olan streptomisin, özellikle Gram (-) mikroorganizmalarda ve *Mycobacterium*'larda direnç gelişimine neden olmuş ve giderek etkinliğini yitirmeye başlamıştır (Goodman ve Gilman 2001).

Antibiyotiklerin aşırı ve bilinçsizce kullanımı, mikroorganizmaların çeşitli gruplarında çoklu ilaçlara dirençli organizmaların (MDRO) ortaya çıkması ve yayılması için bir faktör olmuştur. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus sp.* ve diğer birçok β -laktamaz üreticilerinin ortaya çıkması önemli bir terapötik problem haline gelmiştir. MDRO'lar güçlü antibiyotiklerin etkisini azaltır ve insan sağlığı açısından giderek artan önemli bir endişe kaynağıdır (Khan vd 2009, Fadli vd 2011).

Klinikte kullanılan bazı antibiyotiklerin istenmeyen yan etkilerinin olması, mikroorganizmaların bu ilaçlara direnç geliştirmesi, yeni veya yeniden ortaya çıkan

bulaşıcı hastalıkların görülme sıklığındaki endişe verici artışın olması nedeni ile çeşitli kimyasal yapı ve yeni etki mekanizmaları ile sentetik veya doğal yeni antimikrobiyal ajanların bulunmasına ihtiyaç duyulmuştur (Ravula vd 2012). Tıbbi bitkilerden elde edilen etken maddelerle hazırlanan preparatların çok yönlü etkiye sahip olması nedeni ile bu preparatlar infeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Ceylan 1995).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 91 ülkenin farmakopelerine ve tıbbi bitkileri üzerine yapılmış olan bazı yayınlarına dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre dünya üzerinde bulunan bitkilerin yaklaşık 20.000 türü tıbbi tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bitkilerin ürettiği doğal ürünler olan primer ve sekonder metabolitler endüstrinin en temel unsurlarıdır. Bitkilerde karbonhidratlar, proteinler, yağlar, vitaminler ve mineraller gibi temel besin öğeleri vardır. Bitki metabolizmasında oluşan uçucu yağlar, alkaloidler, tanenler, antibiyotikler gibi farmakolojik etkiye sahip bileşikler de ağırlıklı olarak kullanılan etken maddelerdir. Bu nedenle insanlık tarihi boyunca vücudun savunma gücünü arttırmak ve birçok hastalığı tedavi etmek için bitkiler kullanılmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011).

Bitkilerin organizmaları öldürücü ve insan sağlığı açısından önemli özellikleri laboratuvarlarda 1926 yılından beri araştırılmaktadır. Her geçen gün artan direnç sorununa aranan çözümler arasında bitki ekstraktları da denenmeye başlanmıştır. Günümüzde bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda bitki ekstraktlarının dirençli ve duyarlı bakterilere karşı olumlu sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir (İlçim vd 1998, Shanab vd 2008, Ullah vd 2011, Pehlivan Karakaş vd 2012).

Bu tez çalışmamızda ise antibiyotiklere yeni alternatifler oluşturmak amacı ile Malvaceae familyasından *Alcea heldreichii* (Boiss.) Boiss. türünden elde edilen tüm bitki, meyve, gövde, yaprak ve çiçek etanol ekstraktlarının 13 bakteri türüne karşı antimikrobiyal etkileri disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon (MIC duyarlılık testi) yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Yapılan literatür taraması sırasında tezin materyali olarak seçilen *A. heldreichii* türünün antimikrobiyal özellikleri bakımından yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanılmaması, bu çalışmayı orijinal kılmaktadır.

Çalışmamızda kullanılan tüm bakterilere uygun antibiyotik kontrolleri seçilerek, antibiyotik-etanol ekstraktı arasında aktivite karşılaştırmaları yapılmıştır. Bazı bakteri türleri dirençli suşlar arasından seçilmiştir.

Antibiyotikler infeksiyonel hastalıkların tedavisinde ana temeli oluşturmaktadır. Ancak antibiyotiklerin aşırı kullanımı mikroorganizmaların direnç kazanmasına yol açmaktadır. Antibiyotiklere karşı alternatif seçenekler sunabilecek yeni bileşiklerin bulunması çalışmaları hız kazanmıştır. Fazla antibiyotik kullanımı insan vücuduna aşırı kimyasal madde alınmasına neden olur. Bitkisel kökenli ürünlerin kullanımının sentetiklere göre daha az zarar verici olduğu şüphesizdir. Binlerce yıldır insanoğlu geleneksel tıpta tedavi amaçlı bitkileri kullanmaktadır. Bunun bilimsel verilerle ortaya konulması daha sağlıklıdır. Tıp dünyasında bu gibi çalışmaların artmasıyla elde edilecek olumlu verilerin hastalıkların tedavisi için bir seçenek olacağı gerçektir. Bu bağlamda bu çalışmalara bir basamak daha eklemek adına bizim araştırmamızın yararlı olacağı görüşündeyiz.

Kanser, hücre döngüsünde meydana gelen bozukluklara ve mutasyonlara bağlı olarak normal hücrelerin malignant veya neoplazm özellik kazanması sonucu oluşan hastalıklar için kullanılan genel bir terimdir. Kanser gelişme süreci; vücudun komşu dokularına işgalini, lenfatik ve/veya kan yoluyla diğer organlara yayılmasını, malignant tümörlerin oluşumunu, hızlı ve anormal bir şekilde bölünmesini ve büyümesini kapsamaktadır (Kim vd 2012).

Hücrelerin büyümesinde, farklılaşmasında (diferansiyasyon) ve çoğalmasında (proliferasyon) etkileri olan protoonkogenlerde oluşan mutasyonlar tümör gelişimine, tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar ise hücre döngüsünün durdurulmasını engelleyerek anormal hücre büyümesine neden olmaktadır (Vermeulen vd 2003).

Kansere neden olan birçok faktör bulunmaktadır. Kalıttan çevresel faktörlere, radyasyondan beslenme alışkanlıklarına, bakterilerden virüslere ve birçok kimyasal madde kanser oluşumunda etkili olmaktadır. Sigara, alkol, yağlı yiyecekler, yanmış yağları içeren besinler, madeni yağlar, iyonize radyasyon, güneş ışığı ve yapılan bazı diyetler sayılabilecek faktörler arasındadır (Yokuş ve Çakır 2012).

Hücrede homeostasis; hücre çoğalması, büyümenin durdurulması ve apoptosis ile devam ettirilmektedir. Hücre büyümesi ve ölüm arasındaki dengenin bozulması hiperplazi (bir organ veya dokunun hücre sayısındaki anormal artışı nedeni ile büyümesi) veya neoplaziye (patolojik anlamda yeni bir doku oluşumu) neden olmaktadır. Pozitif veya negatif uyaranların neden olabileceği malign gelişimini en aza indirmeye yardımcı iki farklı mekanizma vardır. İlki hücre şişmesi ve hızlı parçalanma ile karakterize edilen nekrozis, ikincisi ise fizyolojik koşullarda meydana gelen doku homeostasisini sağlayan apoptozisdir. Apoptozis, hücrelerin büzülmesi, kromatin toplanması, plazma membran kabarcıkları ve apoptik cisimciklerin oluşması gibi morfolojik değişiklikleri ile karakterize edilmektedir (Cabadak 2008).

Apoptozisin herhangi bir nedenle bozulması sonucunda başta kanser olmak üzere birçok klinik hastalığa neden olduğu bilinmektedir (Martinez vd 2003). Radyasyon da dahil olmak üzere çoğu kemoterapötik ajanın apoptozisi indüklediği bilinmektedir. Apoptozisin ve malign hastalıkların birbiriyle karmaşık ve önemli bir ilişkisi olduğu gözardı edilemeyecek bir gerçektir. Apoptozis, hücre döngüsü ve kemoterapötik ajanların iletişimleri kanser hastalarının tedavisi ve hastalığın seyri için oldukça önem taşımaktadır (Engin ve Özyardımcı 2001).

Kemoterapi, cerrahi müdahale ve radyoterapi kanser tedavisinde kullanılan etkili yöntemlerdir. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların hastalarda yarattığı istenmeyen yan etkiler bu ilaçların uygulama alanlarını sınırlamaktadır. Kanser hücrelerinin kemoterapötik ilaçlara karşı direnç geliştirebildikleri göz önüne alındığında, daha az toksik ancak daha etkili anti-kanser ajanların bulunması önemli bir ihtiyaç olmuştur (Saleem vd 2005, Balan vd 2007).

Klinik araştırması yapılan doğal orijinli anti-tümöral ilaçların oranı % 60'lara kadar çıkmaktadır. Kanser tedavisinde etkili bir anti-kanser ilacın keşfi için süren arayışlar, araştırmacıları bitkisel ürünlerin kanser üzerindeki etkilerini araştırmaya

yöneltmeye devam etmektedir (Loo vd 2004). Gelişmekte olan ülkelerde yaşayan nüfusun % 80'i temel sağlık ihtiyaçları için bitki ekstraktlarına, bitkisel kökenli geleneksel ilaçlara güvenmektedir (Sekar ve Kandavel 2010). Günümüze kadar kullanılan farklı familyalara ait bitki türlerinin sitotoksikite aktiviteleri araştırılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Zaeoung vd 2005, Ma vd 2006, Yin vd 2007).

Günümüzde kansere karşı kullanılan birçok kemoterapi ilacı, tümörlerde etkili olduğu gösterilen sitotoksik ajanları içerir. Dolayısıyla bir bitkinin kansere karşı terapötik yeteneklerinin ortaya konmasında ilk önemli parametre, bitki özütünün seçilen kanser hücreleri üzerinde gösterebileceği potansiyel sitotoksik etkidir. Bitki ekstraktının kanser hücreleri üzerinde zamana ve konsantrasyona bağlı olarak gösterdiği sitotoksik etki, bitkinin kanser tedavisi açısından önemini belirlemektedir. Başarılı bir anti-kanser ilacının özelliği kanser hücrelerini güçsüzleştirirken ya da öldürürken normal hücrelere zarar vermemesidir. Bu ideal durum kanser hücrelerinde apoptozisin indüklenmesiyle başarılabilir. Kanser hücrelerinde apoptozis mekanizmasının indüklenmesi, kanserin engellenmesi ve tedavisinde etkin bir yoldur. Yeni ilaçların sentezlenmesini ya da var olanların modifikasyonunu hedefleyen araştırmalarda apoptozis önemli bir hedeftir (Nobili vd 2009). Bu açıdan bitki özütünün gösterdiği sitotoksik aktivitenin belirlenmesinde, hücredeki olası moleküler hedefler taranarak sergiledikleri apoptotik etkinliğin karakterize edilmesi önem taşımaktadır (Balunas ve Kinghorn 2005).

Tez çalışmamızda kemoterapötik ajanlara yeni alternatifler oluşturmak amacı ile Malvaceae familyasından *A. heldreichii* türünden elde edilen tüm bitki, meyve, gövde, yaprak ve çiçek etanol ekstraktlarının servikal adeno karsinoma (HeLa) ve insan böbrek epitel (293 T) hücreleri üzerinde WST-1 ve tripan mavisi testi ile sitotoksikite aktiviteleri araştırılmıştır. Yapılan literatür taraması sırasında tezin materyali olarak seçilen *A. heldreichii* türünün sitotoksikite özellikleri bakımından yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanılmaması bu çalışmayı orijinal kılmaktadır. Çalışma sonucunda *A. heldreichii* bitkisinden elde edilen yaprak, çiçek, gövde, meyve ve tüm bitki etanol ekstrakt konsantrasyonlarının, HeLa ve 293 T hücre hatları üzerinde doza ve zamana bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Günümüzde kanser hastalığı çok yaygın hale gelmiştir. Kanser tedavisi için kullanılan yöntem ve ilaçların yan etkileri oldukça fazladır. Bitkilerin sitotoksikite etkilerine ilişkin birçok araştırma bulunmaktadır. Bitkilerden elde edilen doğal bileşikler birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmamızdan elde edilecek verilerin bu amaçla kullanılan tedavi yöntemlerine yarar sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

2.1. Antimikrobiyal Direnç

Mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı olan direnci doğal ve kazanılmış direnç olmak üzere ikiye ayrılır. Doğal direnç, mikroorganizmalarda antimikrobiyal maddelerin bağlanıp etkili olduğu hedef moleküllerin olmaması durumudur. Sonradan kazanılmış direnç ise kalıtsal dirençtir. Bakteri ile antimikrobiyal ajanın ilk temasında ilaç mikroorganizma üzerinde etkilidir. Temas süresinde veya tekrarlanan tedavi süreçlerinde mikroorganizmalar antimikrobiyal maddelere karşı direnç geliştirir. Bakterilerin antimikrobiyallere karşı geliştirdiği direnç esas olarak bu yolla olmaktadır (Öztürk 2002). Kazanılmış dirençte bakteriler hayatta kalabilmek için savunma mekanizmalarını harekete geçirirler ve genetik mutasyonlarını geliştirirler. Kullanılan antimikrobiyal ajan duyarlı bakterilerin üremesini baskılar ya da ölmesini sağlarken, direnç geliştirebilen türlerin popülasyona hakim olmasına neden olur. Kazanılmış direncin gelişmesinde antimikrobiyallerin fazla kullanımının rolü vardır (Çöplü 2012).

Mucizevi ilaç olarak bakıldığında, ilk kullanılabilir sistemik antibiyotiklere (sülfonamidler ve penisilin) erişim halk için doğrudan mümkün olmamıştır. İlk zamanlarda sayıca az olan bu ilaçlar çok pahalıdır ve II. Dünya Savaşı sırasında askerlerin kullanması için ayrılmıştır. Daha fazla antibiyotik keşfedildiği gibi, üretim süreçleri basitleştirilmiştir. Yeni formülasyonlar geliştirilerek antibiyotiklere ulaşım daha kolay hale getirilmiş ve kullanımı yaygınlaştırılmıştır. Antibiyotikler o yıllarda “her derde deva” olmuş ve tıpta infeksiyonları tedavi etmek için kullanılmaya başlanmıştır (Alanis 2005).

Antibiyotik direnci ilk kez, 1930’larda sülfonamid dirençli *Streptococcus pyogenes* ve 1940’larda başlayan penisilin kullanımından kısa bir süre sonra penisilin dirençli *Staphylococcus aureus* türleri için bildirilmiştir. Tüberküloz hastalığının tedavisinde kullanılan streptomisin kullanımından kısa bir süre sonra *Mycobacterium tuberculosis* bu antibiyotiğe karşı direnç geliştirmiştir. Çoklu ilaçlara dirençli *Escherichia coli*, *Shigella* sp. ve *Salmonella* sp. bakterileri 1950’lerde ve 1960’larda ortaya çıkmıştır (Ergönül 2005).

Sir Alexander Fleming’in 1945 yılında The New York Times ile yaptığı röportajda, laboratuvarında yapmış olduğu çalışmalara dayanarak uygunsuz kullanılan penisilinin mutant dirençli *Staphylococcus aureus* formlarının ortaya çıkmasına neden olabileceğini ve bu durumun infeksiyon riskinde bir artışa yol açabileceğini bildirmiştir. İlacın yaygın kullanımı bir yıl içinde bu bakteri türlerinin çoğunda penisiline direnç gelişimi ile sonuçlanmıştır (Alanis 2005).

İlk yarı sentetik penisilaza dirençli antimikrobiyal olan metisilin 1959’da kullanıma sunulmuştur. İlk metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) izolatları 2 yıl sonra bildirilmiştir. 1960’lı yıllarda Avrupa’da ve 1970’li yıllarda ABD’nde *S. aureus* suşlarındaki bu direnç önemli bir sorun haline gelmiştir. MRSA suşları özellikle 1980’li yıllarda hastane kaynaklı salgın etkeni olarak bildirilmiştir (Grüneberg 1997, Şardan 2000).

Epidemiyolojik olarak, MDRO'lar bir ya da daha çok antimikrobiyal ajan sınıfına karşı dirençli olan mikroorganizmaları tanımlamak için kullanılır. Bu gruplar arasında MRSA ve VRE bakterilerine ek olarak geniş spektrumlu β -laktamazlar (ESBL'ler) ve dirençli diğer bazı Gram (-) bakteriler vardır (Harrison ve Lederberg 1998).

İlk antibakteriyel ajanların keşfinden yaklaşık 70 yıl sonra kullanımda olan en az 50 penisilin, 70 sefalosporin, 9 aminoglikozit, 12 tetrasiklin ve bunlara ek olarak birçok antibakteriyel bulunmaktadır. Bu liste fazladır. Antimikrobiyal direnç hem yeni hem de eski ilaçlara karşı yaygın hale gelmiştir. Bu sorun göz önüne alındığında daha fazla antimikrobiyal ajana gerek olduğu ortaya çıkmaktadır (Akalin 1995).

Farmakolojik sanayide son 30 yılda yeni antibiyotikler üretilmesine rağmen; yeni üretilen antimikrobiyal ajanlara karşı da mikroorganizmalar tarafından direnç geliştirilmiştir (Shena vd 2011). Her geçen gün büyüyen antimikrobiyal direnç sorunlarını azaltmak için önlemler alınması gereklidir. Bunlar arasından önemli olanlara örnek olarak; antibiyotik kullanımının kontrolünü sağlamak, direncin genetik mekanizmasını anlamak için araştırmaları geliştirmek ve sentetik ya da doğal yeni ilaçlar geliştirme çalışmaları sayılabilir (Nascimento vd 2000).

Çoklu ilaçlara dirençli mikroorganizma türlerinin yayılması ve mevcut ilaçların sayısındaki azalma, bu dirençli mikroorganizmaları inhibe edecek yeni bileşiklerin araştırılmasını gerekli hale getirmiştir (Mavi vd 2011). Antimikrobiyal ajanlara karşı hızla artan ve yayılan bakteri direncinin ortaya çıkması, yeni bulunan ajanların da kısa bir tedavi ömrüne sahip olacağını göstermektedir. Bu nedenle, bilim adamları bakterilere karşı daha iyi ilaçlar geliştirmek için dikkatlerini bitkisel kaynaklı bileşiklere çevirmişlerdir (Khan vd 2009). Her geçen yıl bitki ekstraktlarının doğal antibakteriyel bileşikler olarak kullanılmasına artan ilgi, yeni tedavilerin alternatif bir kaynağı olabileceği düşüncesini doğurmuştur (Palaniappan ve Holley 2010).

Bitkiler, doğal ürünlerin önemli kaynaklarıdır. Bitkilerin kimyasal bileşenlerinin bilinmesi ve araştırılması, sadece terapötik ajanların keşfi için değil, aynı zamanda yeni kaynakların ortaya çıkarılmasında değerli bilgiler sağlar. Bilinen antimikrobiyal özelliklere sahip fitokimyasalların kullanımı, dirençli suşların ve klinik patojenlerin tedavisinde önemli olabilmektedir (Ahameethunisa ve Hopper 2012).

Bitkilerin tıbbi değeri, insan vücudunda belli bir fizyolojik etki gösteren bazı kimyasal maddeleri içermesidir. Bitkilerdeki biyolojik olarak aktif bileşiklere örnek olarak alkaloidler, flavonoidler, tanenler ve fenolik bileşikler verilebilir (Duraipandiyar vd 2006).

Bitki ekstraktlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* gibi birçok patojen bakteri türüne karşı antimikrobiyal ajan olarak etkili olduklarını gösteren birçok çalışma vardır (Ateş ve Erdoğan 2003, Doughari vd 2008, Ramanath ve Amar Kumar 2012).

2.2. Bakteriye Hastalıkların Tedavisinde Bitkilerin Önemi

Doğada tüm insanlar, bitkiler ve hayvanlar bir denge içindedir. Mitolojide bitkilerden tanrıların insana verdiği en değerli armağan olarak bahsedilmiştir. Tüm bitkiler insanlığın hizmetindedir ve insanın bitkilerle olan ilişkisi varoluşu ile başlamıştır. İlk çağlardan elde edilen arkeolojik bulgulara göre insanlar, besin temin etmek ve sağlık sorunlarını gidermek için öncelikle bitkilerden faydalanmışlardır (Kendir ve Güvenç 2010). Tıbbi bitkilerin tanımını tam olarak yapmak mümkün olmasada, hastalıkları önlemek, sağlığı sürdürmek veya hastalıkları iyileştirmek için ilaç olarak kullanılan bitkiler olarak tanımlanabilir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011).

Kimyasal sanayideki gelişmeler ilaç sanayisini de etkilemiş ve sentetik ilaçların bitkilerin yerini almasına neden olmuştur. Ancak buna rağmen bugün bile dünya nüfusunun büyük bir bölümü tıbbi bitkilerle tedavi olmaktadır. Tıbbi bitkiler ilaç endüstrisinde kullanımlarının yanı sıra; gıda, kozmetik, baharat, meşrubat endüstrilerinde de ekonomik bir öneme sahiptirler (Çelik ve Çelik 2007).

Antibiyotiklerin ortaya çıkışıyla, bitki türevlerinin antimikrobiyal ajan olarak kullanımı azalmıştır. Fakat bilim adamlarının araştırmalarıyla antibiyotik etki süresinin sınırlı oluşunu keşfetmesi ve piyasaya sürülen antibiyotik miktarındaki azalma bitki ekstraktlarının ilaç olarak kullanımını 1990'ların sonunda popüler hale getirmiştir. Çeşitli bitki ekstraktları ve uçucu yağların bazı bakteri türleri üzerine antimikrobiyal etkilerinin olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir (Kıvanç ve Akgül 1986, Dıgrak vd 2002).

Dünya geneline bakıldığında tropikal ülkelerdeki ölümlerin nedeninin yaklaşık yarısı infeksiyon kaynaklıdır. Afrika'da her yıl 300.000 çocuk *E. coli*, *Shigella* ve *Salmonella* türlerine ait bakterilerin sebep olduğu infeksiyonlardan hayatlarını kaybetmektedir. Bu durum ülkelerin sosyo-ekonomik durumuna bakıldığında elbette şaşırtıcı değildir, fakat gelişmiş ülkelerde de infeksiyona bağlı hastalıklar ve ölümler her geçen gün artmaktadır. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan araştırmalara göre, 1981 yılında infeksiyona bağlı ölümler 5. sırada iken, 1992 yılında % 58 artışla 3. sıraya çıkmıştır. Bu durum infeksiyon hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde yeni stratejiler geliştirmeyi zorunlu hale getirmiştir. Bu nedenle araştırmacıların antimikrobiyal ajan arayışında, bitkilere başvurmaları oldukça doğaldır (Erdoğan ve Everest 2013).

Gelişmekte olan ülkelerde, kırsal toplulukların kültür ve geleneklerinin önemli bir parçasını bitkisel ilaçlar oluşturmaktadır. Birçok bitki, insan vücudunda önemli biyolojik etkileri olan birçok kimyasal madde içerir (Njume vd 2009). Fitonsidler, bitkilerin sentezlediği ve mikroorganizmalar üzerinde etkili olan maddelerdir. Bu maddeler, bitki dokularının zedelenmesi veya herhangi bir infeksiyon halinde, hücrelerde lokalize olan inaktif haldeki ana bileşiklerden enzimatik olarak oluşmaktadır (İlçim vd 1998). Bitkilerin sentezlemiş olduğu flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler, taninler, berberinler, kininler ve emetinler gibi kimyasal maddeler infeksiyon hastalıklarının tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Hussain vd 2011). Özellikle etken maddesi ilk keşfedilenlerden birkaç tane örnek sayılabilir; *Allium sativum* L.'daki allininin antibiyotik etkisi ve *Hydrastis canadensis* L.'deki berberinin

antimikrobiyal etkisi, *Cephaelis ipecacuanha* Rich.'in toprak kısımlarından izole edilen izokinolin alkaloid emetin, *Escherichia histolytica* infeksiyonu ile yayılan apselerin tedavisinde ve ameobesidal ilaç olarak yıllardır kullanılmaktadır (Iwu vd 1999).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) raporlarına göre, gelişmekte olan ülkelerde yaşayan nüfusun % 80'i temel sağlık ihtiyaçları için bitki ekstraktlarına, bitkisel kökenli geleneksel ilaçlara güvenmekte ve 3.3 milyar insan tıbbi bitkilerden terapi amaçlı yararlanmaktadır. Farmakolojik olarak üretilen ilaçların etken maddelerinin en az % 25'i bitkisel kökenlidir (Eloff 1998, Sekar ve Kandavel 2010).

Antimikrobiyal ilaçların gelişigüzel kullanımından dolayı mikroorganizmaların birçok antibiyotiğe karşı direnç geliştirmesinin infeksiyon hastalıklarının tedavisinde büyük bir problem yarattığı bildirilmiştir. Antibiyotiklerin hassas kişilerde ters etki yarattığı, alerjik reaksiyonlar gösterdiği, bağışıklık sistemini baskıladığı ve mukozal ve bağırsak mikroorganizmaların yararını azalttığı saptanmıştır (Korukluoğlu vd 2006).

Bu nedenle ilaç elde edilen bitkilerin düşük maliyetli olması, yan etkilerinin olmaması, toksik etkilerinin azlığı ve doğal olarak üretilmiş olmasından dolayı hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde doğal ürünleri kullanma isteği artış göstermektedir (Berber vd 2013).

Günümüzde Uzakdoğu ülkelerinde mesela Japonya'da, modern tıpa ilave olarak bitkilerle tedaviye dayanan geleneksel Çin, Kore, Japon tedavi sistemleri yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Hindistan yarımadasında modern tıbbın yanında, geleneksel tıptan yararlanılmaktadır. Bu ülkede tıbbi bitkiler "Araştırma-Geliştirme Faaliyetleri" adı altında incelenmektedir. Özellikle antimikrobiyal ilaç geliştirme konusu oldukça önemli bir hale gelmektedir (Öztürk 1990).

Üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bir bölgede bulunan ve Güney Avrupa, Güneybatı Asya ve Anadolu arasında bir köprü oluşturan Türkiye, mevcut bitki çeşitliliği bakımından oldukça zengin ve önemli bir floraya sahiptir (Benli vd 2007). "Flora of Turkey and The East Aegean Island" kitabına göre, Türkiye 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000'den fazla tür ve tür altı taksonu (alt tür ve varyete) ile oldukça zengin bir floraya sahiptir (Davis 1965-1985, Davis vd 1988, Güner vd 2000). Türkiye'de tıbbi olarak kullanılan bitkilerin sayısı tam bilinmemekle beraber 500 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011).

Türkiye'nin bu kadar zengin bir floraya sahip olması, bitkisel ilaçların daha toksik ve pahalı sentetik ilaçlar ile beraber kullanımlarında tamamlayıcı rol oynamalarına olanak sağlamakta, tek başlarına ise alternatif terapide infeksiyonları iyileştirici ve antiseptik amaçlı olarak kullanımlarını gündeme getirmektedir. Bu yönleriyle antibakteriyel aktiviteye sahip bitkilerin, bakteriyel orijinli insan, bitki ve hayvan hastalıklarının kontrolünde ve tedavisinde etkili olabileceği bildirilmektedir (Verastegui vd 1996).

Çiçekli bitkilerin % 15'inde kimyasal ve farmakolojik araştırmalar yapılmıştır. Yeryüzündeki tüm bitki türlerinin sayısı düşünüldüğü zaman son derece düşük olan bu oran, bitkilerin farklı ilaç şekillerinde kullanılmaları için oldukça büyük bir kaynak

oluşturacaklarını bir kez daha vurgulamaktadır. Bütün bu bilgiler ışığında, ülkemizin bu konuda büyük bir çalışma potansiyeline sahip olduğu görülmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011).

Bitkilerin farklı ilaç türleri için zengin bir kaynak olması, geniş bir yelpazede biyoaktif moleküllere sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. (Nair vd 2005). Bitkiler tanenler, flavonoidler ve alkaloidler gibi ikincil metabolitlerin zengin bir kaynağıdır. Dünyada geleneksel tıbbın en önemli alanlarından birini temsil eden bitkisel ilaçlar, daha az yan etkiye ve düşük toksisiteye sahip olmalarından dolayı hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır (Khan vd 2013). Türkiye’de de binlerce yıldır geleneksel ilaçlar geniş bir çeşitlilikte kullanılmaktadır. Özellikle bu bitkilerin ekstraktları ve yağları; gıda korunmasında, ilaç olarak, alternatif tıpta ve doğal terapiler gibi birçok uygulamanın temeli oluşturmaktadır (Benli 2007). Örneğin; Kütahya’ da yapılan bir araştırmaya göre, *Alcea pallida* soğuk algınlığı ve öksürük kesici olarak, *Malva sylvestris* L. soğuk algınlığı ve sindirim sistemi iltihaplarında halk ilacı olarak kullanılmaktadır (Yücel ve Tülükoğlu 2000).

Günümüzde klasik antimikrobiyal ajanlara karşı gelişen dirençli bakteri türlerinin sayıca artması ve özellikle penisiline dirençli suşların çok görülmesi bu bileşiklerin kullanımını yetersiz hale getirmektedir. Antibakteriyel etkiye sahip bitkiler, kullanılmakta olan antibiyotiklerden farklı mekanizmalar ile bakterileri inhibe edebildiğinden dirençli bakteri türlerini kontrol altına alabilme yeteneğine sahiptirler. Bu durumda bitkiler, tedavi edici etkilerinin yanında yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesi için yapılan çalışmalarda model olarak da kullanılabilirler. Bu nedenle bitkisel maddeler, mikrobiyolojik, farmakolojik bakımından çok yönlü olarak araştırılmaktadır (Kalaycıoğlu ve Öner 1994, Dagcı vd 2002).

Antimikrobiyal aktiviteye sahip bitkilerin keşifiyle, mikroorganizmaların tedavisi için kemoterapötik maddeler olan yeni doğal ilaçlar geliştirmek, antibiyotik dirençli bakterileri kontrol altına almak ve ilaçların yan etkilerini azaltmak mümkün olabilecektir (Benli vd 2007).

Yüzyıllardan beri bitkiler çeşitli hastalıkların ve enteritlerin (ince bağırsak iltihabı) tedavisinde tıbbi amaçlı olarak kullanılmaktadır (Essawi ve Srouf 2000, Özer vd 2001). Sarımsak, tarçın, fesleğen, köri, zencefil, hardal ve diğer bazı bitkilerin antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir (Marino vd 1999). Birçok çalışmada kullanılan bitkilerin antimikrobiyal (Çelik ve Çelik 2007, Singh vd 2012, Vikran vd 2013), insektisidal (Knio vd 2008, Karakoç ve Gökçe 2012), sitotoksik (Rethy vd 2007, Islam vd 2011), antifungal (Dağcı ve Dığrak 2005, Deliorman Orhan vd 2012), antioksidant (Giorgi vd 2009, Arıdurdu ve Arabacı 2013) özelliklere sahip olduğu da yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konulmuştur.

2.3. Çalışılan Mikroorganizmalar

***Staphylococcus aureus*:** *S. aureus*, yuvarlak, oval şekilli, küçük, Gram (+) koklardır. Basit besiyerlerinde 37 °C’de üretilen fakültatif anaerob bakterilerdir. Hücre bölünmeleri farklı düzlemlerde gerçekleştiği için düzensiz üzüm salkımına benzer koloniler oluştururlar. Doğada oldukça yaygın bulunur. Toprakta, tozda, insan ve

hayvan deri, burun mukozası, ağız ve nazofarinks floralarında bulunurlar. İnsanlarda en sık rastlanan infeksiyon etmenlerinden biridir (Bilgehan 1995).

S. aureus, birçok organda apse, sivilce, endokardit, perikardit, gastroenterit (gıda zehirlenmesi), toksik şok sendromu, soyulmuş deri sendromu, hastaneden alınmış zatürree, cerrahi yara infeksiyonları, artrit, menenjit, sepsis gibi hastalıklara neden olmaktadır (Dündar ve Öztürk Dündar 2002).

S. aureus tüm dünyada toplum ve hastane kaynaklı infeksiyonlara neden olan en önemli bakterilerden biridir. Günümüzde penisilinaz enzimi pozitif olan izolatların oranı % 90-95'lere ulaşmaktadır. *S. aureus* antibiyotik direnci ilk olarak 1930'lu yıllarda kullanıma giren sülfonamid grubu antibiyotiklerle başlamış, günümüzde ise daptomisin ve linezolid gibi yeni antibiyotiklere kadar uzanmıştır. 1941 yılında penisilin kullanılmaya başlanmasıyla *S. aureus* infeksiyonlarında azalma görülmeye başlanmıştır. Ancak, bu çok uzun sürmemiş 1944 yılında penisilinaz enzimi sentezleyen izolatların çıkmasıyla penisilin direnci görülmeye başlanmıştır (Sancak 2011, Shopsis ve Kreiswirth 2001).

Penisilinaz varlığı nedeniyle çıkan direnç sorunu, 1960'lı yıllarda β -laktamaza dirençli yarı sentetik penisilinler (metisilin, oksasilin ve nafsilin) kullanıma girmesi ile çözülmeye çalışılmıştır. Bu çözümde çok uzun sürmemiş, 1961 yılında ilk metisiline dirençli MRSA suşları İngiltere'den bildirilmiştir (Arıdoğan vd 2004, Sancak 2011).

Yeni antibiyotiklerden linezolid 2000 yılında kullanıma girmiş ve bir yıl sonra linezolid dirençli MRSA izolatı bildirilmiştir. Daptomisin ise 2003 yılında kullanıma girmiş ve 2 yıl sonra daptomisin dirençli MRSA izolatı bildirilmiştir (Sancak 2011).

***Enterococcus faecalis*:** Enterokoklar, tekli, ikili ya da kısa zincirler halinde bulunurlar. Gram (+) fakültatif anaerob koklardır. İnsan gastrointestinal sistem normal flora mikroorganizmalarıdır. Ağız, safra yolları ve genitoüriner sistemde üredikleri bilinmektedir. Enterokoklar üriner sistem infeksiyonları, endokardit, karın içi infeksiyonları, menenjit, yara ve yumuşak doku infeksiyonları gibi hastalıklara yol açmaktadırlar. Enterokokların neden olduğu en sık görülen klinik hastalık üriner sistem infeksiyonlarıdır (Yıldırım 2007).

Enterokoklardaki antibiyotik direnci genellikle plazmid ve transpozonlar aracılığı ile olmaktadır. Vankomisin dirençli enterokoklar ilk kez Fransa'da 1986 yılında izole edilmiştir. Türkiye'de ise VRE ilk kez 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi'nde bildirilmiş ve dünyada yapılan birçok çalışmada da saptanmıştır (Mamal Torun vd 2005, Aktaş vd 2007).

Son yıllarda çoklu antibiyotik dirençli enterokoklarla oluşan hastalıklarda artış gözlenmektedir. Bu, nozokomiyal infeksiyonların tedavisinde problem olmaya başlamıştır ve tedavi seçeneklerini sınırlandırmıştır (Aktaş vd 2007).

***Escherichia coli*:** *E. coli*, çubuk şeklinde, fakültatif anaerob, Gram (-) bakterilerdir. Normalde insan ve çoğu sıcakkanlı hayvanların bağırsak florasında bulunmaktadırlar. Diğer Enterobacteriaceae üyelerinden birçok şekeri fermente etmeleri

ile ayrılmaktadırlar. *E. coli* insanların bağırsak epiteline bağlanarak verotoksin olarak da bilinen Shiga toksini üretmesi ile insanlar için patojen olup hastalıklara neden olmaktadır (Ekici vd 2008).

Genel olarak çocuklarda zatürree, menenjit, dizanteri, böbrek ve mesane infeksiyonları, diyare, cerrahi yara infeksiyonları, septisemi hastalıklarına neden olmaktadır (Ekici vd 2008).

Bağırsak dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri ile de hastalıklara yol açtığı bilinmektedir. Hastane infeksiyonlarının % 50'sinden sorumlu olduğu bildirilmektedir. Normal yaşam ortamları insan ve hayvan bağırsak florası olduğundan *E. coli*, içme ve kullanma sularının ve besinlerin fekal kirlenmesinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Baysal 2004a).

Klebsiella pneumoniae: Kısa uçları yuvarlak, Gram (-), hareketsiz, bazen ikişer ikişer bazen kısa zincirler oluşturan bakterilerdir. Etraflarında polisakkarit yapıya sahip geniş bir kapsül bulunmaktadır. Üst solunum yolu ve bağırsak normal flora üyeleridir. Diğer Gram (-) bakteri pnömonilerine göre *Klebsiella* pnömonileri daha seyrek görülmesine rağmen, ölüm oranı diğerlerine oranla iki kat daha fazladır (Ustaçelebi 1999, Bilgehan 2000).

Klebsiella pneumoniae, idrar yolları ve cerrahi yara infeksiyonları, bakteriyemi, menenjit, safra kesesi infeksiyonu, abse gibi hastalıklara yol açmaktadır. Antimikrobiyal maddelere karşı oldukça direnç göstermektedirler. *Klebsiella*'lar hastane kökenli idrar infeksiyonlarının % 9'undan izole edilmiştir (Töreci 2002, Akalın 2003).

Pseudomonas aeruginosa: Gram (-), zorunlu aerob, basil veya kokobasil özelliğinde bakterilerdir. 37 °C'de en iyi üremelerine rağmen 42 °C'de üreyebilme özelliği sadece bu bakteriye özgüdür. Kültürlerinde tatlımsı, üzüm kokusuna benzer bir koku vardır. Piyosiyenin varlığı nedeni ile yeşil metalik bir parlaklık oluştururlar. Bu özellik de sadece bu bakteriye hastır. Çoğalmak için minimal beslenme maddelerine ihtiyaç duymaları, sıcaklık da dahil olmak üzere farklı fiziksel şartlara uyum sağlamaları hastanelerde hastalık etmeni olarak önemli bir sorundur. (Bilgehan 1995, Erdem 1999, Vahaboğlu ve Akhan 2002).

Toprakta, hayvanlarda, suda, insanlarda ve bitkilerde bulunabilirler. Özellikle nemli yerlerde kolay üreyebilirler. Hastanelerde lavabolar, paspaslar, solunum destek cihazları ve temizleme solüsyonlarında barınabilirler (Erdem 1999, Pier ve Ramphal 2005).

Pseudomonas aeruginosa 'nın yaptığı hastalıkların en önemlileri; solunum sistemi infeksiyonları, endokardit, bakteriyemi, ektima gangrenozum, menenjit, beyin absesi, üriner sistem infeksiyonları, kulak ve göz infeksiyonlarıdır (Savaş 2000, Vahaboğlu ve Akhan 2002).

Salmonella typhimurium: Gram (-), çubuk şeklinde, çok sayıda olan peritriş kirpikleri ile hareketli, fakültatif anaerob bakterilerdir. Genellikle kontamine olmuş gıda ve sularla ağız yolundan insanlara bulaşmaktadırlar. *Salmonella typhimurium*'un neden

olduğu en ciddi hastalık tifodur. Bunun dışında besin zehirlenmesi, sepsis ve lokal organ hastalıklarına yol açmaktadırlar. Et, süt, yumurta, su ve bu besinlerle yapılan yiyeceklere bakterilerin bulaşması sonucu besin zehirlenmeleri meydana gelmektedir. Bakterinin vücuda alınımından sonra bağırsaktan hızla kana karışması ile de diğer infeksiyonlara yol açmaktadır (Baysal 2004b, Ekici vd 2008).

Enterobacter cloacae: Çomak şeklinde, Gram (-), fakültatif anaerob bakterilerdir. Sağlıklı insanlarda infeksiyon yapmaları nadirdir. İnsan ve hayvan bağırsak florasında, suda, toprakta, sütlü ürünlerde ve kanalizasyon atıklarında bulunabilmektedirler. İnfeksiyonlara az neden olan fırsatçı patojenlerdir. Son yıllarda hastane infeksiyonlarında önemi oldukça artmaktadır. Birçok antimikrobiyal ajanlara ve antiseptiklere karşı oldukça dirençlidirler. Bu nedenle tedavisinde problemler ortaya çıkmaktadır. İdrar yolları, üst solunum yolları, yanık ve yara infeksiyonları, sepsisler, menenjit gibi çeşitli hastalıklara fırsatçı patojen olarak neden olmaktadır (Baykan 2004, Yazıcı vd 2004).

Serratia marcescens: Gram (-), kokobasil görünümünde, küçük, hareketli bakterilerdir. Doğada yaygın bulunurlar. İnsan dışkı ve üst solunum yolu florasında, çevrede, besin maddelerinde bulunmaktadırlar. *Serratia*'lar arasında önemli yeri olan patojen bakteri türüdür. İdrar yolları, üst solunum yolu infeksiyonları, sepsis, menenjit, endokardit, bakteriyemi, cerrahi yaralar, deri ve yumuşak dokulardaki infeksiyonlar gibi hastane kökenli hastalıklara neden olmaktadır (Bilgehan 1995, Bozkurt vd 2005).

2.4. Kanser

Kanser hücre proliferasyonu (çoğalma), diferansiyasyonu (farklılaşma) ve ölümünü kontrol eden genlerdeki bozukluk sonucu oluşan bir hastalıktır. Dünyada kardiyovasküler hastalıklardan sonra en çok ölüme sebep olan hastalık grubudur (Olah 2005).

Hücreler DNA'ya zarar veren reaktif oksijen türevleri, DNA hasarı, replikasyon hatası gibi iç stresler ve iyonize radyasyon, UV ışınları, genotoksik kimyasallar, kemoterapötik ve radyoterapötik ajanlar gibi dış stresler tarafından sürekli tehdit altındadırlar (Ahn vd 2004). Bu streslere karşı DNA doğru bir şekilde korunamazsa DNA'da oluşan hasarlar genomik yapının bozulmasına sebep olur (Bartek vd 2001).

Genetik hasar, hücre büyümesini uyaran protoonkogenler, hücre büyümesini inhibe eden tümör baskılayıcı genler, apoptozisi düzenleyen genler ve DNA tamir genlerinde gerçekleşmektedir (Martinez vd 2003, Olah 2005).

Organizmalar DNA hasarına yanıt verebilecek ve DNA hasarını tamir edebilecek çok sayıda hücresel mekanizmaya sahiplerdir (Bartek vd 2001). Genetik hasar sonucu hücrede; hücre döngüsünün durdurulması, DNA tamiri ya da apoptozis gerçekleşmektedir (Niida ve Nakanishi 2006).

Apoptozis, canlının kendi otonom mekanizması tarafından ayarlanan DNA hasarı almış, yaşlanmış, bakteri ve virüslerle infekte olmuş hücreleri ortadan kaldıran

bir mekanizmadır (Alberts vd 2002, Gültekin vd 2008). Apoptozis ve hücre döngüsü birbiriyle ilişki içinde çalışmaktadır (Engin ve Özyardımcı 2001).

Son yıllarda, apoptozis/hücre çoğalması dengesinin bozulması sonucu birçok önemli hastalığın ortaya çıkışında rol oynadığı gözlemlenmiştir. Hormonal olarak çeşitli aktif maddelerin, iyonize radyasyonun ve kemoterapiyi içeren travmatik ajanların apoptozise neden olduğu söylenmektedir (Altunkaynak ve Özbek 2008).

Hanahan ve Weinberg kanser tipine bağlı olmaksızın ve tüm kanser hücrelerinde var olan altı temel özelliği: büyüme sinyallerinde dış kaynaklara ihtiyaç duymama, büyümeyi inhibe edebilecek sinyallere duyarsızlık, apoptozisten kaçabilme, sınırsız büyüme ve çoğalmaya sahip olma, anjiogenezisi oluşturabilme, doku invazyonu (farklı dokulara saldırma) ve metastaz (bir dokudan bir başka dokuya taşınması) yapabilmesi olarak açıklamıştır (Olah 2005).

2.5. Kanser Tedavisinde Bitkilerin Önemi

Dünya’da çok eski çağlardan beri birçok bitkiden elde edilen terapötiklerin ilaç olarak kullanıldığı bilinmektedir (Sarı vd 2010). Doğal ürünler ilaç keşfinin en önemli kaynağıdır. Kanser çeşitleri için klinik denemelerde kullanılan tüm ilaçların yaklaşık % 60’ı ya doğal ürünlerdir ya da terpenoidler, lignanlar, polifenoller, makrolidler gibi çeşitli doğal ürün gruplarından meydana gelen doğal ürünlerden türetilen farmakofor içeren bileşiklerdir (Kim vd 2012). 1983-2002 yılları arasında 79 FDA onaylı antikanser ilaç ve aşılarda, 9 tanesi doğrudan doğal ürünlerin izolasyonundan, 21 tanesi doğal ürün türevlerinden elde edilmiştir. Ayrıca 39 tane sentetik antikanser ilacından 13 tanesi doğal ürünlerden farmakofor orijinlidir (Cragg vd 2003).

Birçok hastalığa karşı bitkiler terapötik kaynak olarak kullanılmaktadır. Günümüzde bitkilerin infeksiyon hastalıklarında, kalp ve damar hastalıklarında, kanserde, metabolizma rahatsızlıklarında kullanıldığı bilinmektedir (Sarı vd 2010).

Kanser cerrahi yolla, radyoterapi ve kemoterapi ile tedavi edilebilmektedir. Kanser cerrahi ablasyonundan sonra, metastaz tümör hücrelerinin ilerlemesine neden olabilmektedir ve bu kanser tedavisini zorlaştıran bir nedendir. Antikanser ilaçlar ve radyoaktif ışınlar hızla büyüyen tümör hücrelerini öldürmek için DNA kopyalanmasını bastırmaktadır. Ancak normal hücreleri etkileyen ciddi yan etkilere (mide bulantısı, saç dökülmesi, kemik iliği fonksiyonu inhibisyonu gibi) sebep olmaktadır. Etkili bir antikanser ilacının sadece malign hücreleri öldürmeleri ve metastazı bastırmaları istenir (Demirtaş vd 2009). Bu tedavilerin yan etkilerinden dolayı dünya çapında birçok kanserli hasta tamamlayıcı ve alternatif tedavi olarak bitkilerden yararlanmaktadır (Melo vd 2011).

Geleneksel tıbbın temelini oluşturan bitkilerdeki araştırmalar etkili farmakolojik özelliklere sahip birçok yeni metabolitleri ortaya çıkarmıştır. Örneğin; kemoterapötik ilaç olan Paclitaxel (taxol), bitki ekstraktları ile yapılan antikanser aktivite çalışmalarında Himalaya porsuk ağacının kabuğundan keşfedilmiştir (Kaewpiboon vd 2012).

1960'lı yıllarda Çin süs ağacı *Camptotheca acuminata*'dan izole edilen bir monoterpenoid alkaloidi olan kamptotesin özellikle yumurtalık ve kolorektal kanser olmak üzere kanser tedavisinde kullanılmaktadır. En sık kullanılan antikanser ilaçları arasında; taksoller (paclitaxel ve docetaxel), vinka alkaloidleri (vinblastin, vinkristin, vinorelbin), etoposid, rubomycin, colchamine yer almaktadır (Stevigny vd 2005, Pehlivan Karakaş vd 2012).

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların hastalarda yarattığı istenmeyen yan etkiler bu ilaçların uygulama alanlarını sınırlamaktadır. Kanser hücrelerinin kemoterapötik ilaçlara karşı direnç geliştirebildikleri göz önüne alındığında, daha az toksik ancak daha etkili anti-kanser ajanların bulunması önemli bir ihtiyaç olmuştur (Saleem vd 2005, Pehlivan Karakaş vd 2012).

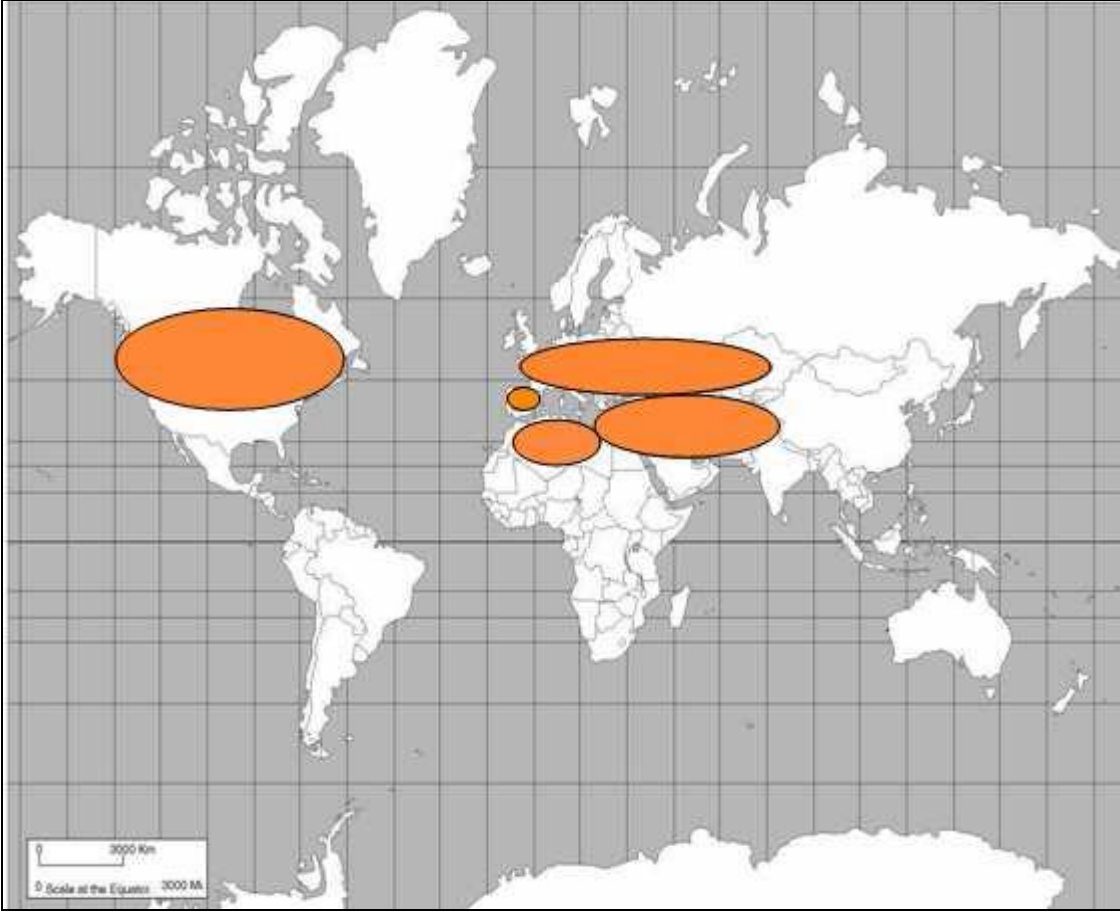
Antikanser ajanlar olarak bitkilerin sekonder metabolitlerinden yeni ilaçların geliştirilmesi için çalışmalar yapılmaktadır (Pehlivan Karakaş vd 2012). Yapılan bazı çalışmalarda bitkilerin sitotoksik etkilerinin belirlendiği görülmüştür (Kuo vd 2005, Wang vd 2009, Ding vd 2009).

2.6. Çalışılan Hücre Hatları

Tez çalışması kapsamında, servikal adeno karsinoma (HeLa) ve insan böbrek epitel (293 T) hücreleri kullanılmıştır. Çalışmamızda 293 T hücre hattı kontrol grubu olarak kullanılmıştır. HeLa, kültürü yapılan ilk insan hücre hattıdır. Araştırmalarda kullanılmaya başlandığından beri 70.000'den fazla çalışmada HeLa hücre hattı kullanılmıştır. Biyolojik araştırmalarda örnek organizma olarak en yaygın kullanılan HeLa hücre hattı önemli biyolojik süreçlerin araştırılmasına ve karakterizasyonuna katkıda bulunmuştur (Landry vd 2013). 1951 yılında serviks kanserinden ölen Henrietta Lacks adlı bir hastanın, biyopsi örneklerinden alınan hücreler doku kültürü ile ölümsüzleştirilerek ilk insan kanser hücre hattı olarak kullanıma sunulmuştur. Hücre, hastanın (Henrietta Lacks) isminin ilk iki harfleri alınarak HeLa olarak adlandırılmıştır (Lucey vd 2009).

2.7. *Alcea heldreichii* (Boiss.) Boiss.

Alcea cinsi dünya üzerinde Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerinde yayılış göstermektedir (Şekil 2.1). Çoğunlukla Avrupa'nın kuzeyi hariç bütününde, Kuzey Amerika'da, Afrika'nın kuzeyinde, Kafkaslar'da ve Güney Rusya'nın bir bölümünde ve Anadolu'dan Afganistan'a kadar olan kesimlerde yayılış göstermekte olup 76 tane tür ile temsil edilmektedirler (Uzunhisarcıklı ve Vural 2009, Anonim 2010).



Şekil 2.1. *Alcea* L. cinsinin dünyadaki yayılış alanları (Uzunhisarcıklı ve Vural 2009'dan uyarlanmıştır).

Ülkemizde Malvaceae familyası 14 cins ile temsil edilmektedir. Bu cinslerden biri olan *Alcea* ise ülkemizde 20 tür ile temsil edilmekte olup bu türlerin 2 tanesi ülkemize endemik türlerdir (Uzunhisarcıklı 2012).

İlk örnekleri Heldreich tarafından Yunanistan'dan toplanan *Alcea heldreichii* 1853 yılında Boissier tarafından *Althea heldreichii* olarak adlandırılmıştır. Yine aynı bilim insanı tarafından 1867 yılında bu tür *Althea* cinsinden alınarak *Alcea* cinsine aktarılmış ve *Alcea heldreichii* (Boiss.) Boiss. olarak adlandırılmıştır (Davis 1967).

Araştırmamızda Malvaceae (ebegümeçigiller) familyasına ait *Alcea heldreichii* (Boiss.) Boiss. türü çalışılmıştır. Ülkemizde Antalya ve Adana'da, ülkemiz dışında ise sadece Yunanistan'da yetişen, beyaz çiçeklere sahip (Yunanistan'da pembe çiçekli), 1 m' ye kadar boylanabilen çok yıllık otsu bir bitkidir (Şekil 2.2 ve 2.3). Gövde üzerinde grimsi renkli yıldızsı tüyler taşımaktadırlar. Yumurtamsı, kördişli yapraklara sahiptirler. Kaliksi olukçukludur. Yetişme ortamı olarak yamaçları ve yol kenarlarını tercih eden bu tür, temmuz ayında çiçeklenmektedir. Meyve verme zamanı ise ağustos ayıdır (Davis 1967).



Şekil 2.2. *Alcea heldreichii* bitkisinin genel görünümü



Şekil 2.3. *Alcea heldreichii* bitkisinin çiçeklerinin yakından görünümü

Alcea cinsine ait türlerden bazıları bahçelerde süs bitkisi olarak yetiştirilmekte ve halk arasında soğuk algınlıklarında öksürük kesici, mide ağrılarına, iltihaplanma ve astıma karşı kullanılmaları açısından ekonomik bir öneme sahiptir (Uzunhisarcıklı ve Vural 2009).

Yaptığımız literatür araştırmalarına göre *Alcea* cinsinin antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili çok fazla çalışmaya rastlanılmamıştır. Günümüze kadar yapılan farklı *Alcea* türlerinin ekstraktlarıyla ilgili çalışmalarda farklı sonuçlar alınmıştır. Benli vd (2007), Türkiye'deki bazı endemik bitki türlerinin antimikrobiyal etkilerinin araştırılması için yapılan çalışmada *Alcea apterocarpa* (Fenzl) Boiss. türünün tohum ve sepallerinden elde edilen ekstraktlar *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı etkili bulunmuştur. Ancak aynı bitkinin yapraklarından elde edilen ekstraktlarda antimikrobiyal aktivite gözlenmemiştir. Mert vd (2010), *Alcea rosea* L.'nin çiçeklerinden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal ve sitotoksik etkilerinin araştırılması için yapılan çalışmada ise kullanılan ekstraktların herbiri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşu hariç tüm Gram (+) bakterileri inhibe etmiştir. Çalışılan Gram (-) bakterilerden *E. coli* ATCC 25922 ve *Enterobacter cloacae* 13047 suşları dışındaki bakteriler ekstraktlara duyarlılık göstermiştir. Yine aynı çalışmada tuz karidesleri olarak bilinen Brine shrimp'ler (*Artemia salina*) üzerinde sitotoksik etkisi araştırılan *A. rosea* etil asetat ekstraktları etkili bulunmuştur. *A. rosea* bitkisi ile yapılan bir başka çalışmada ise elde edilen yaprak ve çiçek ekstraktlarının farklı konsantrasyonları çalışılan bakteriler üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (Seyyednejad vd 2010).

Yaptığımız literatür taramalarında, *A. heldreichii* ile yapılan bir çalışma ve makale ile karşılaşmamıştır. Günümüzde birçok çalışmada bitkilerin antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri tanımlanmıştır. Bu tez çalışmamızda *A. heldreichii* yaprak, meyve, çiçek, gövde ve tüm bitki etanol ekstraktlarının 13 farklı bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etkileri ve servikal adeno karsinoma (HeLa) ve insan böbrek epitel (293 T) hücre hatlarında sitotoksik etkileri çalışılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitki Örneğinin Toplanması, Adlandırılması ve Ekstraksiyon için Hazırlanması

Bu çalışmada materyal olarak ülkemizde Antalya ve Adana, ülkemiz dışında ise sadece Yunanistan'da yetişen, ebegümecigiller (Malvaceae) familyasında yer alan *A. heldreichii*'ye ait değişik bitki kısımları (yaprak, çiçek, gövde ve meyve) ve tüm bitki kullanılmıştır. Bitki materyali toprak üstü kısımlarını kapsayacak şekilde Antalya-Serik lokalitesinden toplanmıştır. Bitkinin çiçeklerini ve meyvelerini toplamak amacıyla farklı zamanlarda arazi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bitki türünün adlandırma işleminde, Davis'in "Flora of Turkey and The East Aegean Islands" adlı eserinden yararlanılmıştır (Davis 1967).

Toplanan bitkinin materyal olarak kullanılacak yaprak, çiçek, gövde ve meyve kısımları budama makası yardımı ile kesilerek ayrılmıştır. Tüm bitki ve kesilen kısımlar doğrudan güneş ışığına maruz bırakılmadan, oda sıcaklığında, hava akımının bulunduğu ortamda kurutulmuştur. Ekstrakt hazırlanabilmesi için kurutma işlemi tamamlandıktan sonra bitki kısımları ufak parçalara ayrılacak şekilde öğütme makinası ile öğütülmüştür. Öğütülen bitki kısımları ekstraktlar elde edilinceye kadar buzdolabında saklanmıştır.

3.2. Etanol Ekstraktlarının Eldesi

Etanol ekstraktları için öğütülen bitki kısımlarının kuru ağırlıkları tartılarak Soxhlet Ekstraksiyon cihazına yerleştirilmiş ve üzerlerine % 99,9 saflıkta etanol ilave edilip 4 saat boyunca ekstrakte edilmiştir. Dört saat sonunda elde edilen karışımın etanolü evaporatör yardımı ile uçurularak ekstraktlar hazırlanmıştır. Yeterli miktarda ekstrakt elde edilinceye kadar işlemler yeni örneklerle tekrar edilmiştir. Analizler yapılmaya kadar ekstraktlar +4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

3.3. Antimikrobiyal Testlerinde Kullanmak Üzere Etanol Ekstrakt Dozlarının Hazırlanması

Yaprak Etanol Ekstraktı: Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen ekstraktan 400 mg tartılıp 15 ml % 99,9 saf etanol içerisinde çözülmüştür. Elde edilen stok 27 mg/ml olmuştur. Bu stoktan 1850 µl alınıp üzerine 5 ml etanol ilave edilip 10 mg/ml dozundaki stok elde edilmiştir. 5 mg/ml doz için ilk hazırlanan stoktan 925 µl alınarak üzerine 5 ml etanol ilave edilmiştir. Aynı şekilde 1 mg/ml doz için ana stoktan 185 µl alınmış üzerine 5 ml etanol ilave edilmiştir. Hazırlanan üç dozdaki stoklar filtreden geçirilerek steril edilip kullanılmaya kadar -20 °C' de muhafaza edilmiştir.

Çiçek Etanol Ekstraktı: Ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstraktan 100 mg tartıp 5 ml % 99,9 saf etanol içerisinde çözülmüştür. Elde edilen stok 20 mg/ml olarak hesaplanmıştır. 10 mg/ml doz için bu stoktan 2500 µl alınarak üzerine 5 ml etanol eklenmiştir. 1250 µl ana stoktan alınarak üzerine 5 ml etanol eklenmiş ve 5 mg/ml dozundaki stok hazırlanmıştır. 1 mg/ml doz için ana stoktan 250 µl alınmış

üzerine 5 ml etanol eklenmiştir. Hazırlanan üç dozdaki stoklar steril edilmek için filtreden geçirilmiştir. Stoklar kullanılıncaya kadar -20 °C’ de saklanmıştır.

Meyve Etanol Ekstraktı: Tamamlanan ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstraktan 600 mg tartılıp 7 ml % 99,9 saf etanolde çözülmüştür. Elde edilen stok 85 mg/ml olmuştur. Bu stoktan 588 µl alınarak üzerine 5 ml etanol ilave edilmiş ve 10 mg/ml dozundaki stok elde edilmiştir. 5 mg/ml doz için ana stoktan 294 µl alınarak üzerine 5 ml etanol ilave edilmiştir. 1 mg/ml doz için ise ana stoktan 58 µl alınıp üzerine 5 ml etanol ilave edilmiştir. Hazırlanan üç dozdaki stoklar filtreden geçirilerek steril edilip kullanılıncaya kadar -20 °C’ de muhafaza edilmiştir.

Gövde Etanol Ekstraktı: Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen ekstraktan 300 mg tartılıp 8 ml % 99,9 saf etanol içerisinde çözülmüştür. Elde edilen stok 37 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Bu stoktan 1350 µl alınarak 5 ml etanol içine ilave edilerek 10 mg/ml dozundaki stok hazırlanmıştır. 5 mg/ml dozundaki stok için ana stoktan 675 µl alınarak üzerine 5 ml etanol ilave edilmiştir. 135 µl ana stoktan alınıp üzerine 5 ml etanol eklenerek 1 mg/ml dozundaki stok elde edilmiştir. Hazırlanan üç dozdaki stoklar steril edilmek için filtreden geçirilmiştir. Stoklar testlerde kullanılıncaya kadar -20 °C’ de saklanmıştır.

Tüm Bitki Etanol Ekstraktı: Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen ekstraktan 400 mg tartılıp 8 ml % 99,9 saf etanol içerisinde çözülmüştür. Elde edilen stoğun dozu 50 mg/ml olmuştur. Bu stoktan 1000 µl alınıp üzerine 5 ml etanol ilave edilip 10 mg/ml dozundaki stok elde edilmiştir. 5 mg/ml doz için ilk hazırlanan stoktan 500 µl alınarak üzerine 5 ml etanol ilave edilmiştir. Aynı şekilde 1 mg/ml doz için ana stoktan 100 µl alınmış üzerine 5 ml etanol ilave edilmiştir. Hazırlanan üç dozdaki stoklar filtreden geçirilerek steril edilip kullanılıncaya kadar -20 °C’ de muhafaza edilmiştir.

3.4. *Alcea heldreichii* Bitkisinden Elde Edilen Etanol Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması

3.4.1. Test mikroorganizmaları

Test edilecek olan bakteriler CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından kullanımı önerilen, duyarlılık özelliği bilinen ATCC (American Type Culture Collection) kalite kontrol suşları Gram (+) ve Gram (-) patojen bakteriler arasından seçilmiştir. Kullanılan bakteriler sırasıyla Çizelge 3.1’ de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bakteriler ve direnç/duyarlılık özellikleri

Gram pozitif kolay üreyen bakteriler	Duyarlılık özelliği
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	β-laktamaz negatif
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	β--laktamaz pozitif
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Oksasiline dirençli
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Vankomisine duyarlı, yüksek düzey aminoglikozid direnci yok
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	Vankomisine dirençli, yüksek düzey aminoglikozid direnci var
Gram negatif kolay üreyen bakteriler	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	β-laktamaz negatif
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	β-laktamaz pozitif
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	Genişlemiş spektrumlu β-laktamaz (ESBL) pozitif
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Kalite kontrol suşu
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 23355	Sefalosporinaz (β-laktamaz II) pozitif
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	Kalite kontrol suşu
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Kalite kontrol suşu
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Kalite kontrol suşu

3.4.2. Antimikrobiyal duyarlılık testleri

3.4.2.1. Disk difüzyon yöntemi

Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklerini belirleyebilmek için ilk olarak disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Bu amaçla CLSI'nin bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıklarını test etmek amacı ile önerdiği standart disk difüzyon metodu ekstratlar için uyarlanmıştır (CLSI 2006a). Bu metoda göre, bakteri türleri ilk olarak Mueller Hinton Agar plaklarında bir gece 37 °C'de inkübe edilerek çoğaltılmıştır. Daha sonra kullanılan tüm bakterilerin 0,5 McFarland (1×10^8 cfu/ml) standart yoğunluğunda olacak şekilde % 0,9 NaCl solüsyonu içerisinde süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu bakteri süspansiyonları steril eküvyon yardımı ile petri kutularını sık aralıklarla taramak sureti ile 3 ayrı yönde besiyerlerine sürülerek inoküle edilmiştir. Besi yeri olarak, tüm bakteriler için Mueller Hinton Agar (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) kullanılmıştır. Altı mm çapındaki steril standart boş antibiyotik disklere mikropipet ile 10 mg/ml, 5 mg/ml ve 1 mg/ml dozunda hazırlanan etanol ekstaktları 20 µl emdirilerek, bakteri yayılmış besiyerlerine diskler teker teker yerleştirilmiştir. Her bakterinin duyarlılık özelliğine göre CLSI'den seçilen standart antibiyotik diskleri de aynı petrilere pozitif kontrol olarak konulmuştur. Kullanılan antibiyotikler sırasıyla Çizelge 3.2'de verilmiştir. Yine aynı petri kutusuna sterilite kontrolü için boş antibiyotik diski ve sadece çözünen emdirilmiş olduğu disklerde petri kutusuna yerleştirilmiştir. Tüm bakteriler normal atmosferde olmak şartıyla 37 °C'de bir gece inkübe edilmiştir. Bu yöntem yaprak, meyve, gövde, çiçek ve tüm bitki ekstraktlarının 10 mg/ml, 5 mg/ml ve 1 mg/ml dozları için uygulanmıştır. Her bir test dört kez tekrarlanmıştır.

Çizelge 3.2. Test edilen bakteriler için seçilen antibiyotikler

Bakteri grubu	Antibiyotik
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Penisilin G
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Penisilin G
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	Oksasilin*
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Vankomisin
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	Vankomisin
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Amoksisilin/ klavulanik asit
<i>E. coli</i> ATCC 35218	Amoksisilin/ klavulanik asit
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	Seftazidim
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	Seftazidim
<i>E. cloacae</i> ATCC 23355	Meropenem
<i>S. marcescens</i> ATCC 8100	Meropenem
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	Ampisilin
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Meropenem

* Disk difüzyon testi için sefoksitin kullanılmıştır.

3.4.2.2. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi (MIC saptanması)

Bitki ekstraktlarının MIC değerlerinin belirlenebilmesi için CLSI tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi uygulanmıştır (CLSI 2006b). Ekstreler, Mueller Hinton Broth içinde en yüksek konsantrasyonda hazırlanmıştır. Daha sonra 96 well'lik mikrotitrasyon plaklarında çift kat dilüsyonları yapılmıştır. Tüm bakteriler için katyon-ekli Mueller Hinton Broth (CAMHB) kullanılmıştır. Bakteri türleri Mueller Hinton Agar'da bir gece 37 °C'de inkübe edilerek çoğaltılmıştır. Taze kültürleri elde edilen tüm bakterilerin % 0,9 NaCl solüsyonunda 0,5 McFarland (1×10^8 cfu/ml) standart yoğunluğuna göre süspansiyonları hazırlanmıştır. 96 kuyucuk mikroplate'lerin her bir kuyucuğu besi yerinin 50 µl'si ile doldurulmuştur. Bunu takiben, bitki ekstraktının stok solüsyonunun 50 µl'si ilk kuyucuğa eklenmiş ve 6 kuyucuk boyunca seri dilüsyonları yapılmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µl bakteri süspansiyonundan eklenmiştir (5×10^5 cfu/ml). Böylelikle ekstraktların 10-0,3125 mg/ml'lik geometrik dilüsyonları elde edilmiştir. Üreme ve besi yeri kontrol kuyucuğu olmak üzere iki kontrol kuyucuğu da her bir bakteri için konulmuştur. Aynı prosedür kontrol olarak kullanılan antibiyotiklerin hepsi için de uygulanmıştır. Mikrotitrasyon plate'leri normal atmosferde 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bakteriyel büyüme, kuyucukların dip kısmında beyaz pelletin varlığı ile ortaya konulmaktadır. "MIC" bakteriyel büyümenin inhibe edildiği en düşük konsantrasyon olarak tanımlanmaktadır. Her bir deney dört kere uygulanmıştır.

3.4.2.3. Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC saptanması)

Bitki ekstraktlarının MBC değerlerinin belirlenebilmesi için CLSI tarafından önerilen MBC test prosedürü uygulanmıştır (CLSI 2006b). Konvansiyonel sıvı mikrodilüsyon MIC duyarlılık testi değerlendirildikten sonra, MIC'e eşit ve MIC'ten büyük ekstrakt konsantrasyonu içeren mikrotitrasyon kuyucuklardan iki ayrı kanlı agar plağına 10'ar µl ekilerek subkültür yapılmıştır. Plaklar 37 °C'de çabuk üreyen Gram (-)

basiller için 24 saat, stafilokok ve enterokoklar için 48 saat, diğer organizmalar için 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda bakteri inokulumunun % 99,9'unu inhibe eden en düşük ekstrakt konsantrasyonu MBC değeri olarak tanımlanmıştır.

3.5. Sitotoksik Testlerinde Kullanılmak Üzere Etanol Ekstrakt Dozlarının Hazırlanması

Ekstraksiyon işlemi sonrasında elde edilen ekstraktlardan 100 mg tartılıp 5 ml PBS içerisinde çözülmüştür. Elde edilen çözeltinin konsantrasyonu 20 mg/ml olmuştur. Bu çözelti 10 kez PBS (Fosfat-Tuz tamponu) ile sulandırılmıştır. Elde edilen stok çözeltinin konsantrasyonu 2 mg/ml olmuştur. Ana stok filtreden geçirilerek steril hale getirilmiştir ve -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Dozların 1000, 500, 250 ve 125 µg/ml olarak uygulanmasına karar verilmiştir. Ana stoğu (2 mg/ml) 4 kez % 1'lik FBS (Fetal Bovin Serum) içeren besi yeri ile seyrelterek uygulanacak dozlar elde edilmiştir. Bu işlemlerin hepsi yaprak, meyve, gövde, çiçek ve tüm bitki ekstraktları için aynı şekilde uygulanmıştır.

3.6. *Alcea heldreichii* Bitkisinden Elde Edilen Etanol Ekstraktlarının Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması

3.6.1. Hücre hatları ve kültür koşulları

Tez çalışması kapsamında, servikal adeno karsinoma (HeLa) ve insan böbrek epitel (293 T) hücreleri kullanılmıştır. Hücreler % 5 CO₂'li atmosferde 37 °C'de inkübe edilmiştir. ATCC'nin tavsiye ettiği şekilde hücreler % 0,25 tripsin, % 0,03 EDTA karışımı ile kaldırılmış 1:2 ya da 1:3 oranında olacak şekilde pasajlanmış, kullanılmayan hücreler % 95 besi yeri ve % 5 DMSO içerecek şekilde hazırlanan solüsyon içerisinde sıvı azot içeren dondurma tankında tekrar kullanılıncaya kadar saklanmıştır. Bu çalışmada 293 T hücreleri kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

3.6.2. WST-1 testi

Hücre Proliferasyon Kiti (Rosche, Kat. No: 11 644 807 001) kullanılarak ilaçların sitotoksik etkileri araştırılmıştır. WST-1 testi canlı hücrelerdeki metabolik aktiviteyi, hücrelerin WST-1'i parçalayarak çözülebilir formazan tuzları oluşturması ile ölçmektedir.

Hücreler stoktan açılarak küçük petri kaplarına ekilmiştir. Üremesi sağlanan hücre hatlarının buldukları petri kapları % 80-90 oranında dolunca besi yerleri çekilip tripsinizasyon ile kaldırılmıştır. Kaldırılan hücreler % 1'lik FBS (Fetal Bovin Serum) içeren besi yeri ile toplanıp mikroskopta thoma lamı ile sayılmış ve milimetredeki hücre sayısı tespit edilmiştir. WST-1 testi ile ekstraktların sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amacı ile hücreler, 10000 hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu steril plaklara bölünmüştür ve yapışmaları için 24 saat 37 °C'de % 5 CO₂'li ortamda inkübe edilmiştir. 24 saatlik süre ardından besiyerleri uzaklaştırılmıştır, belirlenen 1000, 500, 250 ve 125 µg/ml dozlarındaki ekstraktlar 200 µl % 1'lik FBS içeren besi yeri içerisinde hücrelere uygulanmıştır. İlaç uygulamasının arkasından tek bir sıra kuyucuktaki hücre canlılığı

saptanmıştır (Sıfıncı zaman). Ekstrakt uygulamasında inkübasyon süresi olarak 24, 48 ve 72 saatlik periyotlar kullanılmıştır. İnkübasyon süreleri tamamlanınca 96 kuyucuklu plaklardan uygulamaları içeren besi yeri uzaklaştırılmış, 180 µl serumsuz besi yeri ve 20 µl WST-1 solüsyonu eklenerek deneyler sonlandırılmıştır. Hücreler 4 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra 96 kuyucuklu plakların absorbans değerleri spektrofotometrede 490 nm dalga boyunda okunmuştur.

3.6.3. Tripın mavisi testi

Yukarıda belirtilen test sonuçlarını desteklemek amacı ile hücre canlılığını doğrudan mikroskopik olarak belirleyebilmeyi sağlayan tripan mavisi (0.4 % ; Hanks tuz-fosfat tamponu içerisinde) testi kullanılır. Hücrelerin canlılığı, hücre içine tripan mavisi alınıp alınmadığına bağlı olarak gözlenen renk ile değerlendirilir. Membran hasarı olan hücreler boyayı aldıkları için mavi renkte gözlenirken canlı hücreler içerisine boyanın girmesi söz konusu olmadığından şeffaf renkte gözlenir. Canlı hücrelerin miktarı aşağıda verilen formüller ile hesaplanır.

$$\text{Toplam Hücre Sayısı / ml} = (\text{Toplam Hücre Sayısı / n}) \times \text{Sulandırma Faktörü} \times 10^4$$

(n: Hemositometredeki karelerden kaç tanesinin sayıldığını göstermektedir)

$$\% \text{ Canlı Hücre} = \frac{\text{Canlı Hücre Sayısı}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \times 100$$

Hücreler 1×10^5 hücre/kuyucuk olacak şekilde 12 kuyucuklu plaklara bölünmüştür. Yirmidört saatlik inkübasyon sonrasında besi yerleri uzaklaştırılarak; 1000, 500, 250 ve 125 µg/ml ekstrakt içeren 1 ml % 1 serumlu besi yerleri uygulanmıştır. Kontrol grubu olarak kullanılacak kuyucuklara yalnızca % 1 serumlu besi yeri eklenmiştir. Deneyler; WST testinde etkili olduğu saptanan inkübasyon süresi sonunda sonlandırılmıştır. Besiyerleri toplanarak 1000 rpm'de 2 dakika döndürülerek çöktürülmüş, dökelti uzaklaştırılmıştır. Kuyucukların üzerine 500 µl, EDTA-Versen eklenerek hücreler plaklardan ayrılmış ve tüpteki çökeltinin üzerine eklenmiştir. Karışım, 1500 rpm'de 2 dakika daha döndürülerek çöktürülmüştür. Süpernatın uzaklaştırılmış ve üzerlerine 300 µl Hanks-tuz solüsyonu eklenerek pelletler çözülmüştür. Örnekler buz içerisine alınmıştır. Örnekler, hücre konsantrasyonuna bağlı olarak sulandırılarak, canlı ve ölü hücre sayıları ışık mikroskop altında hemositometre kullanılarak belirlenmiştir (Lin ve Maiese 2001).

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmada disk difüzyon testi uygulamalarından elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde (non-parametrik veriler olarak ele alındı) SPSS 20.0 ve EXCEL 2007 programları kullanılmıştır. Excel programında hazırlanan ön veritabanı ele alınarak; antibiyotiklerin ayrı ayrı dört tekrarlı deneme düzeninden elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir. Antibiyotik etkinliklerinin ayrı ayrı aritmetik ortalamaları bulunarak, ortalamalar standart hatalarıyla (S_h) birlikte verilmiş ve bu sonuçlar SPSS

programında Fisher's Kesin Ki-Kare Testi (Ki Square Test) kullanılarak analiz edilmiştir. Buna göre istatistiksel sonuçlar için kabul edilen geçerli yanılma payı $\alpha=0.05$ olarak alınmış olup, istatistiksel olasılıklarıyla (P) birlikte verilmiştir. Diğer taraftan tek gözlü denemelerde yanılma payını ve istatistiksel güvenilirliği hedeflenen aralıkta tutabilmek amacıyla “Yates Düzeltmesi” uygulanmıştır.

Sitotoksisite testlerinden elde edilen deney sonuçlarındaki kontrol ve diğer gruplar arasındaki farklılık Graph-pad InStat istatistik programında, Tek Yönlü Anova Testi ve ardından Dunnet Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm veriler ortalama \pm SEM değerleri halinde, Sigma Plot 10.0 programı kullanılarak grafik haline getirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. *Alcea heldreichii* Bitkisinin Antimikrobiyal Test Sonuçları

Çalışmamızda kullandığımız *Alcea heldreichii* (Boiss.) Boiss. bitkisinin yaprak, meyve, gövde, çiçek kısımları ve tüm bitkinin etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite testleri yapılmıştır. Antimikrobiyal aktivite testleri bitkinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraktlarla gerçekleştirildiğinden dolayı elde edilen sonuçlar ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

4.1.1. *Alcea heldreichii* türüne ait yaprak etanol ekstraktının disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

Disk difüzyon testinde *A. heldreichii* türüne ait yaprak etanol ekstraktının 10 mg/ml, 5 mg/ml ve 1 mg/ml dozları çalışılan bakterilere karşı uygulanmıştır. Bu sonuçlara göre uygulanan yaprak etanol ekstraktlarının 3 dozuda bakterilere karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir (Şekil 4.1 ve 4.2).

Sıvı mikrodilüsyon testinde yaprak etanol ekstraktlarının 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,625 mg/ml ve 0,3125 mg/ml dozları bakterilere karşı uygulanmıştır. Çalışma sonunda kuyucukların hepsinde bakteriyel büyümenin olduğu gözlenmiştir.

4.1.2. *Alcea heldreichii* türüne ait çiçek etanol ekstraktının disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

Disk difüzyon testinde *A. heldreichii* türüne ait çiçek etanol ekstraktının 10 mg/ml, 5 mg/ml ve 1 mg/ml dozları çalışılan bakterilere karşı uygulanmıştır. Bu sonuçlara göre uygulanan çiçek etanol ekstraktlarının 3 dozuda bakterilere karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

Sıvı mikrodilüsyon testinde çiçek etanol ekstraktlarının 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,625 mg/ml ve 0,3125 mg/ml dozları bakterilere karşı uygulanmıştır. Çalışma sonunda kuyucukların hepsinde bakteriyel büyümenin olduğu gözlenmiştir.

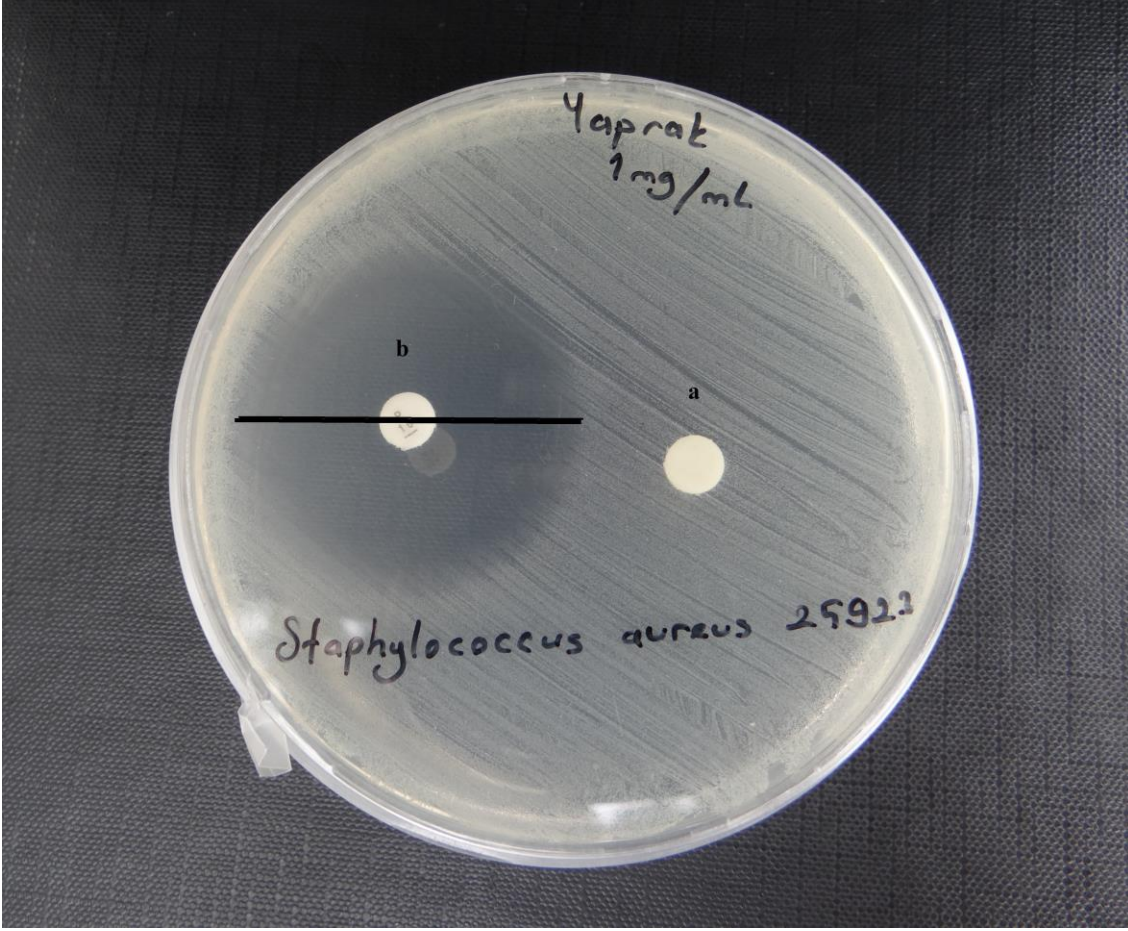


Şekil 4.1. Disk difüzyon testinde *E. coli* ATCC 25922 suşuna karşı 1 mg/ml dozundaki *A. heldreichii* yaprak etanol ekstraktının (a) ve amoksisilin/klavulanik asit antibiyotığının (b) inhibisyon zonları

4.1.3. *Alcea heldreichii* türüne ait gövde etanol ekstraktının disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

Disk difüzyon testinde *A. heldreichii* türüne ait gövde etanol ekstraktının 10 mg/ml, 5 mg/ml ve 1 mg/ml dozları çalışılan bakterilere karşı uygulanmıştır. Bu sonuçlara göre uygulanan gövde etanol ekstraktlarının 3 dozunda bakterilere karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

Sıvı mikrodilüsyon testinde gövde etanol ekstraktlarının 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,625 mg/ml ve 0,3125 mg/ml dozları bakterilere karşı uygulanmıştır. Çalışma sonunda kuyucukların hepsinde bakteriyel büyümenin olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.2. Disk difüzyon testinde *S. aureus* ATCC 25923 suşuna karşı 1 mg/ml dozundaki *A. heldreichii* yaprak etanol ekstraktının (a) ve penisilin antibiyotikinin (b) inhibisyon zonları

4.1.4. *Alcea heldreichii* türüne ait meyve etanol ekstraktının disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

Disk difüzyon testinde *A. heldreichii* türüne ait meyve etanol ekstraktının 10 mg/ml, 5 mg/ml ve 1 mg/ml dozları çalışılan bakterilere karşı uygulanmıştır. Bu sonuçlara göre uygulanan meyve etanol ekstraktlarının 3 dozunda bakterilere karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

Sıvı mikrodilüsyon testinde meyve etanol ekstraktlarının 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,625 mg/ml ve 0,3125 mg/ml dozları bakterilere karşı uygulanmıştır. Çalışma sonunda kuyucukların hepsinde bakteriyel büyümenin olduğu gözlenmiştir.

4.1.5. *Alcea heldreichii* türüne ait tüm bitki etanol ekstraktının disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

Disk difüzyon testinde *A. heldreichii* türüne ait tüm bitki etanol ekstraktının 10 mg/ml, 5 mg/ml ve 1 mg/ml dozları çalışılan bakterilere karşı uygulanmıştır. Bu sonuçlara göre uygulanan tüm bitki etanol ekstraktlarının 3 dozuda bakterilere karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

Sıvı mikrodilüsyon testinde tüm bitki etanol ekstraktlarının 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,625 mg/ml ve 0,3125 mg/ml dozları bakterilere karşı uygulanmıştır. Çalışma sonunda kuyucukların hepsinde bakteriyel büyümenin olduğu gözlenmiştir.

4.2. *Alcea heldreichii* Bitkisinin Sitotoksik Etkisinin Belirlenmesi

Alcea heldreichii bitkisinin yaprak, çiçek, gövde, meyve kısımlarından ve tüm bitkiden elde edilen etanol ekstraktlarının 293 T ve HeLa hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerini belirlemek amacıyla WST-1 testi protokolüne uygun bir biçimde yapılmıştır.

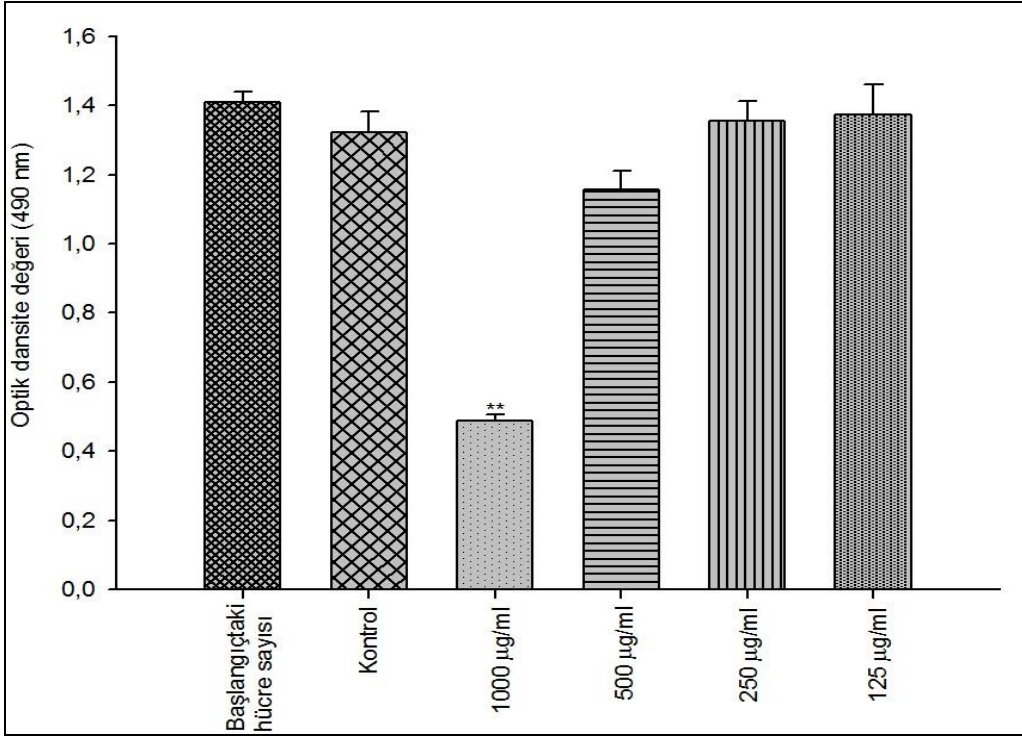
4.2.1. Bitki özütünün hücrelerdeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi

4.2.1.1. 293 T hücre hattı

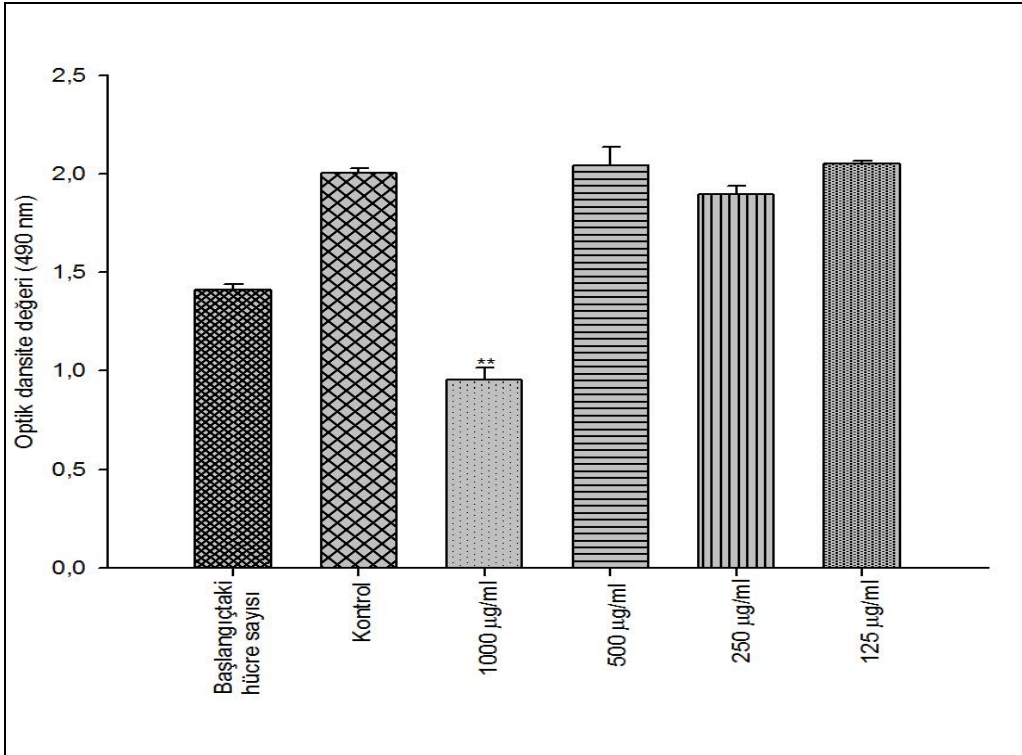
Ekstrakt uygulamaları yapılmadan önce WST-1 testi ile “0. Zaman” ölçümü yapılmıştır. Hücre aktivitesi belirlenen deney setlerinde doz uygulaması gerçekleştirilmiştir.

Bitki ekstraktı uygulamalarında etanol solüsyonu çözücü olarak kullanılmıştır. Etanol ile hazırlanan 1000, 500, 250 ve 125 µg/ml konsantrasyonlarındaki ekstraktların uygulaması yapılmıştır. Ekstraktın 293 T hücre hatları üzerindeki olası sitotoksik etkilerin ortaya koyulması amacıyla inkübasyon süreleri sonunda WST-1 testi uygulanmıştır.

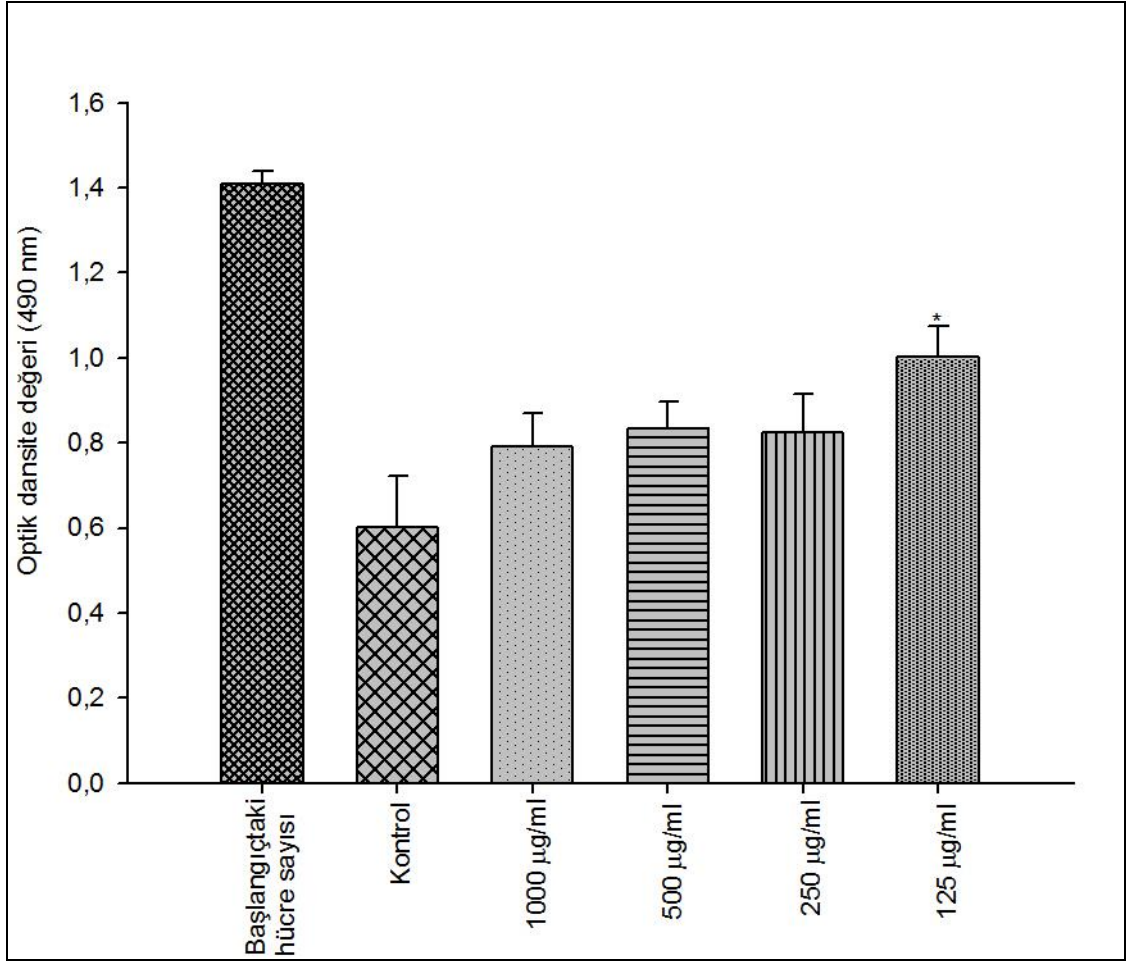
İstatistiksel olarak karşılaştırma sonucunda etanol ile hazırlanan yaprak dozlarının 293 T hücrelerinin 24, 48 ve 72 saat inkübasyonu sonucu elde edilen veriler sırasıyla Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’de sunulmuştur.



Şekil 4.3. Etanol ile hazırlanan yaprak ekstrakt dozlarının 24 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: p<0,01)



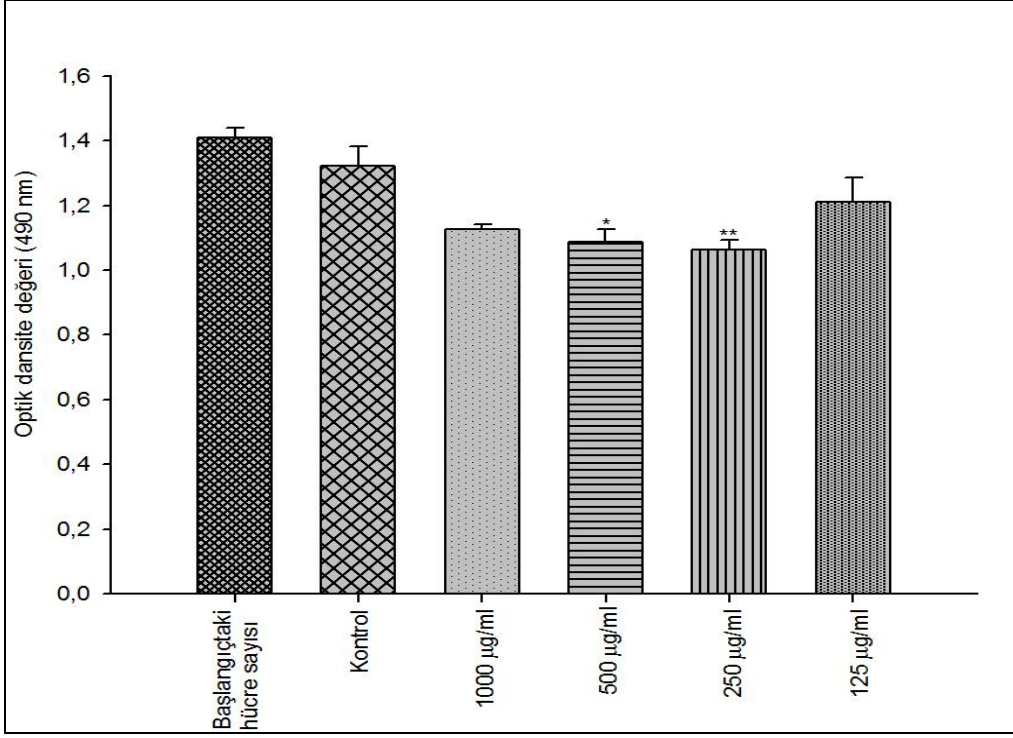
Şekil 4.4. Etanol ile hazırlanan yaprak ekstrakt dozlarının 48 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: p<0,01)



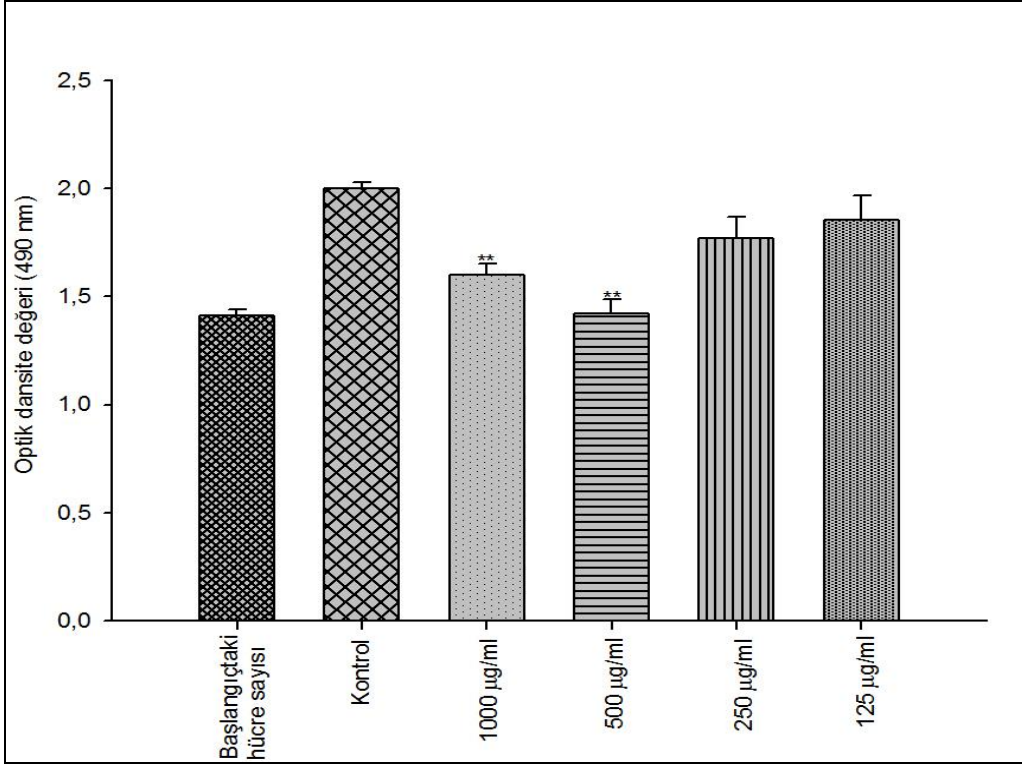
Şekil 4.5. Etanol ile hazırlanan yaprak ekstrakt dozlarının 72 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (*: $p < 0,05$)

Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'den anlaşılacağı üzere, bitki ekstraktı etanol içinde çözülerek uygulandığında 293 T hücre hattı üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki göstermiştir. 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri sonunda sadece en yüksek doz olan 1000 µg/ml'de doğrudan sitotoksik etki görülürken 72 saat sonucunda bu etki sadece 125 µg/ml'lik konsantrasyonunda görülmüştür. 500 ve 250 µg/ml konsantrasyonlarında uygulanan ekstraktların 293 T hücre hatlarına herhangi bir etkisi belirlenmemiştir.

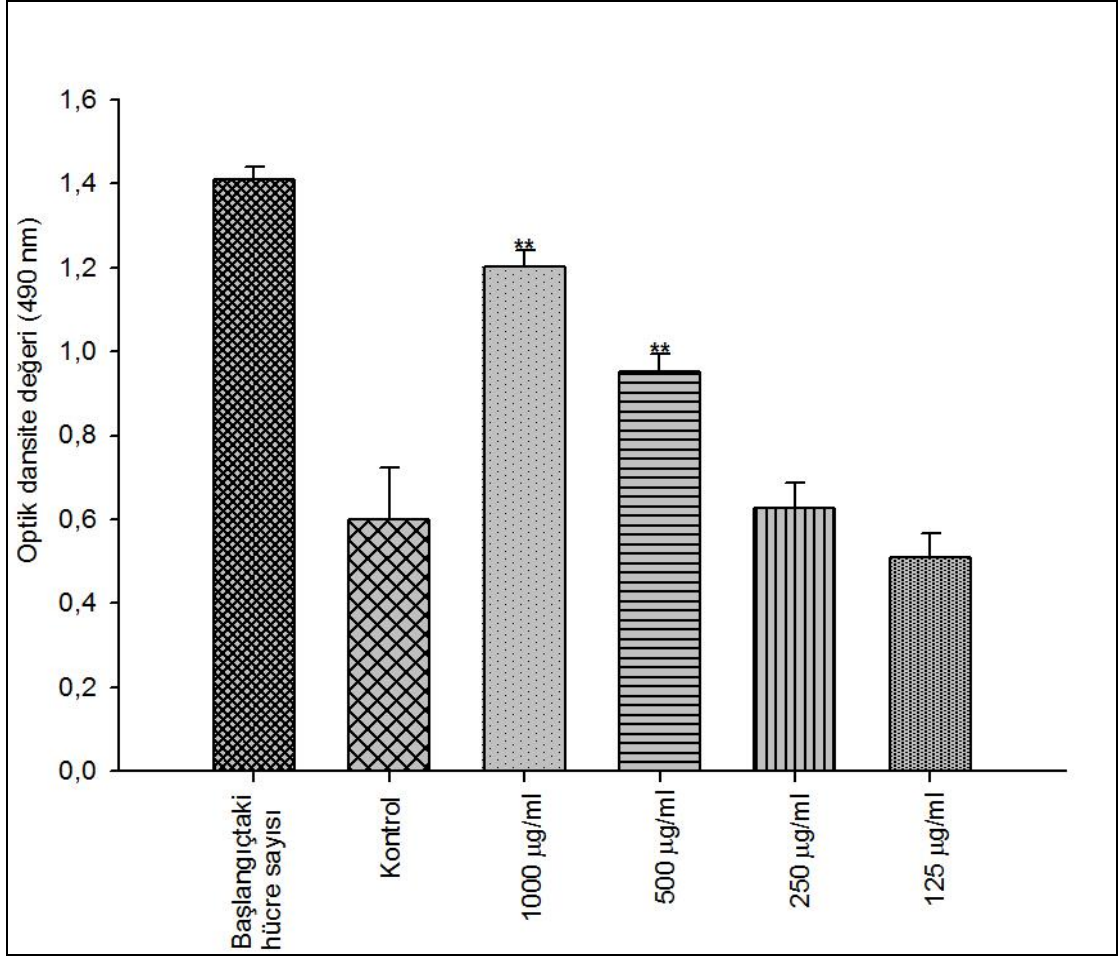
İstatistiksel olarak karşılaştırma sonucunda etanol ile hazırlanan çiçek dozlarının 293 T hücrelerinin 24, 48 ve 72 saat inkübasyonu sonucu elde edilen veriler sırasıyla Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de sunulmuştur.



Şekil 4.6. Etanol ile hazırlanan çiçek ekstrakt dozlarının 24 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$)



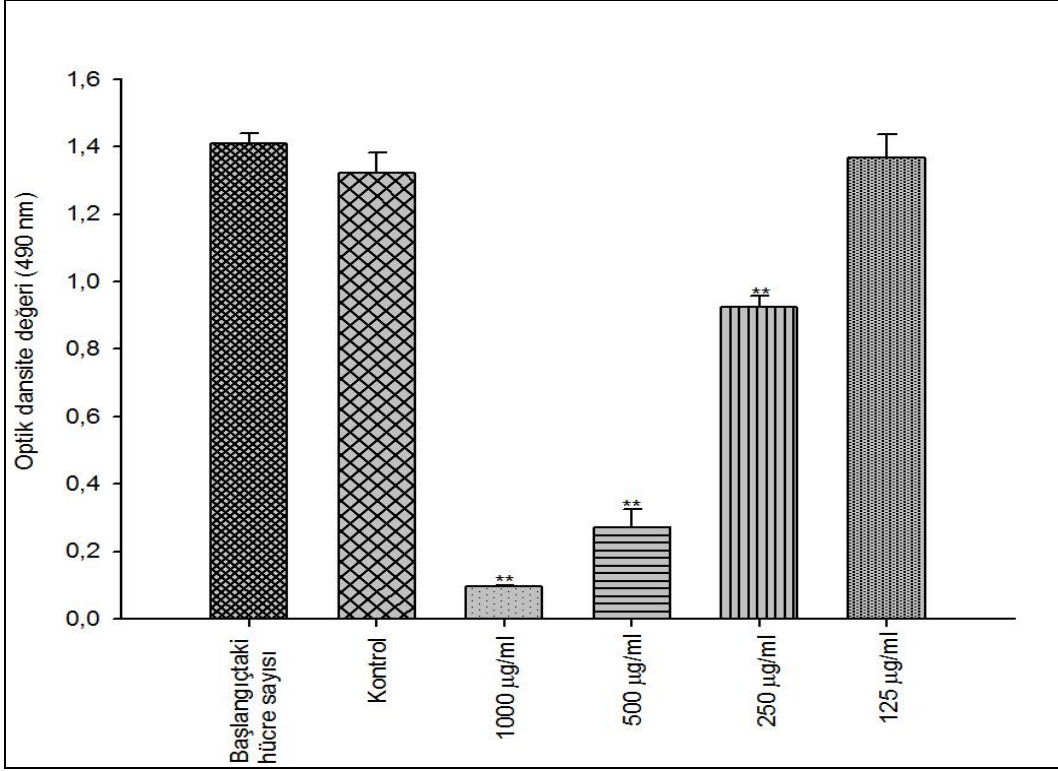
Şekil 4.7. Etanol ile hazırlanan çiçek ekstrakt dozlarının 48 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: $p < 0,01$)



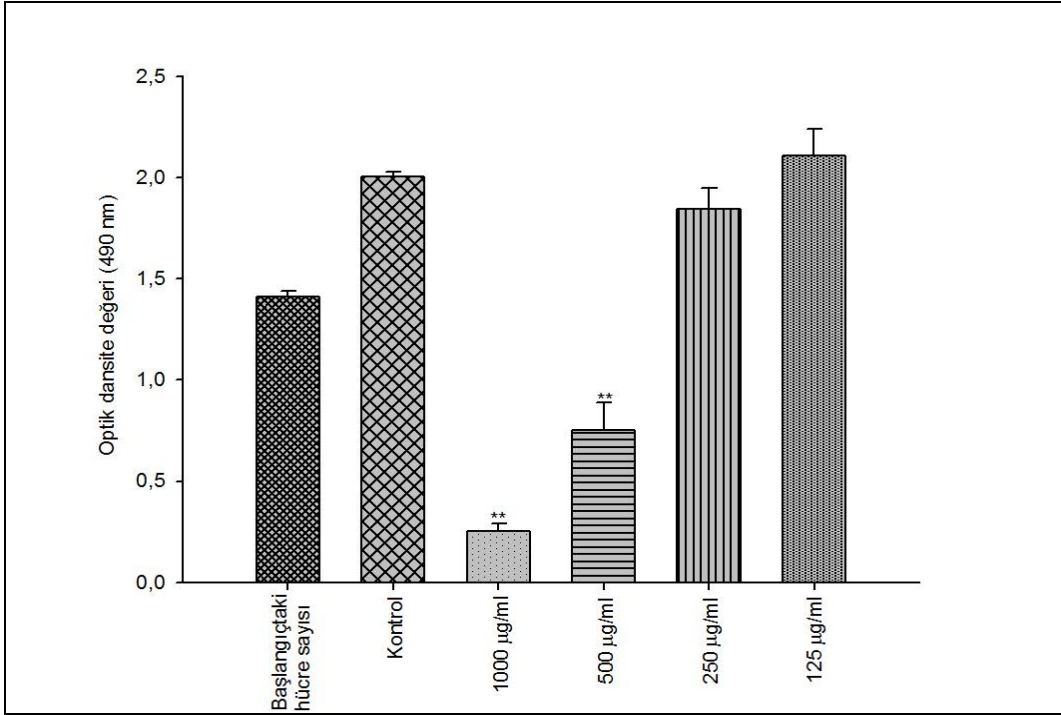
Şekil 4.8. Etanol ile hazırlanan çiçek ekstrakt dozlarının 72 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: $p < 0,01$)

Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'den anlaşılacağı üzere, bitki ekstraktı etanol içinde çözülerek uygulandığında 293 T hücre hattı üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki göstermiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda dozların 500 ve 250 µg/ml'de doğrudan sitotoksik etki görülürken 48 ve 72 saat sonucunda bu etki 1000 ve 500 µg/ml'lik konsantrasyonlarda görülmüştür. 125 µg/ml konsantrasyonunda uygulanan ekstraktın 293 T hücre hattına herhangi bir etkisi belirlenmemiştir.

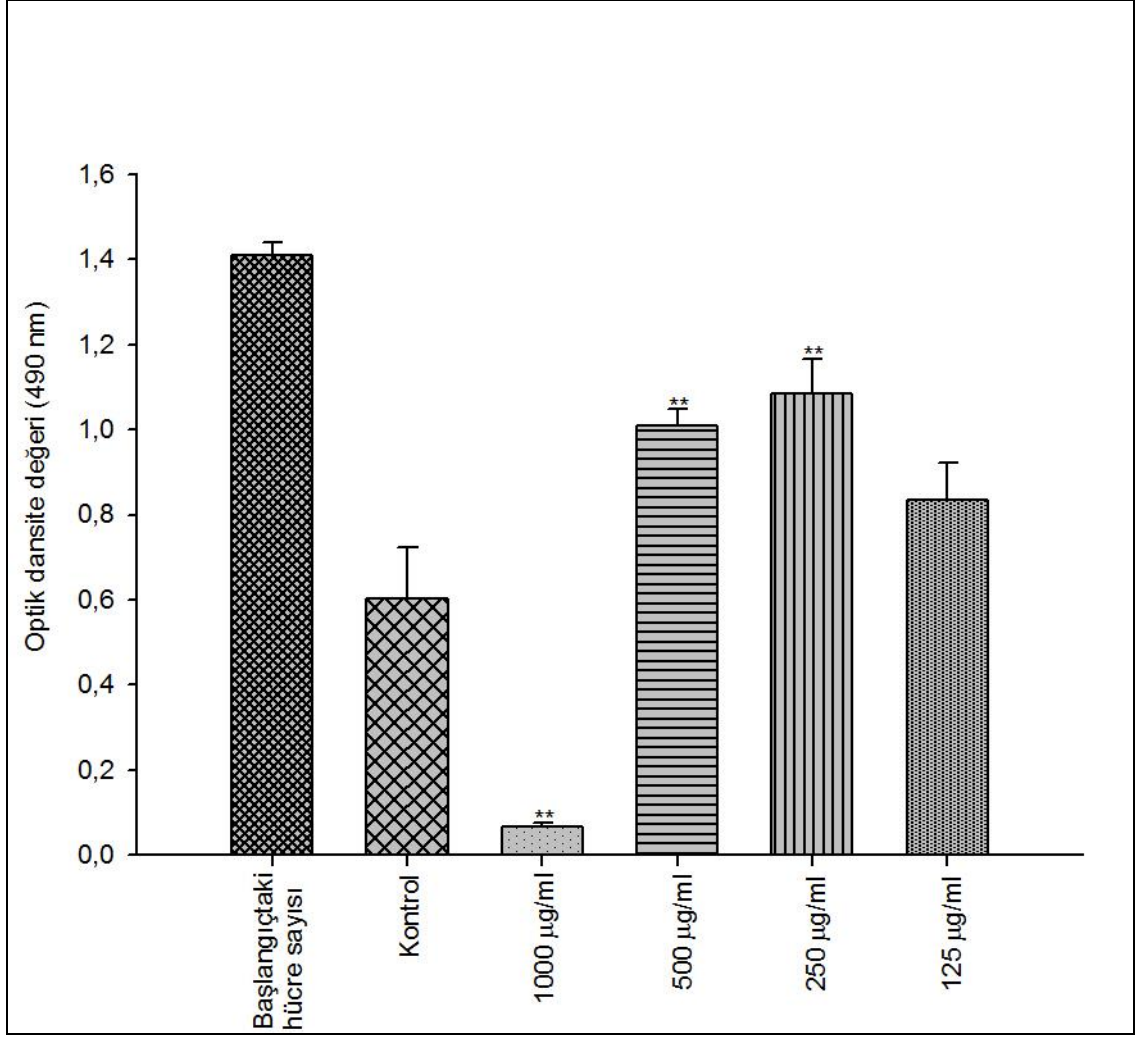
İstatistiksel olarak karşılaştırma sonucu etanol ile hazırlanan gövde dozlarının 293 T hücreleri ile 24, 48 ve 72 saat inkübasyon sonucu elde edilen veriler sırasıyla Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de sunulmuştur.



Şekil 4.9. Etanol ile hazırlanan gövde ekstrakt dozlarının 24 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: p<0,01)



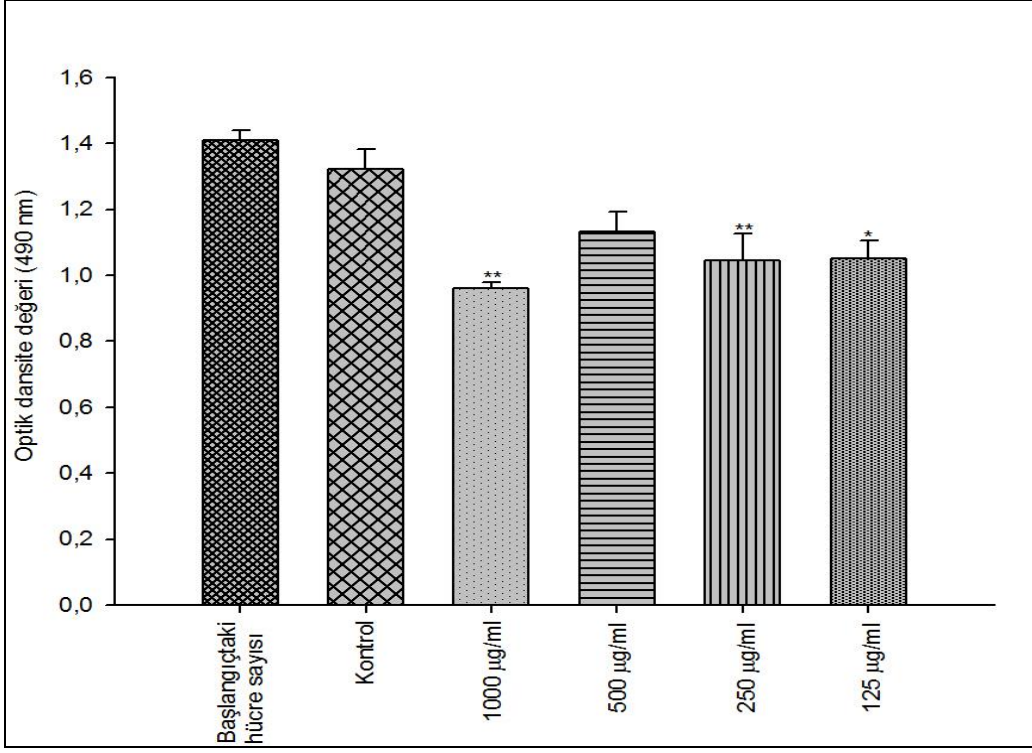
Şekil 4.10. Etanol ile hazırlanan gövde ekstrakt dozlarının 48 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: p<0,01)



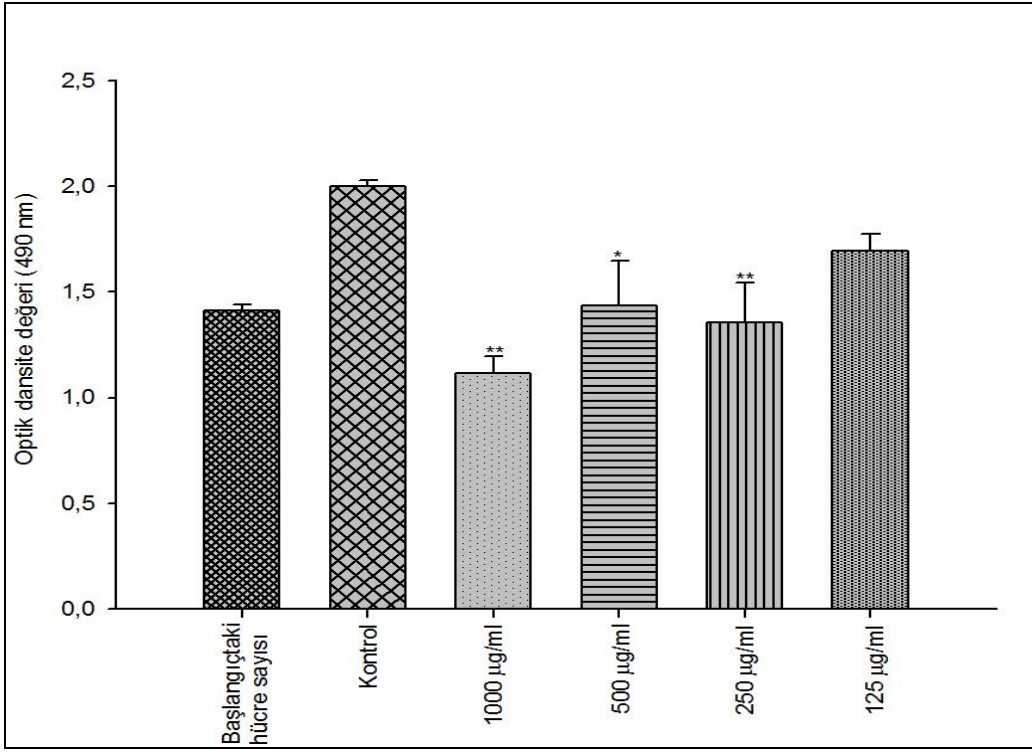
Şekil 4.11. Etanol ile hazırlanan gövde ekstrakt dozlarının 72 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: $p < 0,01$)

Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'den anlaşılacağı üzere, bitki ekstraktı etanol içinde çözülerek uygulandığında 293 T hücre hattı üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki göstermiştir. 24 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda dozların 1000, 500 ve 250 µg/ml'de doğrudan sitotoksik etki görülürken 48 saat sonucunda bu etki 1000 ve 500 µg/ml'lik konsantrasyonlarda görülmüştür. 125 µg/ml konsantrasyonunda uygulanan ekstraktın 293 T hücre hattına herhangi bir etkisi belirlenmemiştir.

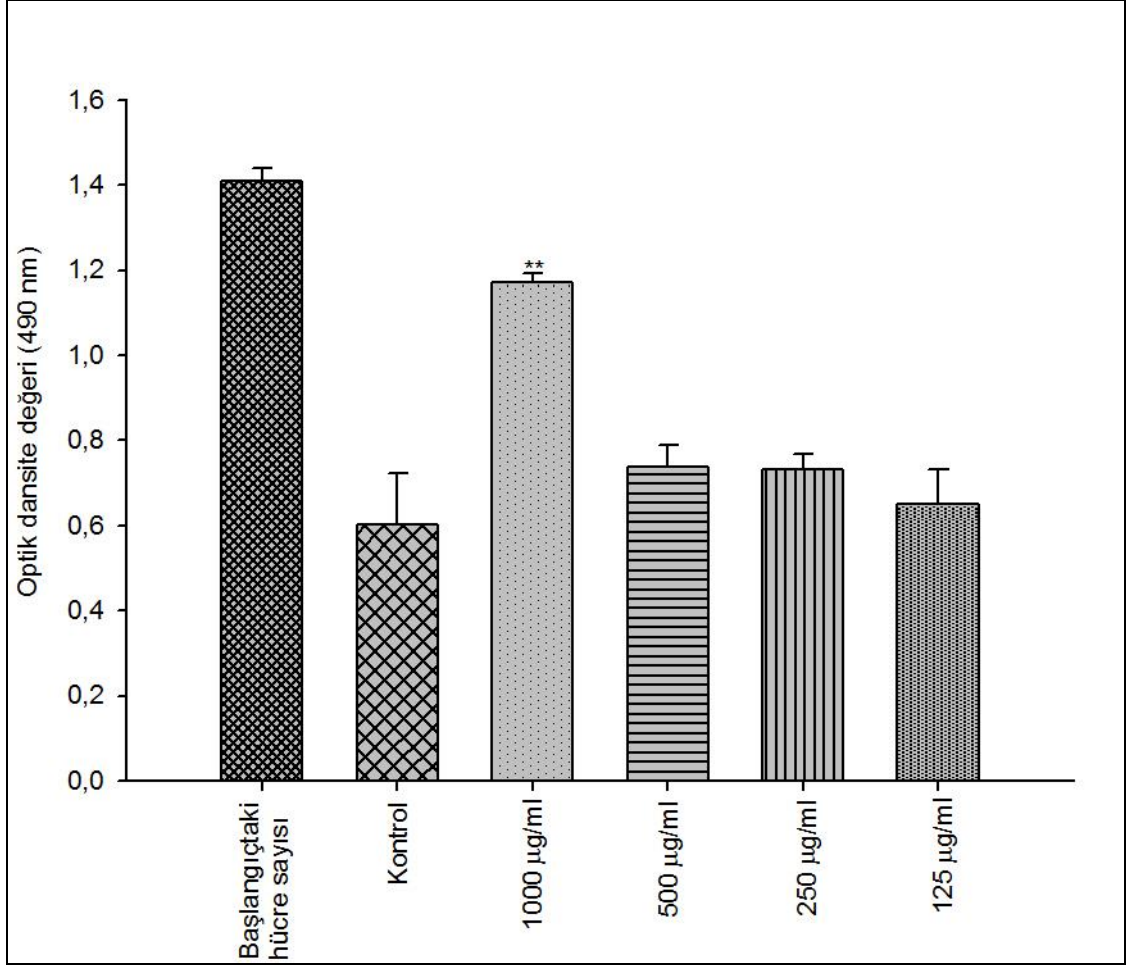
İstatistiksel olarak karşılaştırma sonucunda etanol ile hazırlanan meyve dozlarının 293 T hücrelerinin 24, 48 ve 72 saat inkübasyonu sonucu elde edilen veriler sırasıyla Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'de sunulmuştur.



Şekil 4.12. Etanol ile hazırlanan meyve ekstrakt dozlarının 24 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$)



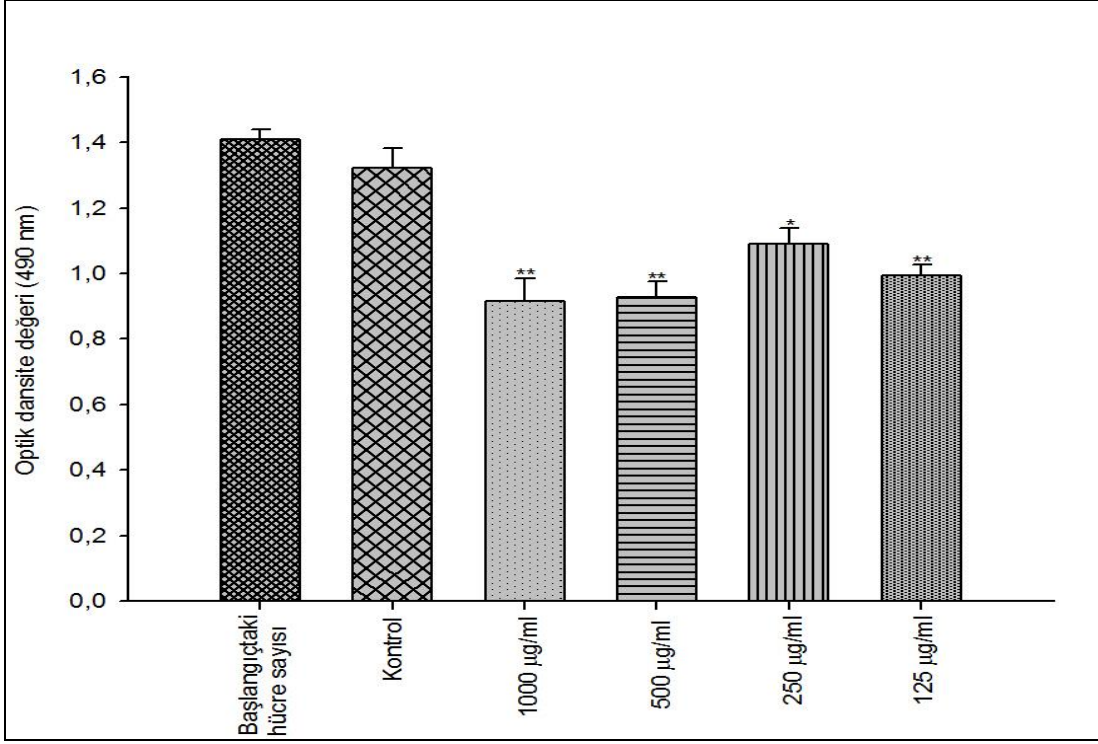
Şekil 4.13. Etanol ile hazırlanan meyve ekstrakt dozlarının 48 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$)



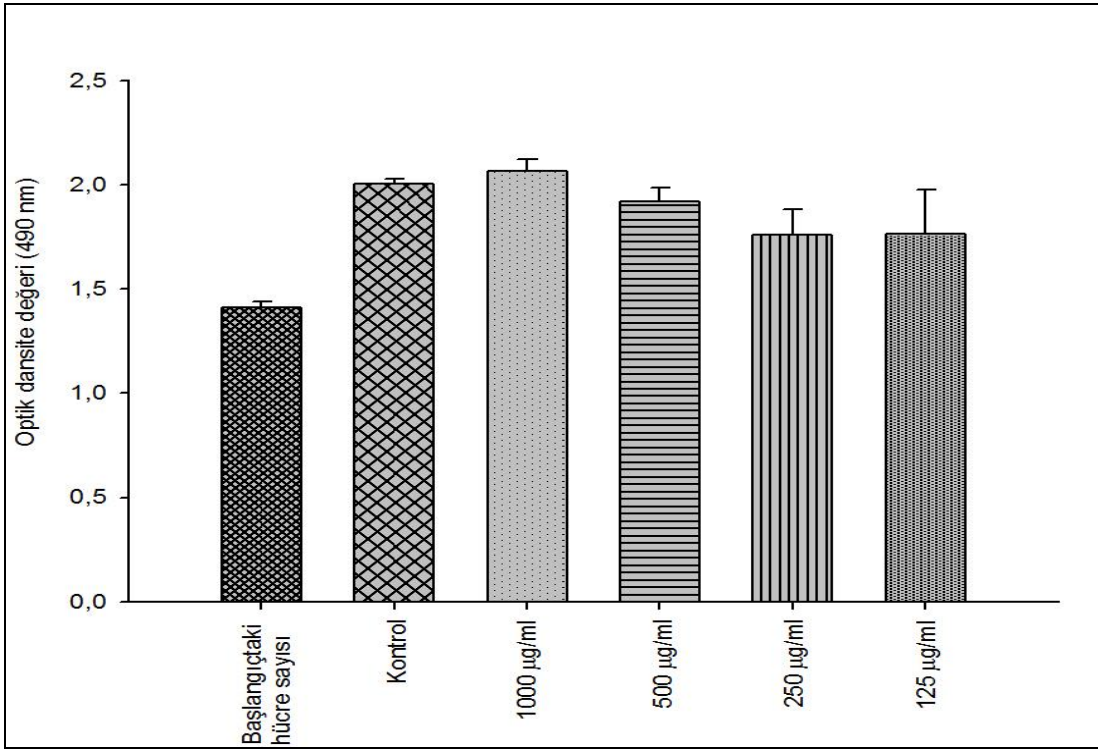
Şekil 4.14. Etanol ile hazırlanan meyve ekstrakt dozlarının 72 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: $p < 0,01$)

Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'den anlaşılacağı üzere, bitki ekstraktı etanol içinde çözülerek uygulandığında 293 T hücre hattı üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki göstermiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda dozların 1000, 250 ve 125 µg/ml'de doğrudan sitotoksik etki görülürken 48 saat sonucunda bu etki 1000, 500 ve 250 µg/ml'lik konsantrasyonlarda görülmüştür. 72 saat sonucunda ise bu etki sadece 1000 µg/ml konsantrasyonunda gözlemlenmiştir.

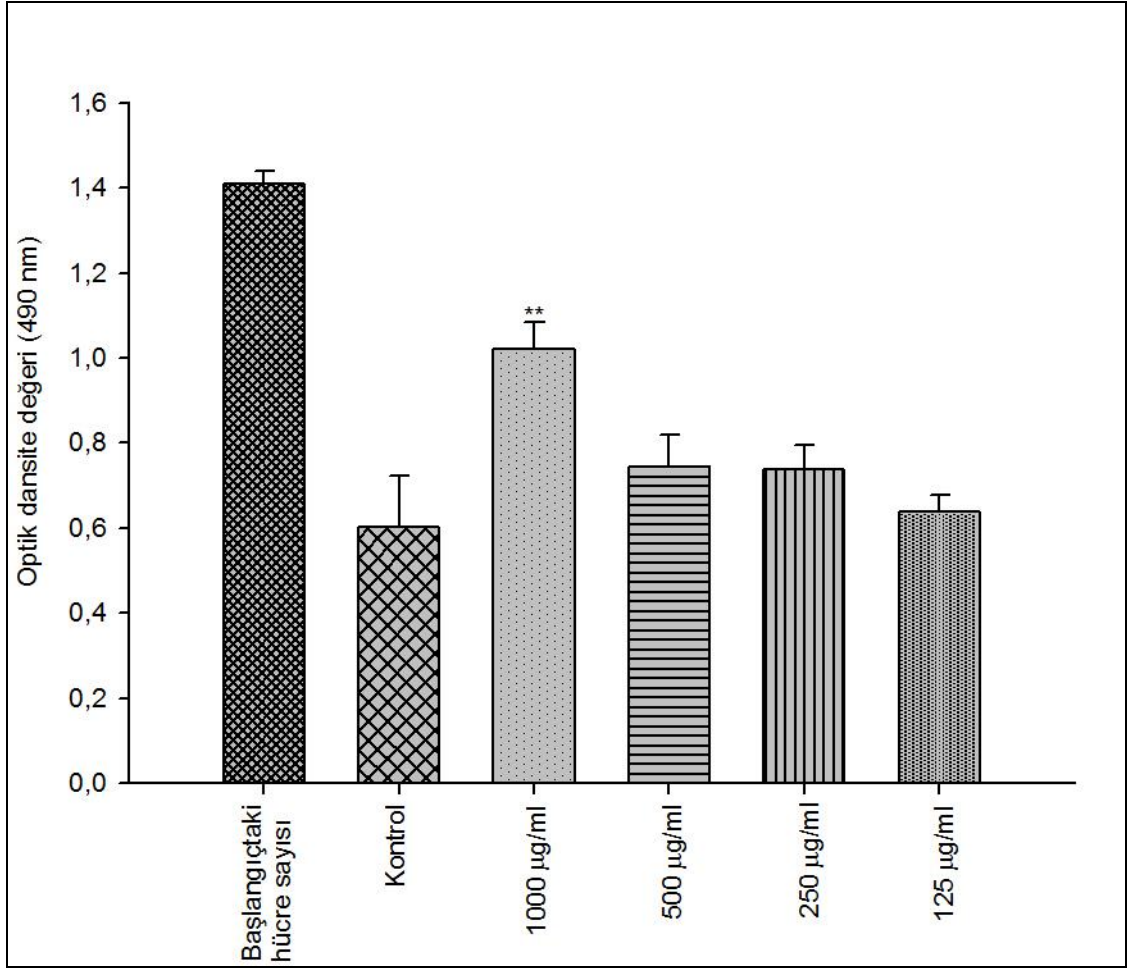
İstatistiksel olarak karşılaştırma sonucunda etanol ile hazırlanan tüm bitki dozlarının 293 T hücrelerinin 24, 48 ve 72 saat inkübasyonu sonucu elde edilen veriler sırasıyla Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17'de sunulmuştur.



Şekil 4.15. Etanol ile hazırlanan tüm bitki ekstrakt dozlarının 24 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$)



Şekil 4.16. Etanol ile hazırlanan tüm bitki ekstrakt dozlarının 48 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi



Şekil 4.17. Etanol ile hazırlanan tüm bitki ekstrakt dozlarının 72 saat sonunda 293 T hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: $p < 0,01$)

Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17'den anlaşılacağı üzere, bitki ekstraktı etanol içinde çözülerek uygulandığında 293 T hücre hattı üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki göstermiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda dozların 1000, 500, 250 ve 125 µg/ml'de doğrudan sitotoksik etki görülürken 72 saat sonucunda bu etki sadece 1000 µg/ml'lik konsantrasyonlarda görülmüştür. 48 saat sonucunda ise uygulanan ekstrakt dozlarının herhangi birinde etki gözlenmemiştir.

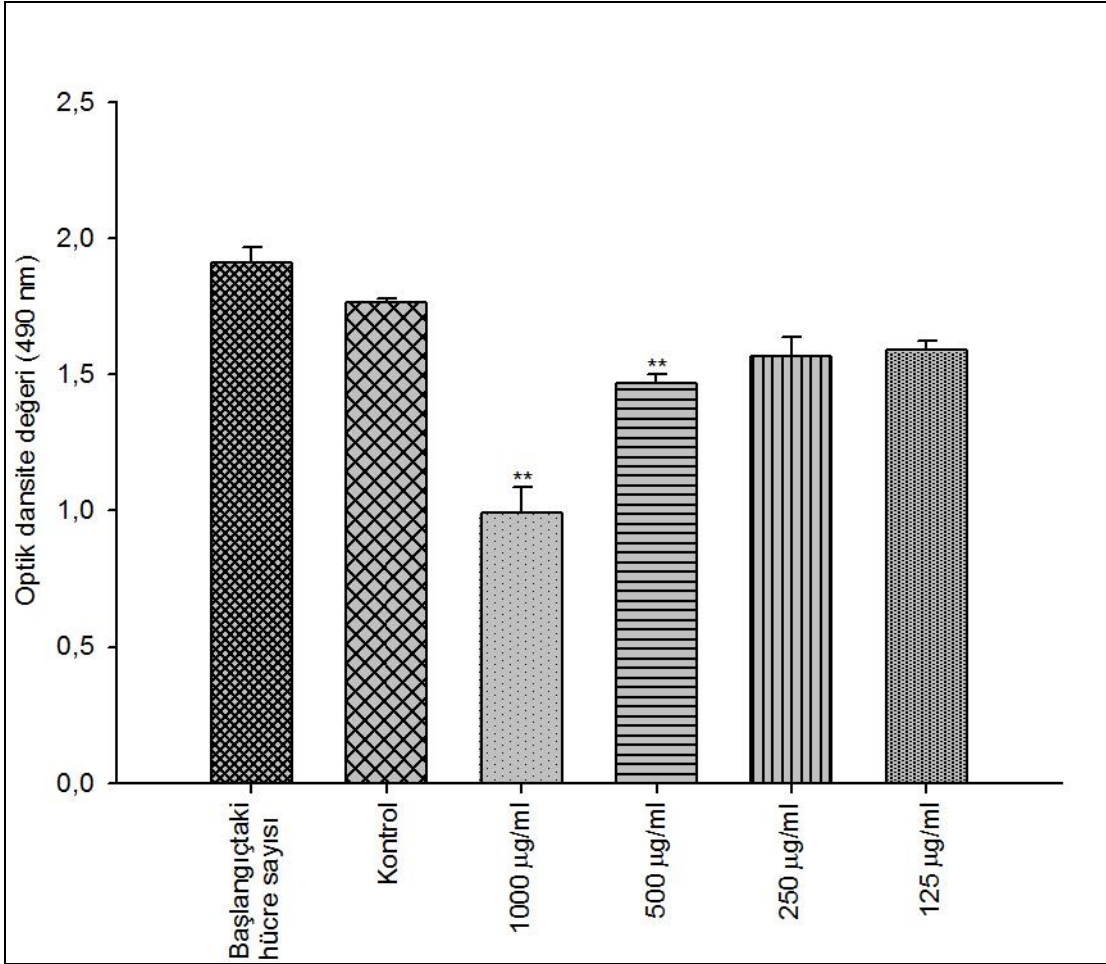
4.2.1.2. HeLa hücre hattı

Ekstrakt uygulamaları yapılmadan önce WST-1 testi ile "0. Zaman" ölçümü yapılmıştır. Hücre aktivitesi belirlenen deney setlerinde doz uygulaması gerçekleştirilmiştir.

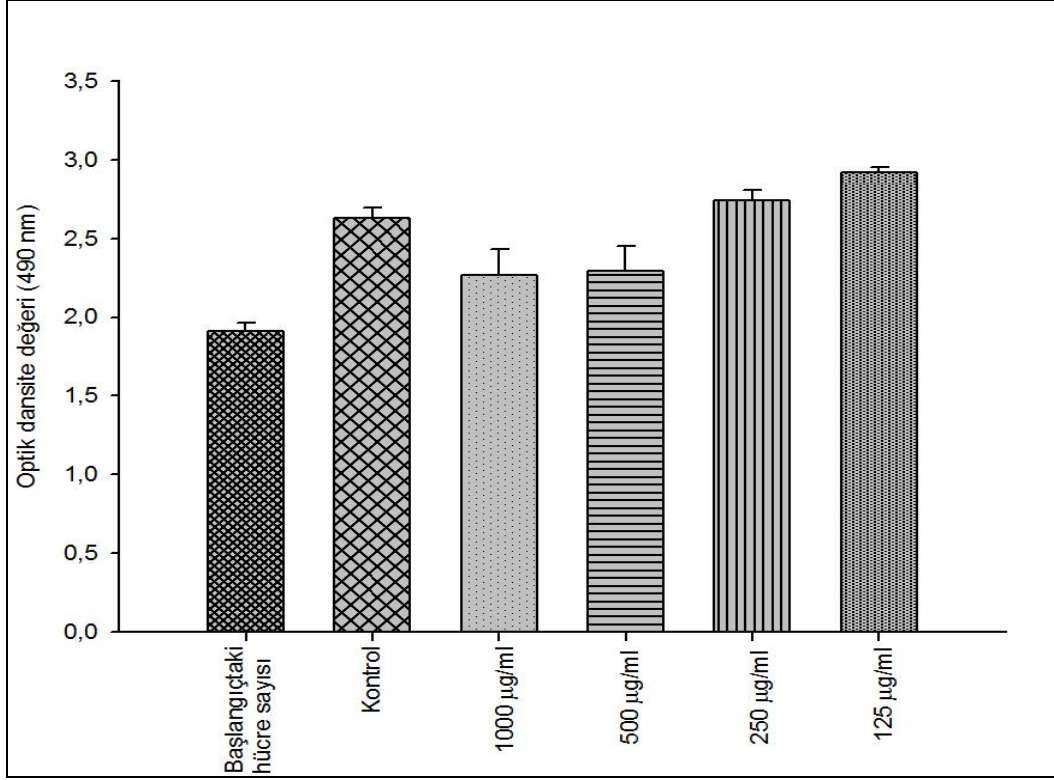
Bitki ekstraktı uygulamalarında etanol solüsyonu çözücü olarak kullanılmıştır. Etanol ile hazırlanan 1000, 500, 250 ve 125 µg/ml konsantrasyonlarındaki ekstraktların uygulaması yapılmıştır. Ekstraktın HeLa hücre hatları üzerindeki olası sitotoksik

etkilerin ortaya koyulması amacıyla inkübasyon süreleri sonunda WST-1 testi uygulanmıştır.

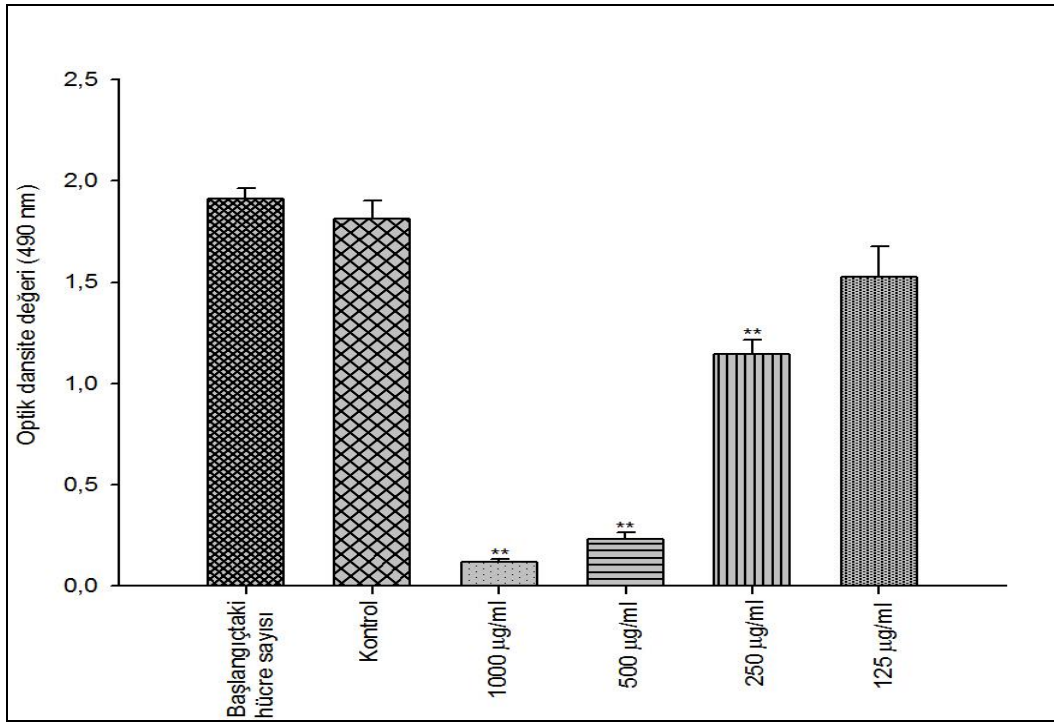
İstatistiksel olarak karşılaştırma sonucunda etanol ile hazırlanan yaprak dozlarının HeLa hücrelerinin 24, 48 ve 72 saat inkübasyonu sonucu elde edilen veriler sırasıyla Şekil 4.18, Şekil 4.19 ve Şekil 4.20’de sunulmuştur.



Şekil 4.18. Etanol ile hazırlanan yaprak ekstrakt dozlarının 24 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: $p < 0,01$)



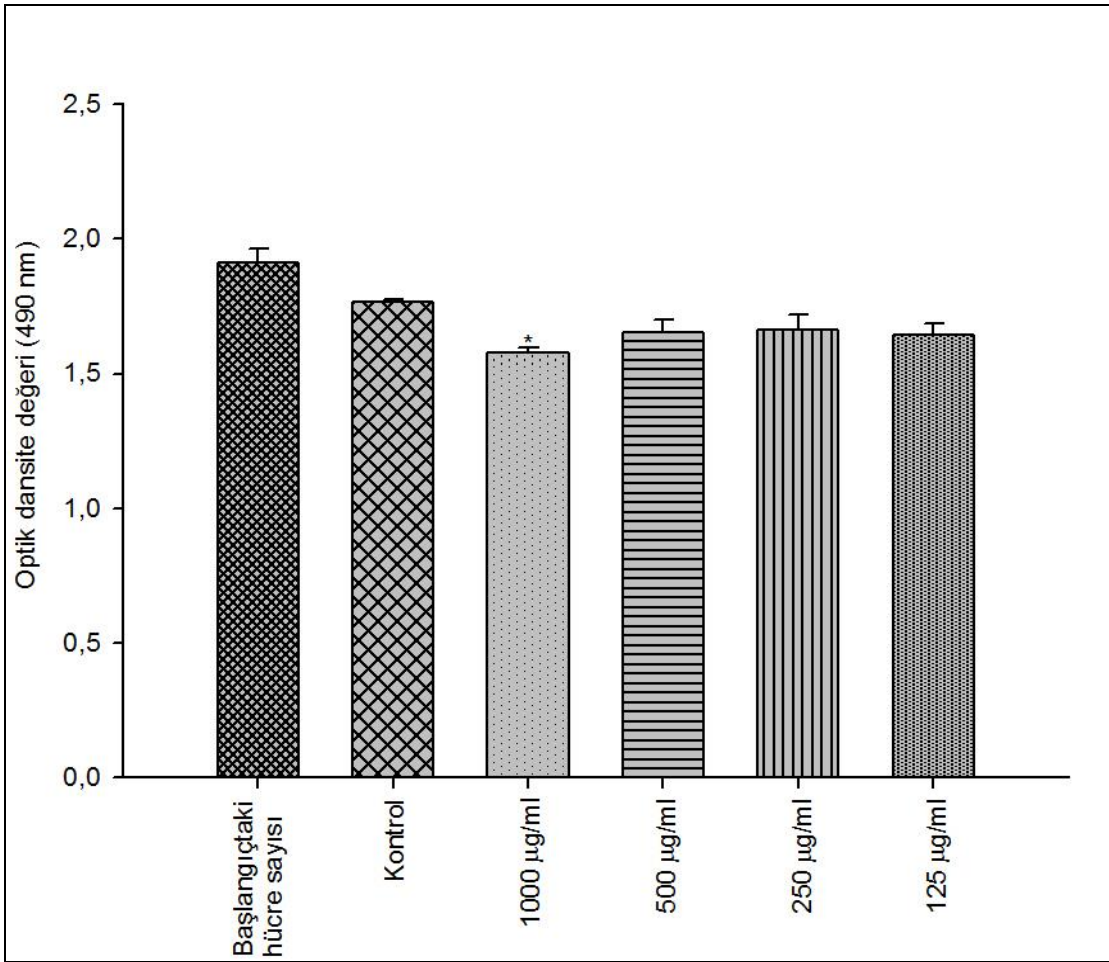
Şekil 4.19. Etanol ile hazırlanan yaprak ekstrakt dozlarının 48 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi



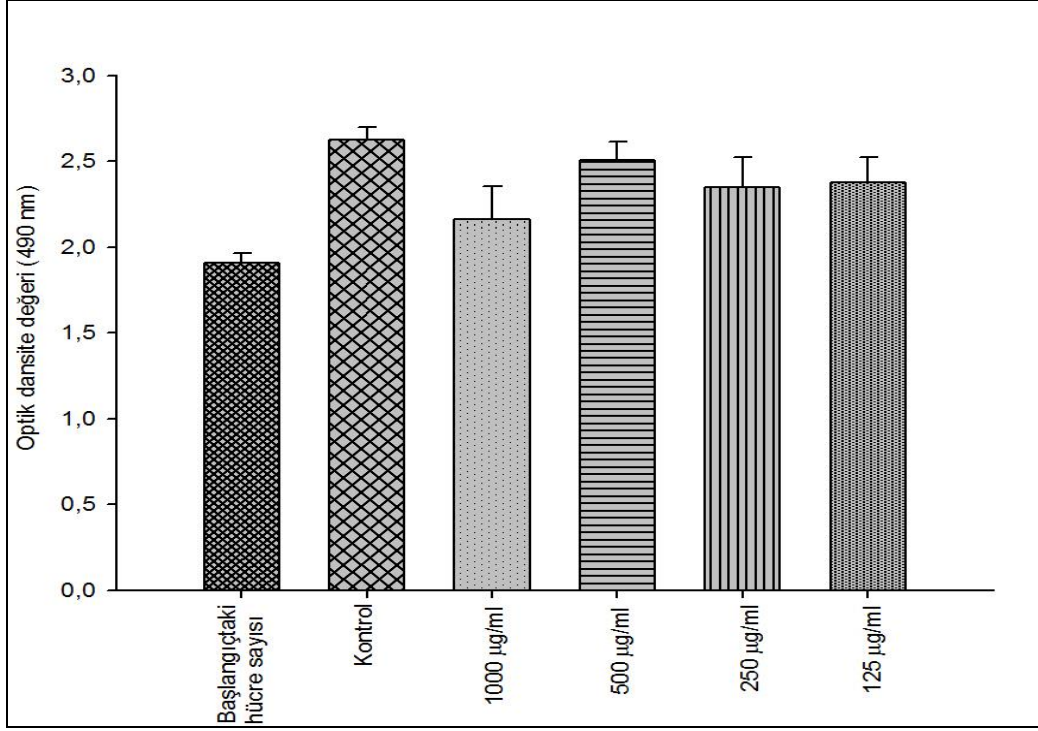
Şekil 4.20. Etanol ile hazırlanan yaprak ekstrakt dozlarının 72 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: $p < 0,01$)

Şekil 4.18, Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'den anlaşılacağı üzere, bitki ekstraktı etanol içinde çözülerek uygulandığında HeLa hücre hattı üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki göstermiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda dozların 1000 ve 500 µg/ml'de doğrudan sitotoksik etki görülürken 72 saat sonucunda bu etki 1000, 500 ve 250 µg/ml'lik konsantrasyonlarda görülmüştür. 48 saat sonucunda ise uygulanan ekstrakt dozlarının herhangi birinde etki gözlenmemiştir.

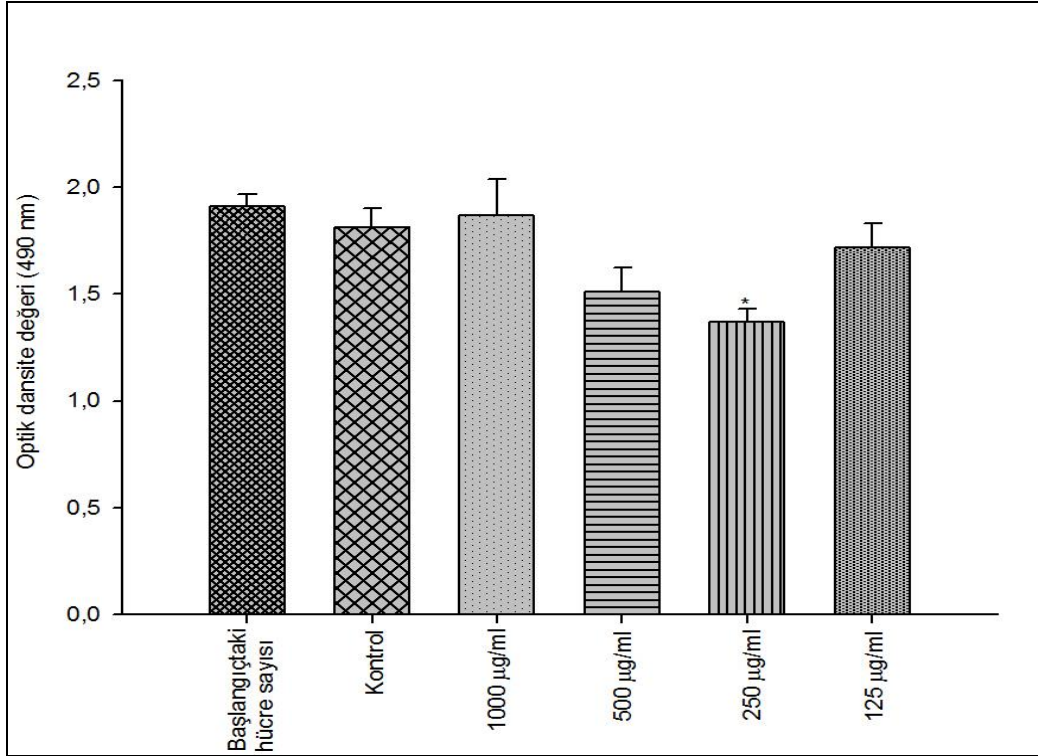
İstatistiksel olarak karşılaştırma sonucunda etanol ile hazırlanan çiçek dozlarının HeLa hücrelerini 24, 48 ve 72 saat inkübasyonu sonucu elde edilen veriler sırasıyla Şekil 4.21, Şekil 4.22 ve Şekil 4.23'de sunulmuştur.



Şekil 4.21. Etanol ile hazırlanan çiçek ekstrakt dozlarının 24 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (*: p<0,05)



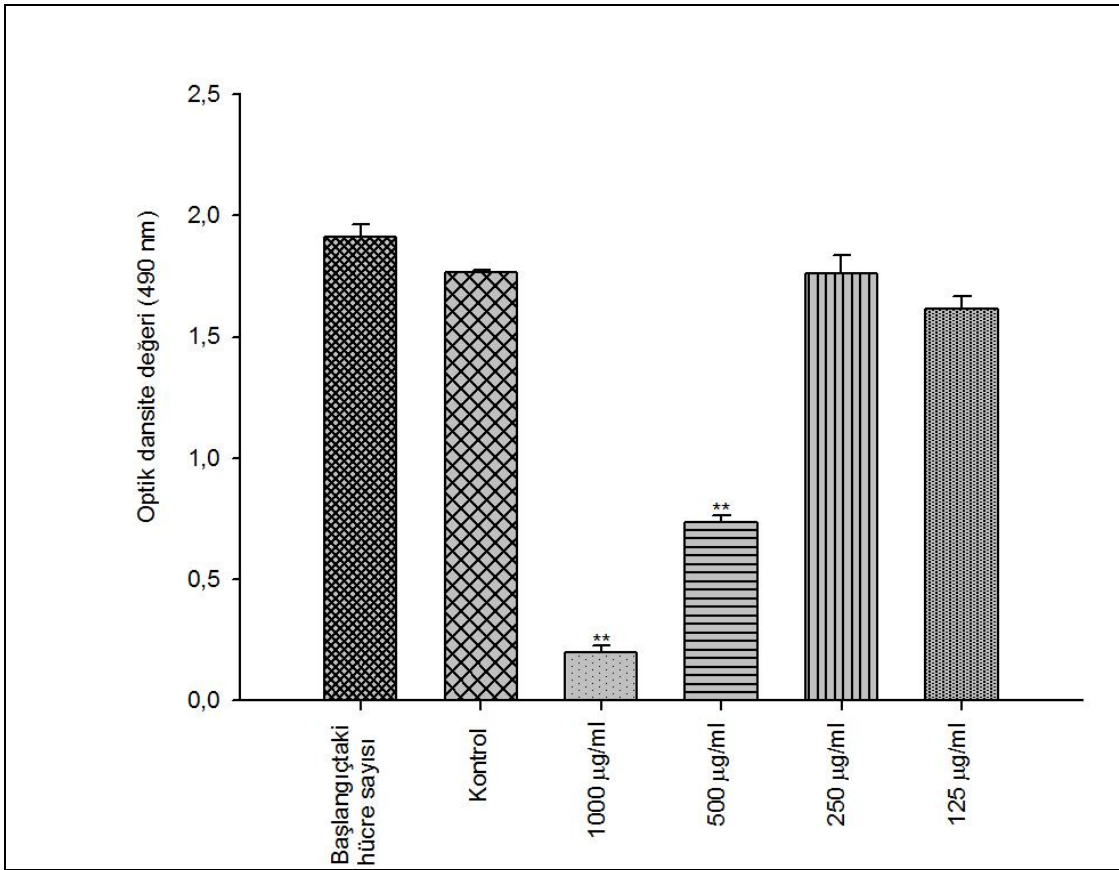
Şekil 4.22. Etanol ile hazırlanan çiçek ekstrakt dozlarının 48 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi



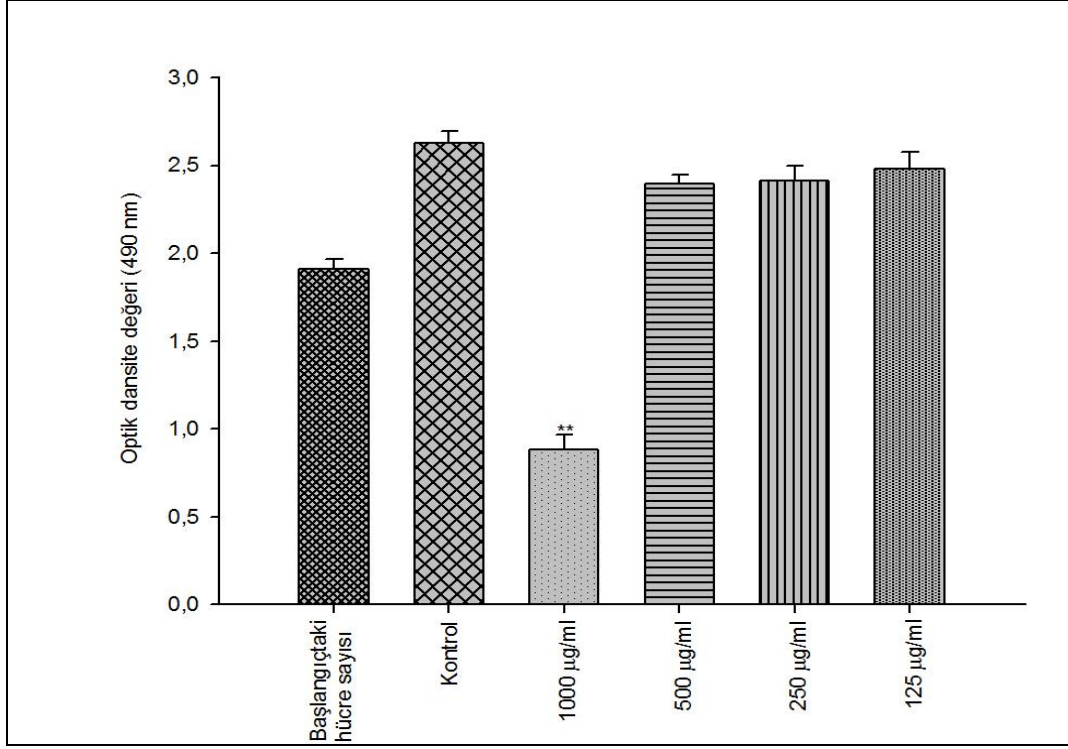
Şekil 4.23. Etanol ile hazırlanan çiçek ekstrakt dozlarının 72 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (*: $p < 0,05$)

Şekil 4.21, Şekil 4.22 ve Şekil 4.23'den anlaşılacağı üzere, bitki ekstraktı etanol içinde çözülerek uygulandığında HeLa hücre hattı üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki göstermiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda dozun 1000 µg/ml'de doğrudan sitotoksik etki görülürken 72 saat sonucunda bu etki sadece 250 µg/ml'lik konsantrasyonlarda görülmüştür. 48 saat sonucunda ise uygulanan ekstrakt dozlarının herhangi birinde etki gözlenmemiştir.

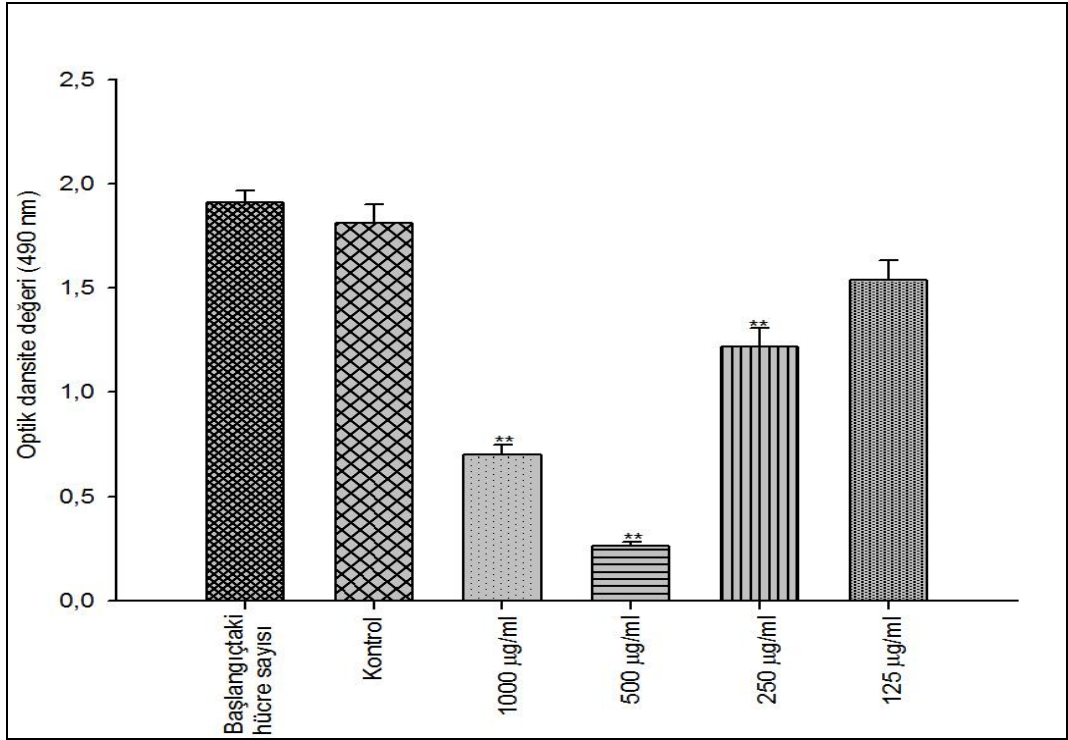
İstatistiksel olarak karşılaştırma sonucunda etanol ile hazırlanan gövde dozlarının HeLa hücrelerinin 24, 48 ve 72 saat inkübasyonu sonucu elde edilen veriler sırasıyla Şekil 4.24, Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'da sunulmuştur.



Şekil 4.24. Etanol ile hazırlanan gövde ekstrakt dozlarının 24 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: p<0,01)



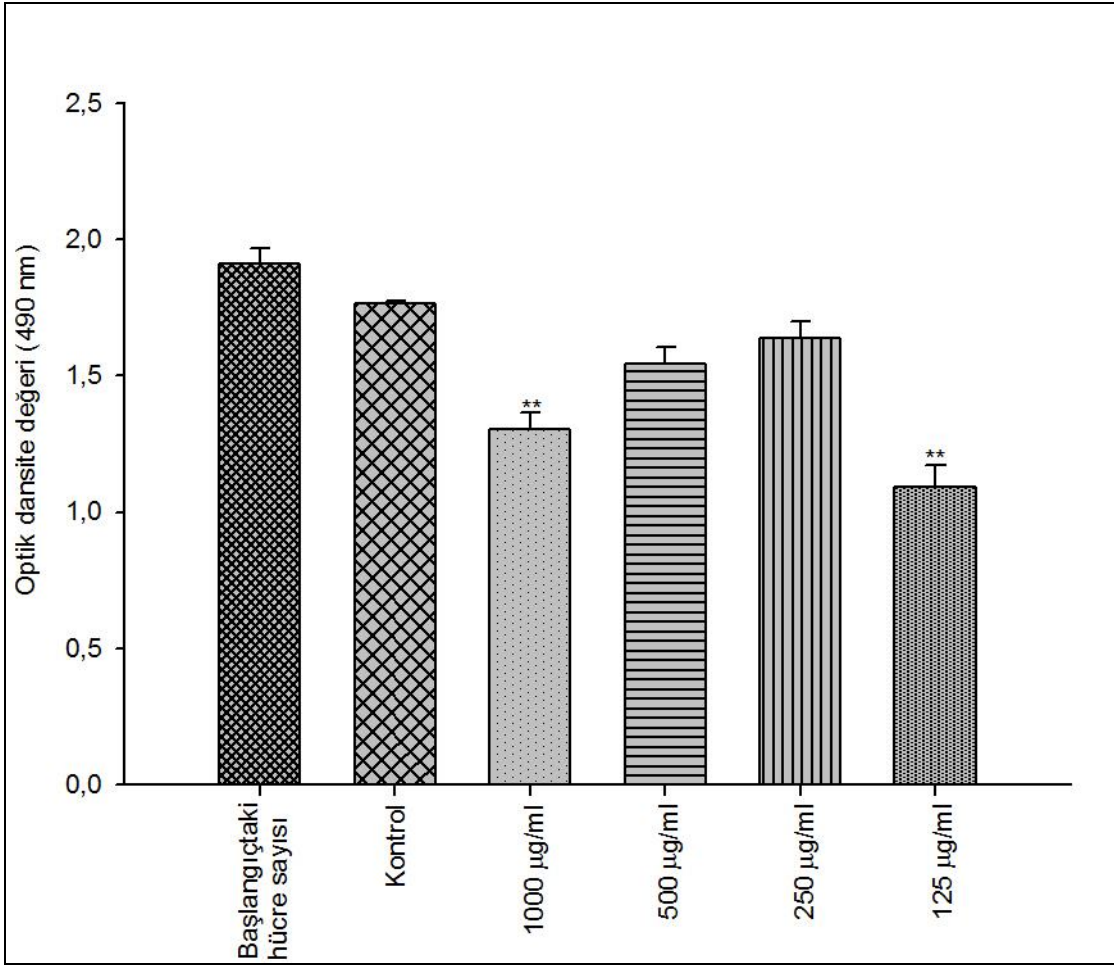
Şekil 4.25. Etanol ile hazırlanan gövde ekstrakt dozlarının 48 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: $p < 0,01$)



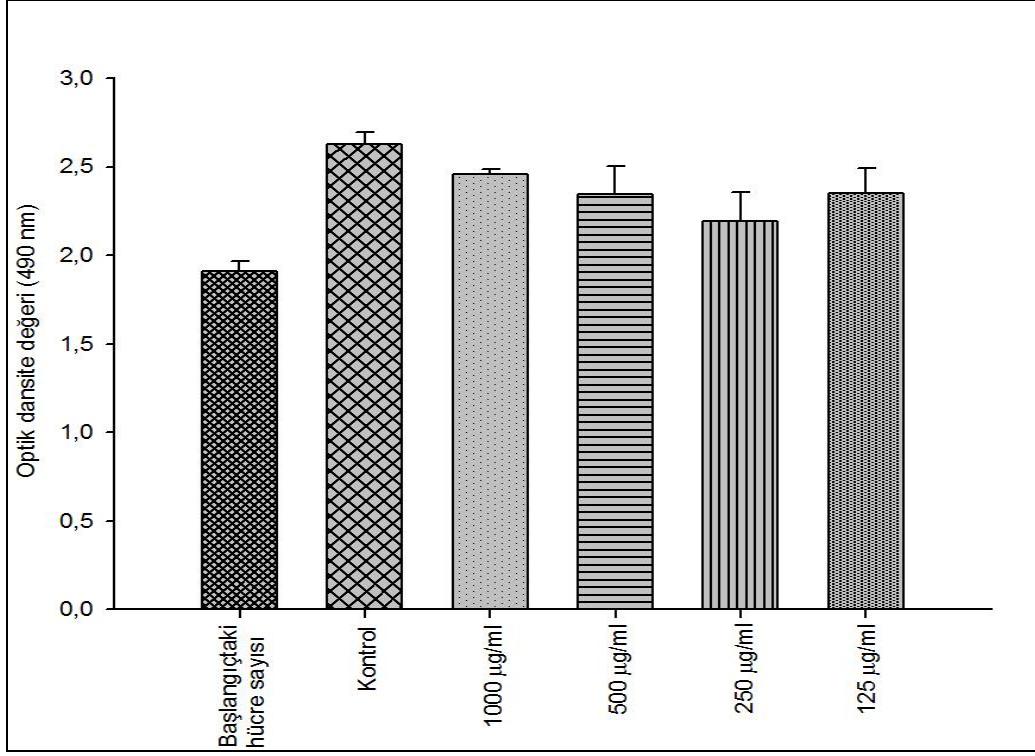
Şekil 4.26. Etanol ile hazırlanan gövde ekstrakt dozlarının 72 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: $p < 0,01$)

Şekil 4.24, Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'dan anlaşılacağı üzere, bitki ekstraktı etanol içinde çözülerek uygulandığında HeLa hücre hattı üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki göstermiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda dozların 1000 ve 500 µg/ml'de doğrudan sitotoksik etki görülürken 48 saat sonucunda bu etki sadece 1000 µg/ml'lik konsantrasyonlarda görülmüştür. 72 saat sonucunda ise uygulanan ekstrakt dozlarının 1000, 500 ve 250 µg/ml'de etki gözlenmiştir.

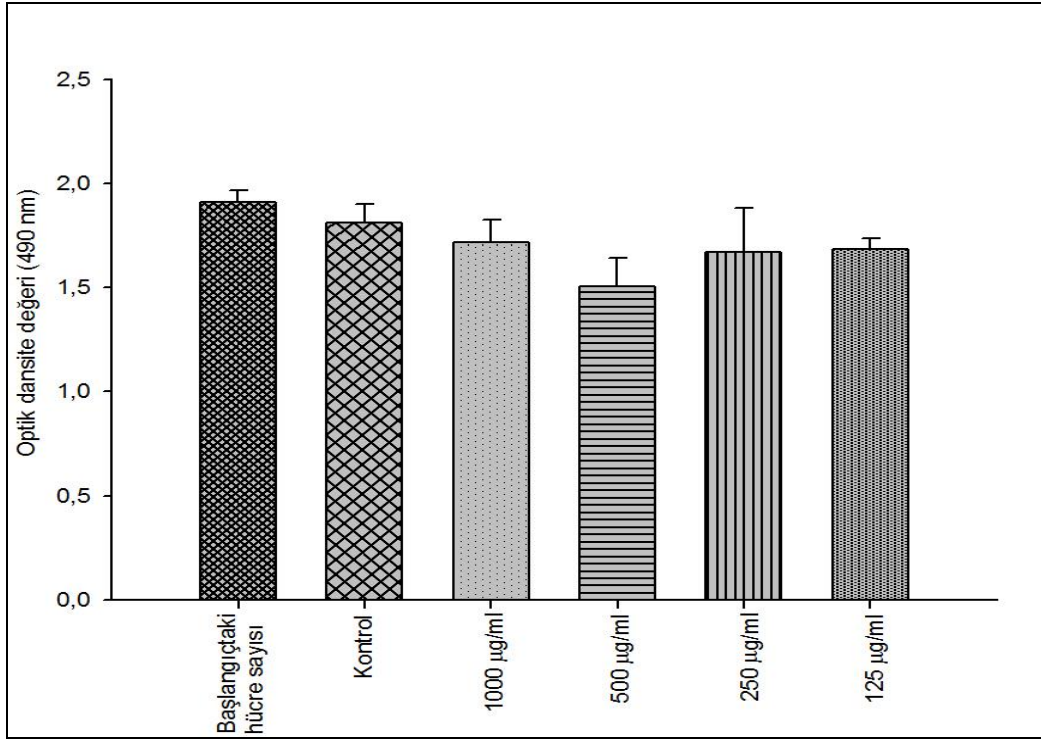
İstatistiksel olarak karşılaştırma sonucunda etanol ile hazırlanan meyve dozlarının HeLa hücrelerinin 24, 48 ve 72 saat inkübasyonu sonucu elde edilen veriler sırasıyla Şekil 4.27, Şekil 4.28 ve Şekil 4.29'da sunulmuştur.



Şekil 4.27. Etanol ile hazırlanan meyve ekstrakt dozlarının 24 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: p<0,01)



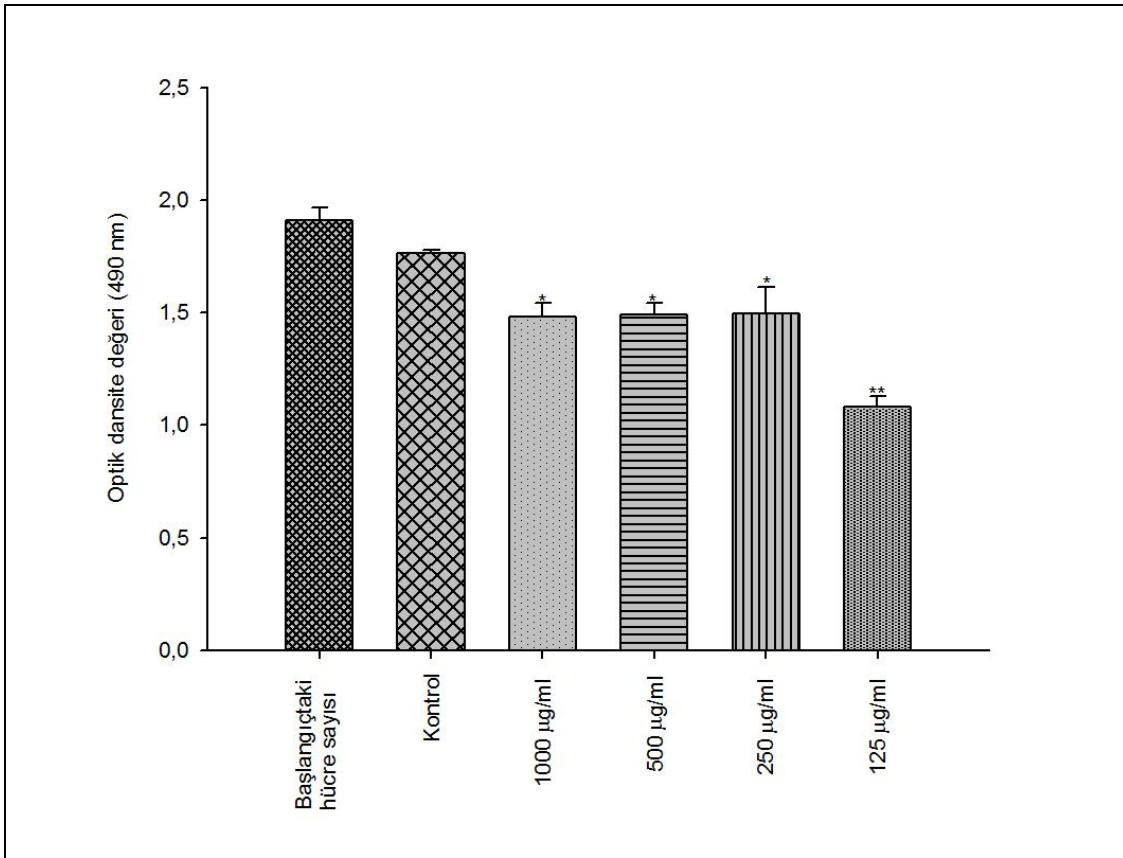
Şekil 4.28. Etanol ile hazırlanan meyve ekstrakt dozlarının 48 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi



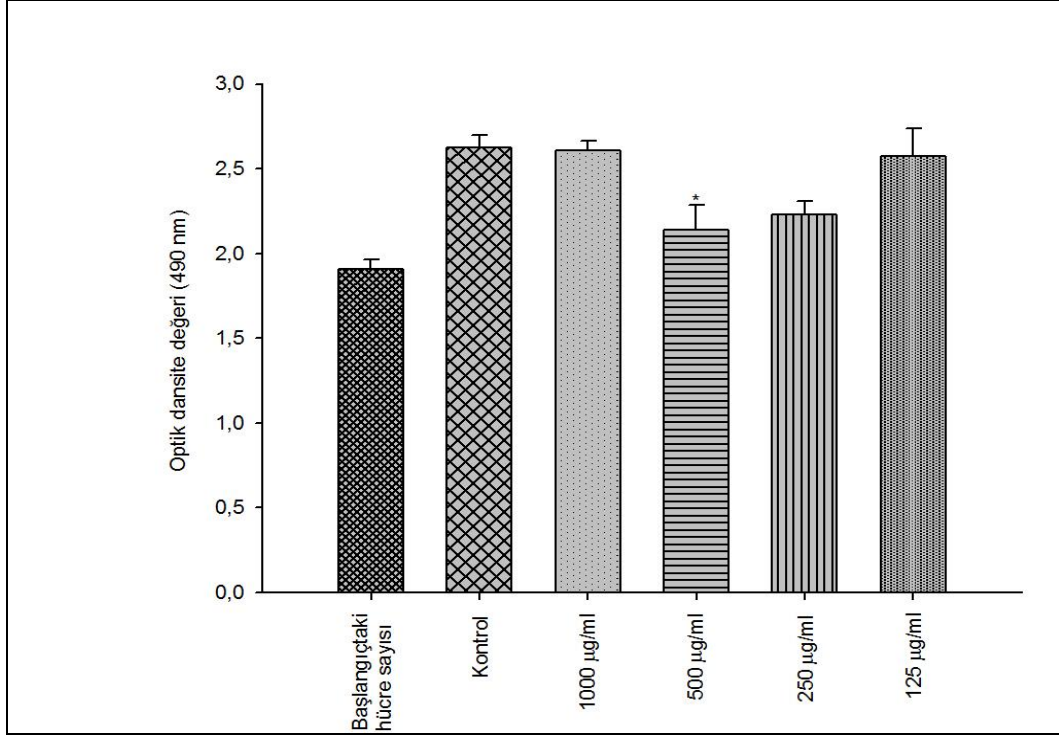
Şekil 4.29. Etanol ile hazırlanan meyve ekstrakt dozlarının 72 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi

Şekil 4.27, Şekil 4.28 ve Şekil 4.29'dan anlaşılacağı üzere, bitki ekstraktı etanol içinde çözülerek uygulandığında HeLa hücre hattı üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki göstermiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda dozların 1000 ve 125 µg/ml'de doğrudan sitotoksik etki görülürken 48 ve 72 saat sonucunda uygulanan ekstrakt konsantrasyonlarında herhangi bir etki görülmemiştir.

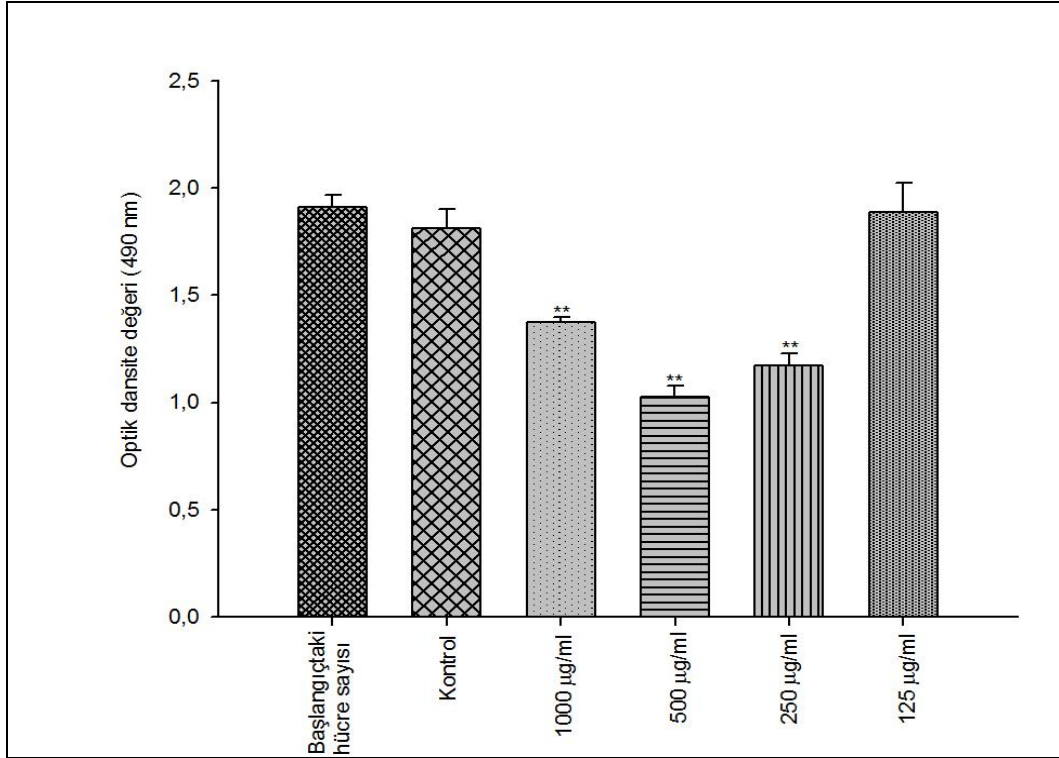
İstatistiksel olarak karşılaştırma sonucunda etanol ile hazırlanan tüm bitki dozlarının HeLa hücrelerinin 24, 48 ve 72 saat inkübasyonu sonucu elde edilen veriler sırasıyla Şekil 4.30, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32'de sunulmuştur.



Şekil 4.30. Etanol ile hazırlanan tüm bitki ekstrakt dozlarının 24 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$)



Şekil 4.31. Etanol ile hazırlanan tüm bitki ekstrakt dozlarının 48 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (*: $p < 0,05$)



Şekil 4.32. Etanol ile hazırlanan tüm bitki ekstrakt dozlarının 72 saat sonunda HeLa hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi (**: $p < 0,01$)

Şekil 4.30, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32'den anlaşılacağı üzere, bitki ekstraktı etanol içinde çözülerek uygulandığında HeLa hücre hattı üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki göstermiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda dozların 1000, 500, 250 ve 125 µg/ml'de doğrudan sitotoksik etki görülürken 48 saat sonucunda 500 µg/ml'de etki görülmüştür. 72 saat sonucunda ise uygulanan ekstrakt konsantrasyonlarının 1000, 500 ve 250 µg/ml'de etki gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA

5.1. Çalışmada Kullanılan *Alcea heldreichii* Etanol Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri

Bu çalışmada Malvaceae familyasına ait *A. heldreichii* bitkisinin yaprak, meyve, gövde, çiçek ve tüm bitki etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri çalışılmıştır. Malvaceae familyasına ait bitkilerden bazılarının geçmişten günümüze kadar halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanıldıkları bilinmektedir (Akdoğan ve Akgün 2006, Savran vd 2009, Tuzlacı ve Doğan 2010).

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan *A. heldreichii* bitkisinin yaprak, meyve, gövde, çiçek kısımlarından ve tüm bitkiden elde edilen üç farklı konsantrasyondaki etanol ekstraktlarının, uygulanan disk difüzyon ve MIC testlerinin sonuçlarına göre, çalışılan bakteri türlerine karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği gözlemlenmiştir. Bakterilerin % 99,9'unu inhibe edebilen en düşük konsantrasyon "MBC" değeri olarak tanımlanmaktadır. MBC'nin temel özelliği MIC belirlendikten sonra bakteriyel büyümenin olmadığı kuyucuklardan antibiyotiksiz besi yerine pasaj yapılarak % 99,9 üremeyi sonlandıran en düşük konsantrasyonu belirlemektir. Ancak bizim çalışmamızda uygulanan yaprak, meyve, gövde, çiçek ve tüm bitki etanol ekstraktlarımızın disk difüzyon yöntemi ve MIC testi sonuçlarına göre bakteriyel büyümeyi inhibe etmediği gözlemlendiği için bir sonraki basamak olan MBC testinin yapılmasına gereklilik duyulmamıştır.

Bu zamana kadar yapılan araştırmalarda *Alcea* cinsine ait türlerin antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi üzerine çok fazla çalışma bulunmamasına rağmen, Malvaceae familyasına ait farklı cinslere ait bitki türlerinden elde edilen ekstraktların ve uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Ekramul Islam vd 2003, Poonkothai 2006, Mahesh ve Satish 2008, Saravanakumar vd 2009, Essien vd 2011).

Literatür taraması sırasında *A. heldreichii* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi üzerine daha önce yapılmış herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Ancak literatür taraması sırasında *Alcea* türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine yapılmış birkaç çalışmaya rastlanılmıştır. Bu çalışmalarda, test edilen mikroorganizma türlerinde, pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiklerde, bitki ekstraktlarında, çözücülerde ve uygulanan metodlarda farklılıklar olmasına rağmen, çalışılan mikroorganizmalara karşı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları ve olmadıkları tespit edilen sonuçlar bulunmaktadır.

Mert vd (2010), *A. rosea*'nın çiçeklerinden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerinin incelendiği çalışmada bitkinin etanol, metanol, etil asetat, n-hekzan ve su ekstraktlarının mikroorganizmalara karşı aktiviteleri araştırılmıştır. 10 bakteriye karşı test edilen bitki ekstraktlarının arasında anlamlı bir aktivite farkı bulunamamıştır. *Escherichia coli* 25922 ve *Enterobacter cloacae* 13047 suşları hariç çalışılan diğer Gram (-) bakteriler uygulanan ekstraktlara duyarlılık göstermiştir. *Enterococcus faecalis* 29212 suşu hariç test edilen diğer Gram (+) bakteriler ise tüm ekstraktlar tarafından inhibe edilmiştir. Bu bakterilere karşı pozitif

kontrol amacı ile seftazidim (30 µg) antibiyotiği kullanılmıştır. Çalışılan ekstraktların herbirinin test edilen mikroorganizmalara karşı antibiyotik kadar aktivite göstermediği bulunmuştur. Bizim de çalışmamızda test ettiğimiz mikroorganizmalardan olan *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212 suşlarına karşı *A. rosea* çiçeklerinden elde edilen etanol ekstraktı etkisiz olmasına rağmen, *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı ise antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise bu bakterilere karşı test edilen yaprak, meyve, gövde, çiçek ve tüm bitki etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite göstermedikleri gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamız ile Mert vd (2010) çalışması karşılaştırıldığında, *P. aeruginosa* suşu hariç diğer ortak olan bakterilerde sonuçların benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Benli vd (2007), Türkiye'deki bazı endemik bitki türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin incelendiği çalışmada, 4 tane bitki türünün farklı kısımlarından elde edilen 6 ekstrakt 10 bakteri ve 4 maya suşu üzerinde test edilmiştir. Bu çalışmada *Alcea apterocarpa* bitkisinin yaprak ve tohum-sepal metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. *A. apterocarpa* yaprak metanol ekstraktında hiçbir antimikrobiyal aktivite gözlenememesine rağmen, tohum ve sepallerden elde edilen metanol ekstraktının sadece *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur. Bu bakteri test edilen 9 antibiyotığın 7'sine karşı direnç göstermesine rağmen, tohum ve sepallerden elde edilen ekstrakta duyarlı olduğu tespit edilmiştir. *A. apterocarpa* bitkisinin tohum ve sepal metanol ekstraktının *P. aeruginosa* bakterisine karşı kullanılan antibiyotiklerden daha fazla inhibitör etkisi gösterdiği gözlemlenmiştir. Kullanılan standart antibiyotiklerin en fazla inhibisyon zonu 17 bulunurken, bu bitki ekstraktının inhibisyon zonu ise 36 olarak saptanmıştır. *A. apterocarpa* tohum ve sepal ekstraktının *P. aeruginosa* bakterisine karşı MIC ve MBC testleri de uygulanmış ve sonuçlarına göre, bakterisidal etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Bizim çalışmamız ile bu araştırmada kullanılan *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakteri suşları aynıdır. Fakat pozitif kontrol olarak bu bakterilere karşı kullanılan antibiyotiklere bakıldığında sadece *S. aureus* bakterisine karşı kullanılan penisilin antibiyotığının ortak olduğu görülmektedir. Benli vd (2007) araştırması ile bizim çalışmamızın sonuçları karşılaştırıldığında, *A. apterocarpa* bitkisinin yaprak metanol ekstraktının test edilen herhangi bir bakteriye karşı etkisinin görülmemesi ve tohum-sepal metanol ekstraktının ise *P. aeruginosa* suşu hariç diğer mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermemesi sonuçların benzer olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, kontrol olarak kullanılan penisilin antibiyotiği (ki bu antibiyotik tarafımızdan yapılan çalışmada da kullanılmıştır) uygulanan *S. aureus* ATCC 29213 suşu üzerindeki 19 mm inhibisyon zonu değeri bakımından çalışmamızda aynı grup için bulunan 23 değeri için Ki Kare Test Sonucu= 2.353 ($p>0.05$ ($p=0.125$) $df=1$) olarak bulunmuştur. Buna göre; kullanılan antibiyotiklerin etkinlikleri bakımından denemeler arasında fark yoktur.

Seyyednejad vd (2010), antibakteriyel ajanlar olarak *Hibiscus rosa-sinensis* L., *A. rosea* ve *Malva neglecta* Wallr. bitkilerinin araştırılması üzerine yaptıkları çalışmada *A. rosea* bitkisinin çiçek ve yapraklarından elde edilen etanol ekstraktlarının dört farklı konsantrasyonu 10 bakteri türüne karşı incelenmiştir. Bu araştırmada test edilen Gram (+) ve Gram (-) bakterilere uygulanan ekstraktların farklı dozlarında değişik sonuçlar elde edilmiştir. Test edilen bakteri türleri arasında, uygulanan *A. rosea* çiçek ve yaprak

etanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarına en dirençli suşun *E. coli* olduğu bulunmuştur. Ekstraktların etkili olduğu gözlenen bakteri türlerindeki antimikrobiyal aktivitenin varlığı ekstraktların konsantrasyonlarının artması ile paralel olduğu tespit edilmiştir.

Esmaelian vd (2007), yapılan araştırmada *Alcea longipedicellata* Riedl çiçeklerinden elde edilen etanol ve kloroform ekstraktları disk difüzyon ve MIC testleri ile 4 bakteri suşuna karşı test edilmiştir. Uygulanan iki ekstraktında çalışılan bakteriler üzerine etkili olduğu bulunmuştur. Etanol ekstraktı kloroform ekstraktı ile karşılaştırıldığı zaman etanol ekstraktının bakterilerin büyümesini daha fazla inhibe ettiği görülmektedir.

5.2. Çalışmada Kullanılan *Alcea heldreichii* Etanol Ekstraktlarının Sitotoksik Aktiviteleri

Tez çalışmamız kapsamında kullanılan *A. heldreichii* bitkisinin yaprak, meyve, gövde, çiçek kısımlarından ve tüm bitkiden elde edilen dört farklı konsantrasyondaki etanol ekstraktlarının, uygulanan WST-1 hücre canlılığı testi sonuçlarına göre, kontrol grubu olarak kullanılan 293 T hücre hattında tüm dozlarda ve tüm inkübasyon sürelerinde sitotoksik etkiler gösterdiği gözlemlenmiştir. Özellikle bitkinin gövde ve yaprak kısımları bu hücreler üzerinde oldukça sitotoksik etkiler sergilemiştir. Literatür taraması sırasında *A. heldreichii* bitkisinin 293 T hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini gösteren bir çalışma bulunamamıştır.

Bitki ekstraktları HeLa hücreleri üzerinde doz ve zamana bağlı olarak sitotoksik etkiler göstermiştir. Ancak sitotoksik etkinin bulunduğu dozlar çok yüksek konsantrasyonda bitki özütü içermektedir. FDA'nın bitki özütleri için *in vitro* koşullarda önerdiği doz 50 µg/ml iken bu bitkinin en sitotoksik dozları 1000, 500 ve 250 µg/ml olarak bulunmuştur. Bu dozlar bitki ekstraktı için araştırma yapmaya devam edemeyecek kadar yüksektir. Bu nedenle tripan mavisi testi yapılmamıştır.

A. heldreichii bitkisinin kanser tedavisi için yeni bir kaynak oluşturması, normal hücrelerde yarattığı sitotoksik etkiler dikkate alındığında söz konusu değildir. Kanser tedavisinde hedeflenen normal hücrelere zarar vermeden sadece kanser hücrelerini yok etmeye yarayacak yeni yaklaşımlar geliştirmek olduğu için tez kapsamında seçilen bu bitkinin farklı farmakolojik özellikleri değerlendirilebilir ancak kanser tedavisi için umut vaad ettiği söylenemez.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara benzer şekilde, Kaileh vd (2007), aynı cinse ait *Alcea setosa* (Boiss.) Alef. bitkisinin yapraklarından elde ettikleri ekstraktlarının L929sA fare fibrosarcoma, insan meme karsinoma; MCF-7 (benign) ve MDA-MB231 (metastatik) hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitelerini incelemişler ve bitkinin bu hücrelerde sitotoksik etki yaratmadığını bildirmişlerdir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda Malvaceae (ebegümeçigiller) familyasına ait, *Alcea heldreichii* (Boiss.) Boiss. türünün bazı bitki kısımlarından (yaprak, çiçek, meyve, gövde) ve tüm bitkiden elde edilen etanol ekstraktlarının 13 bakteri türüne karşı Disk Difüzyon Yöntemi ve MIC testi ile antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir.

Tez çalışmamızda kullandığımız materyal ve ortam koşullarında (ekstrakt dozları, test edilen bakteri suşları ve bakterileri inkübe ettiğimiz sıcaklık), *A. heldreichii* bitkisinden elde edilen ekstraktların herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiştir.

Günümüzde antibiyotiklerin direnç geliştiren bakterilere karşı çoğu durumda yetersiz kaldığı ve yan etkilerinin fazla olduğu bilinmektedir. Bakterilere karşı yeni etken madde araştırmaları içinde bitkilerden elde edilen ekstraktların daha detaylı çalışılmasının gerekliliğini önerebiliriz. Antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu düşünülen bitki ekstraktlarının detaylı araştırmaları ile dirençli bakterilerin neden olduğu infeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılabilecek kadar önemli oldukları düşünülmektedir.

A. heldreichii bitkisinin yaprak, çiçek, gövde, meyve kısımlarından ve tüm bitkiden elde edilen etanol ekstraktlarının 293 T ve HeLa hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri WST-1 hücre canlılığı testi ile araştırılmıştır.

Dört farklı konsantrasyonda uygulanan etanol ekstraktlarının, WST-1 hücre canlılığı testi sonuçlarına göre, kontrol grubu olarak kullanılan 293 T hücre hattında tüm dozlarda ve tüm inkübasyon sürelerinde sitotoksik etkiler gösterdiği gözlemlenmiştir. Özellikle bitkinin gövde ve yaprak kısımları bu hücreler üzerinde oldukça sitotoksik etkiler sergilemiştir.

Bitki ekstraktları HeLa hücreleri üzerinde doz ve zamana bağlı olarak sitotoksik etkiler göstermiştir. Ancak sitotoksik etkinin bulunduğu dozlar çok yüksek konsantrasyonda bitki özütü içermektedir. Bu bitkinin en sitotoksik dozları 1000, 500 ve 250 µg/ml olarak bulunmuştur.

Günümüzde kanser hastalığı çok yaygın hale gelmiştir. Kanser tedavisi için kullanılan yöntem ve ilaçların yan etkileri oldukça fazladır. *A. heldreichii* bitkisinin kanser tedavisi için yeni bir kaynak oluşturması, 293 T hücre hattı üzerinde yarattığı sitotoksik etkiler dikkate alındığında söz konusu değildir. Kanser tedavisinde hedeflenen normal hücrelere zarar vermeden sadece kanser hücrelerini yok etmeye yarayacak yeni yaklaşımlar geliştirmek olduğu için tez kapsamında seçilen bu bitkinin farklı farmakolojik özellikleri değerlendirilebilir ancak kanser tedavisi için umut vaad ettiği söylenemez. Bitki ekstraktlarının farklı fraksiyonları hazırlanarak tekrar kullanılabilir. Bitkinin kimyasal bileşenleri de belirlenerek bu etkilere sebep olan temel bileşikler sınıflandırılabilir. Elde edilen veriler ışığında bitkinin ham ekstrakt olarak değil farklı fraksiyonlarda hazırlanarak test edilmesi gerekliliğini ortaya koyduğu için, bu veriler bilim dünyası için uyarıcı ve aydınlatıcıdır.

KAYNAKLAR

- ABDUL, M.M., SARKER, A.A., SAIFUL, I.M. and MUNIRUDDIN, A. 2010. Cytotoxic and antimicrobial activity of the crude extract of *Abutilon indicum*. *IJPPR*, 2 (1): 1-4.
- AHAMEETHUNISA, A.R. and HOPPER, W. 2012. In vitro antimicrobial activity on clinical microbial strains and antioxidant properties of *Artemisia parviflora*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 11 (30): 1-7.
- AHN, J., URIST, M. and PRIVES, C. 2004. The Chk2 protein kinase. DNA repair. (Amst), 3 (8-9): 1039-1047.
- AKALIN, H.E. 1995. Antimikrobiyal direnç: Bugünü ve yarını. *Ankem dergisi*, 9 (3): 205-208.
- AKALIN, H. 2003. Çoğul Dirençli Gram Negatif Bakteriler. Doğanay M., Ünal S. (edlr.). Hastane İnfeksiyonları, Bilimsel Tıp Yayınevi, ss. 269-287, Ankara.
- AKDOĞAN, H. and AKGÜN, B. 2006. Göksun (Kahramanmaraş) çevresinde halk ilacı olarak kullanılan bazı bitkisel gıdalar. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Bolu.
- AKTAŞ, Z., DİYARBAKIRLI, P., BAL, Ç., GÜRLER, N., KESER, M., SOMER, A. and SALMAN, N. 2007. Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşlarının fenotipik ve genotipik olarak incelenmesi. *Mikrobiyol. Bült*, 41: 347-356.
- AKTUĞLU, Y. 1997. Pratikte antibiyotik kullanımı. STE Sempozyum Dizisi, 1: 11-53.
- ALANIS, A.J. 2005. Resistance to antibiotics: Are we in the post-antibiotic era? *Archives of Medical Research*, 36: 697-705.
- ALBERTS, B., JOHNSON, A., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K. and WALTER, P. 2002. Molecular Biology of the Cell. 4th Edition. Chapter 23. New York.
- ALTUNKAYNAK, B.Z. and ÖZBEK, E. 2008. Programlanmış hücre ölümü: Apoptoz nedir? *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 6 (2): 93-104.
- ANONİM 2010. <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=alcea>.
- ARIDOĞAN, A., ATASEVER, L. and BAL, Ç. 2004. Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere dirençleri. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 34: 20-23.
- ARIDURU, R. and ARABACI, G. 2013. Ciğertaze otu (*Salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *SAU. J. Sci.*, 17 (2): 241-246.

- ATES, D.A. and ERDOGRUL, O.T. 2003. Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts. *Turkish Journal of Biology*, 27: 157-162.
- BALAN, K.V., PRINCE, J., HAN, Z., DIMAS, K., CLADARAS, M., WYCHE, J.H., SITARAS, N.M. and PANTAZIS, P. 2007. Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. chia. *Phytomedicine*, 14: 263-272.
- BALUNAS, M.J. and KINGHORN, A.D. 2005. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*, 78: 431-441.
- BARTEK, J., FALCK, J. and LUKAS, J. 2001. CHK2 kinase-a busy Messenger. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2 (12): 877-886.
- BAYKAN, M. 2004. Yersinia, Klebsiella, Enterobacter ve Proteus. A.T. Cengiz. (Editör). Tıp ve dişhekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, ss. 475-490, Ankara.
- BAYSAL, B. 2004a. *Escherichia coli*. A.T.Cengiz (Editör). Tıp ve dişhekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, ss. 453-459, Ankara.
- BAYSAL, B. 2004b. Salmonella. A.T.Cengiz (Editör). Tıp ve dişhekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, ss. 467-473, Ankara.
- BENLİ, M., GUNAY, K., BINGOL, U., GEVEN, F. and YIĞIT, N. 2007. Antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 6 (15): 1774-1778.
- BERBER, İ., AVŞAR, C., ÇİNE, N., BOZKURT, N. and ELMAS, E. 2013. Sinop'da yetişen bazı bitkilerin metanolik ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal aktivitelerinin belirlenmesi. *Karaelmas Science and Engineering Journal*, 3 (1): 10-16.
- BİLGEHAN, H. 1995. Klinik Mikrobiyoloji, 9. Basım, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir, 629 s.
- BİLGEHAN, H. 2000. Klinik mikrobiyoloji- Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 10. Baskı, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, ss. 59-68, İzmir.
- BOZKURT, H., GÜDÜCÜOĞLU, H., BAYRAM, Y., GÜLMEZ, S., KUTLUAY, N., BOZKURT, E.N. and BERKTAŞ, M. 2005. Klinik örneklerden üretilen Serratia cinsi bakterilerin çeşitli enfeksiyonlardaki rolü ve antimikrobiyallere duyarlılıkları. *Van Tıp Dergisi*, 12 (3): 182-188.

- CABADAK, H. 2008. Hücre siklusu ve kanser. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9 (3): 51-61.
- CEYLAN, A. 1995. Tıbbi Bitkiler I. E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları III. Basım. No:312, Bornova/İzmir.
- CHANDA, S., RAKHOLIYA, K., DHOLAKIA, K. and BARAVALIA, Y. 2013. Antimicrobial, antioxidant, and synergistic properties of two nutraceutical plants: *Terminalia catappa* L. and *Colocasia esculenta* L. *Turkish Journal of Biology*, 37: 81-91.
- CLATWORTHY, A.E., PIERSON, E. and HUNG, D.T. 2007. Targetting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. *Nature Chemical Biology*, 3: 541-548.
- CLSI (CLINICAL LABORATORY STANDARTS INSTITUTE). 2006a. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test*. Approved Standard (9th edn). Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, M2-A9.
- CLSI (CLINICAL LABORATORY STANDARTS INSTITUTE). 2006b. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Test*. Fifteenth International Supplement. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, M100-S16.
- ÇELİK, E. and ÇELİK, G.Y. 2007. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5 (2): 1-6.
- ÇÖPLÜ, N. 2012. Antimikrobiyal direnç ve akılcı antimikrobiyal kullanımı. *Kırıkkale Üniversitesi Bilimde Gelişmeler Dergisi*, 1: 34-40.
- CRAGG, G.M., NEWMAN, D.J. and SNADER, K.M. 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J. Nat. Prod.*, 66: 1022-1037.
- DAĞCI, E.K. and DIĞRAK, M. 2005. Bazı meyve ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri. *KSÜ Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 8 (2): 1-7.
- DAVIS, P.H. 1967. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol.2., Edinburgh University Press., Edinburgh, 415 p.
- DAVIS, P.H. 1965-1985. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press., Edinburgh.
- DAVIS, P.H., MILL, R.R. and TAN, K. 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 10. Edinburgh University Press., Edinburgh, 590 p.

- DELIORMAN ORHAN, D., OZCELIK, B., HOSBAS, S. and VURAL, M. 2012. Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turkish Journal of Biology*, 36: 672-686.
- DEMIRTAS, I., SAHIN, A., AYHAN, B., TEKIN, S. and TELCI, I. 2009. Antiproliferative effects of the methanolic extracts of *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *Linearis*. *Rec. Nat. Prod.*, 3 (2): 104-109.
- DIGRAK, M., BAGCI, E. and ALMA, M.H. 2002. Antibiotic action of seed lipids from five three species grown in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 40 (6): 425-428.
- DING, Q., YANG, L., YANG, H., JIANG, C., WANG, Y. and WANG, S. 2009. Cytotoxic and antibacterial triterpenoids derivatives from *Clematis ganpiniana*. *Journal of Ethnopharmacology*, 126 (3): 382-385.
- DOUGHARI, J.H., EL-MAHMOOD, A.M. and TYOYINA, I. 2008. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Senna obtusifolia* (L.). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2 (1): 007-013.
- DURAIANDIYAN, V., AYYANAR, M. and IGNACIMUTHU, S. 2006. Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6: 35.
- DÜNDAR, V. and ÖZTÜRK DÜNDAR, D. 2002. Stafilokok İnfeksiyonları. Topçu A.W., Söyletir G., Doğanay M. (Editörler), İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 4. Cilt, Nobel Tıp Kitabevleri, ss. 1507-1516, İstanbul.
- EKİCİ, L., TELLİ, R. and YETİM, H. 2008. Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyon bakterileri-1. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2: 29-42.
- EKRAMUL ISLAM, M., EKRAMUL HAQUE, M. and MOSADDIK, M.A. 2003. Cytotoxicity and antibacterial activity of *Sida rhombifolia* (Malvaceae) grown in Bangladesh. *Phytotherapy Research*, 17: 973-975.
- ELOFF, J.N. 1998. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants. *J. Ethnopharmacol*, 60: 1-8.
- ENGİN, K. and ÖZYARDIMCI, N. 2001. Akciğer kanserleri tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar. Avrupa Tıp Kitapçılık, Bölüm: 3, ss. 1-15, Bursa.
- ERDEM, B. 1999. Pseudomonaslar. Prof. Dr. Şemsettin Ustaçelebi, Temel ve Klinik mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, 1. Baskı, ss. 551-558, Ankara.
- ERDOĞAN, A.E. and EVEREST, A. 2013. Antimikrobiyal Ajan Olarak Bitki Bileşenleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6 (2): 27-32.
- ERGÖNÜL, Ö. 2005. Antibiyotik kullanımı ve direnç ilişkisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*, 1 (11): 1-6.

- ESMAEELIAN, B., KAMRANI, Y.Y., AMOOZEGAR, M.A., RAHMANI, S., RAHIMI, M. and AMANLOU, M. 2007. Anti-cariogenic properties of malvidin-3-5-diglucoside isolated from *Alcea longipedicellata* against oral bacteria. *International Journal of Pharmacology*, 3 (6): 468-474.
- ESSAWI, T. and SROUR, M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70: 343-349.
- ESSIEN, E.E., ABOABA, S.O. and OGUNWANDE, I.A. 2011. Constituents and antimicrobial properties of the leaf essential oil of *Gossypium barbadense* (Linn.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (5): 702-705.
- FADLI, M., CHEVALIER, J., SAAD, A., MEZRIOUI, N.E., HASSANI, L. and PAGES, J.M. 2011. Essential oils from Moroccan plants as potential chemosensitisers restoring antibiotic activity in resistant Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38: 325-330.
- FAYDAOĞLU, E. and SÜRÜCÜOĞLU, M.S. 2011. Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1): 52-67.
- GIORGI, A., BOMBELLI, R., LUINI, A., SPERANZA, G., COSENTINO, M., LECCHINI, S. and COCUCCHI, M. 2009. Antioxidant and cytoprotective properties of infusions from leaves and inflorescences of *Achillea collina* Becker ex Rchb. *Phytotherapy Research*, 23: 540-545.
- GOODMAN, L.S. and GILMAN, A. 2001. Goodman & Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics 10th edition, The McGraw-Hill Company, pp. 1143-1169, USA.
- GRUNEBERG, R.N. 1997. Anti-Gram positive agents: What we have and what we would like. *Drugs*, 6: 29-38.
- GÜLTEKİN, N., KARAOĞLU, K. and KÜÇÜKATEŞ, E. 2008. Hücrede apoptoz ve sağkalım mekanizmalarının keşfedilmesi ve yeni potansiyel tedavi stratejileri. *Türk Kardiyol. Der. Arş.*, 36 (2): 120-130.
- GÜNER, A., ÖZHATAY, N., EKİM, T. and BAŞER, K.H.C. 2000. Flora of Turkey, Vol. 11. Edinburgh University Press., Edinburgh.
- HARRISON, P.F and LEDERBERG, J. 1998. Antimicrobial resistance: Issues and Options. (National Academy Press, Washington, DC), pp. 8-74.
- HUSSAIN, T., ARSHAD, M., KHAN, S., SATAR, H. and QURESHI, M.S. 2011. In vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity. *Pak. J. Bot.*, 43: 531-538.
- ISLAM, M.S., KUSUMOTO, Y. and AL-MAMUN, M.A. 2011. Cytotoxicity and cancer (HeLa) cell killing efficacy of aqueous Garlic (*Allium sativum*) extract. *Journal of Scientific Research*, 3 (2): 375-382.

- IWU, M.M., DUNCAN, A.R. and OKUNJI, C.O. 1999. New antimicrobials of plant origin. J.Janick (ed.), ASHS Press, Alexandria, VA., pp. 457-62.
- İLÇİM, A., DIĞRAK, M. and BAĞCI, E. 1998. Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, 22: 119-125.
- KAEWPIBOON, C., LIRDPRAPAMONGKOL, K., SRISOMSAP, C., WINAYANUWATTIKUN, P., YONGVANICH, T., PUWAPRISIRISAN, P., SVASTI, J. and ASSAVALAPSAKUL, W. 2012. Studies of the in vitro cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12: 217.
- KAILEH, M., BERGHE, W.V., BOONE, E., ESSAWI, T. and HAEGEMAN, G. 2007. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 113: 510-516.
- KALAYCIOĞLU, A. and ÖNER, C. 1994. Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Amest- Salmonella test sistemi ile araştırılması. *Tr. J. of Botany*, 18: 117-122.
- KARAKOÇ, Ö.C. and GÖKÇE, A. 2012. Bitki ekstraktlarının *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae)'e olan kontak toksisiteleri. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 36 (3): 423-431.
- KENDİR, G. and GÜVENÇ, A. 2010. Etnobotanik ve Türkiye'de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30 (1): 49-80.
- KHAN, R., ISLAM, B., AKRAM, M., SHAKIL, S., AHMAD, A., ALI, S.M., SIDDIQUI, M. and KHAN, A.U. 2009. Antimicrobial activity of five herbal extracts against Multi Drug Resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. *Molecules*, 14: 586-597.
- KHAN, S., ULLAH, F. and MAHMOOD, T. 2013. In vitro antimicrobial and cytotoxic activity of *Tamarix dioica* Roxb. leaves. *Turkish Journal of Biology*, 37: 329-335.
- KILIÇTURGAY, K. 1996. Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji. Yenileştirilmiş 2. Baskı. Güneş & Nobel Kitabevleri, Bursa, 404 s.
- KIM, K.H., MOON, E., KIM, S.Y., CHOI, S.U. and LEE, K.R. 2012. Lignan constituents of *Tilia amurensis* and their biological evaluation on antitumor and anti-inflammatory activities. *Food and Chemical Toxicology*, 50: 3680-3686.
- KIVANC, M. and AKGUL, A. 1986. Antibacterial activities of essential oils from Turkish species and Citrus. *Flavour and Fragrance Journal*, 1: 175-179.

- KNIO, K.M., USTA, J., DAGHER, S., ZOURNAJIAN, H. and KREYDIYYEH, S. 2008. Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius*. *Bioresource Technology*, 99: 763-768.
- KORUKLUOĞLU, M., İRKİN, R. and SERTEL, S. 2006. *Salmonella* ve *Shigella* türlerinin gelişmesini engelleyen tıbbi bitkiler ve esansiyel yağlar. *Gıda*, 31 (6): 319-324.
- KUO, P.L., HSU, Y.L., KUO, Y.C., CHANG, C.H. and LIN, C.C. 2005. The antiproliferative inhibition of ellipticine in human breast MDA-MB-231 cancer cells is through cell cycle arrest and apoptosis induction. *Anti-Cancer Drugs*, 16: 789-795.
- LANDRY, J.J.M., et. al. 2013. The genomic and transcriptomic landscape of a HeLa cell line. *Genes Genomes Genetics Journal*, 3: 1213-1224.
- LIN, S.H. and MAIESE, K. 2001. The metabotropic glutamate receptor system protects against ischemic free radical programmed cell death in rat brain endothelial cells. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 21: 262-275.
- LOO, W.T.Y., CHEUNG, M.N.B. and CHOW, L.W.C. 2004. The inhibitory effect of a herbal Formula comprising ginseng and *Carthamus tinctorius* on breast cancer. *Life Sciences*, 76: 191-200.
- LUCEY, B.P., NELSON-REES, W.A. and HUTCHINS, G.M. 2009. Henrietta Lacks, HeLa cell, and cell culture contamination. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 133 (9): 1463-1467.
- MA, X., LUO, Y., YU, H. and CUI, Y. 2006. Ethanolic extracts of *Sophora moorcroftiana* seeds induce apoptosis of human stomach cancer cell line SGC-7901 in vitro. *African Journal of Biotechnology*, 5 (18): 1669-1674.
- MAHESH, B. and SATISH, S. 2008. Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4 (S): 839-843.
- MAMAL TORUN, M., ALTINKUM, S.M., BAHAR, H., KOCAGÖZ, S., BİÇER, P. and DEMİRCİ, M. 2005. Vankomisine Dirençli *Enterococcus faecium* kökenlerinde genotipik ve fenotipik özelliklerin araştırılması. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 35: 153-158.
- MARINO, M., BERSANI, C. and COMI, G. 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. Measured using a bioimpedometric method. *Journal of Food Protection*, 62: 1017-1023.
- MARTINEZ, J.D., PARKER, M.D., FULTZ, K.E., IGNATENKO, N.A. and GERNER, E.W. 2003. *Molecular Biology of Cancer*. John Wiley&Sons, Inc, Chapter One, pp. 1-50, Arizona.

- MAVI, A., YIGIT, N., YIGIT, D. and KANDEMİR, A. 2011. Antioxidant and antimicrobial activity of Turkish endemic *Sonchus erzinicanicus* extracts. *Turkish Journal of Biology*, 35: 243-250.
- MELO, J.G., SANTOS, A.G., AMORIM, E.L.C., NASCIMENTO, S.C. and ALBUQUERQUE, U.P. 2011. Medicinal plants used as antitumor agents in Brazil: an ethnobotanical approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011: 365359.
- MERT, T., FAFAL, T., KIVCAK, B. and OZTURK, H.T. 2010. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of the Extracts Obtained from the Flowers of *Alcea rosea* L. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 30: 17-24.
- NAIR, R., KALARIYA, T. and CHANDA, S. 2005. Antibacterial activity of some selected Indian medicinal flora. *Turkish Journal of Biology*, 29: 41-47.
- NASCIMENTO, G.G.F., LOCATELLI, J., FREITAS, P.C. and SILVA, G.L. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31: 247-256.
- NAVANEETHAKRISHNAN, S., SURESH KUMAR, P., SATYANARAYANA, T., MOHIDEEN, S. and KIRAN KUMAR, G. 2011. Antimicrobial activity of ethanolic leaf extract of *Sida spinosa* Linn. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 1 (3): 65-67.
- NIIDA, H. and NAKANISHI, M. 2006. DNA damage checkpoints in mammals. *Mutagenesis*, 21 (1): 3-9.
- NJUME, C., AFOLAYAN, A.J. and NDIP, R.N. 2009. An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, 3: 685-699.
- NOBILI, S., LIPPI, D., WITORT, E., DONNINI, M., BAUSI, L., MINI, E. and CAPACCIOLI, S. 2009. Natural compounds for cancer treatment and prevention. *Pharmacological Research*, 59: 365-378.
- OLAH, E. 2005. Basic Concepts Of Cancer: Genomic Determination. *The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 16 (2).
- ÖZER, Z., TURSUN, N. and ÖNEN, H. 2001. Yabancı otlarla sağlıklı yaşam (Gıda ve Tedavi). 4Renk Yayınları, Ankara, 133 s.
- ÖZTÜRK, R. 2002. Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Gelişme Mekanizmaları ve Günümüzde Direnç Durumu. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi 31: 83-100.
- ÖZTÜRK, Y. 1990. İlaç ve tıbbi bitkiler yönünden Hindistan'a bakış. *Pharmacia JTPA*, 30 (3): 145-163.

- PALANIAPPAN, K. and HOLLEY, R.A. 2010. Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 140: 164-168.
- PAREKH, J. and CHANDA, S. 2007. Antibacterial and phytochemical studies on twelvw species of Indian medicinal plants. *African Journal of Biomedical Research*, 10: 175-181.
- PEHLIVAN KARAKAS, F., YILDIRIM, A. and TURKER, A. 2012. Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. *Turkish Journal of Biology*, 36: 641-652.
- PIER, G.B. and RAMPHAL, R. 2005. *Pseudomonas aeruginosa*. MANDELL, G.L., BENNETT, J.E. and DOLIN, R. (eds.). Principles and Practice of Infectious Diseases 6th ed., pp. 2587-2614, Philadelphia, Churchill Livingstone.
- POONKOTHA, M. 2006. Antibacterial activity of leaf extract of *Abutilon indicum*. *Ancient Science of Life*, 26: 39-41.
- RAMANATH, B. and AMAR KUMAR, G. 2012. A phytochemical and antimicrobial activity of leaf extracts of *Momordica cymbalaria* Hook F. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 4(3): 99-103.
- RAVULA, G., GOLUGURI, S.R. and KONANKI, K. 2012. Evaluation of antibacterial effect of *Vernonia anthelmintica* seed extract and its synergistic effect with antibiotics on resistant bacterial strains. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 4(3): 79-81.
- RETHY, B., CSUPOR-LOFFLER, B., ZUPKO, I., HADJU, Z., MATHE, I., HOHMANN, J., REDEI, T. and FALKAY, G. 2007. Antiproliferative activity of Hungarian Asteraceae species against human cancer cell lines. Part I. *Phytotherapy Research*, 21: 1200-1208.
- SALEEM, M., KIM, H.J., ALI, M.S. and LEE, Y.S. 2005. An update on bioactive plant lignans. *Natural Product Reports*, 22: 696-716.
- SANCAK, B. 2011. *Staphylococcus aureus* ve Antibiyotik Direnci. *Mikrobiyol. Bul.*, 45 (3): 565-576.
- SARAVANAKUMAR, A., VENKATESHWARAN, K., VANITHA, J., GANESH, M., VASUDEVAN, M. and SIVAKUMAR, T. 2009. Evaluation of antibacterial activity, phenol and flavonoid contents of *Thespesia populnea* flower extracts. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22 (3): 282-286.
- SARAVANAKUMAR, A., VENKATESHWARAN, K., VANITHA, J., SARAVANAN, V.S., GANESH, M., VASUDEVAN, M. and SIVAKUMAR, T. 2009. Synergistic activity of methanolic extract of *Thespesia populnea* (Malvaceae) flowers with oxytetracycline. *Bangladesh J. Pharmacol.*, 4: 13-16.

- SARI, A.O., OĞUZ, B., BİLGİÇ, A., TORT, N., GÜVENSEN, A. and ŞENOL, S.G. 2010. Ege ve Güney Marmara bölgelerinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. *Anadolu, J. of Aari*, 20 (2): 1-21.
- SAVAŞ, İ. 2000. Hastane kökenli Pnömoniler. NUMANOĞLU, N., TOPÇU, A.W. Güncel Bilgiler Işığında Pnömoniler, Bilimsel Tıp Yayınevi, ss. 59-73, Ankara.
- SAVRAN, A., BAĞCI, Y. and KARGIOĞLU, M. 2009. Gemerek (Sivas) ve çevresindeki bazı bitkilerin yerel adları ve etnobotanik özellikleri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8 (1): 313-321.
- SEKAR, S. and KANDAVEL, D. 2010. Interaction of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) and endophytes with medicinal plants-New avenues for phytochemicals. *Journal of Phytology*, 2: 91-100.
- SENTILKUMAR, M. 2013. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Gloriosa superba* Linn. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 5 (1): 31-36.
- SEYYEDNEJAD, S.M., KOOCHAK, H., DARABPOUR, E. and MOTAMEDİ, H. 2010. A survey on *Hibiscus rosa-sinensis*, *Alcea rosea* L. and *Malva neglecta* Wallr. as antibacterial agents. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*, 3 (5): 351-355.
- SHAH, G.N., SHETE, S.A., PATIL, V.S., PATIL, K.D. and KILLEDAR, S.G. 2012-13. Standardization and anti bacterial activity of *Couroupita guianensis* fruit pulp extract. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 4 (4): 185-189.
- SHANAB, B.A.A., ADWAN, G.M., ADWAN, K.M. and SHANAB, F.B.A. 2008. Efficacy of aqueous and ethanol extracts of some Palestinian medicinal plants for potential antibacterial activity. *The Islamic University Journal (Series of Natural Studies and Engineering)*, 16 (2): 77-86.
- SHOPSIN, B. and KREISWIRTH, B.N. 2001. Molecular epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis*, 2001 (7): 323-326.
- SINGH, D., KUMAR, T.R.S., GUPTA, V.K. and CHATURVEDI, P. 2012. Antimicrobial activity of some promising plant oils, molecules and formulations. *Indian Journal of Experimental Biology*, 50: 714-717.
- SNEHA, G., MARGARET, N.J., SASTRY, P. and JYOTHI, C.H. 2011. Evaluation of antibacterial activity of *Ocimum*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 3 (3): 89-92.
- STEVIGNY, C., BAILLY, C. and QUETIN-LECLERCQ, J. 2005. Cytotoxic and antitumor potentialities of aporphinoid alkaloids. *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, 5: 173-182.

- ŞARDAN, Y.Ç. 2000. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. *Hastane İnfek. Derg.*, 4: 205-207.
- TAUBES, G. 2008. The bacteria fight back. *Science*, 32: 356-61.
- TÖRECİ, K. 2002. Klebsiella türleri. A.W. Topçu, G. Söyletir, M. Doğanay, İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi, Nobel tıp kitapçevleri, 2. Cilt, ss. 1575-1608, İstanbul.
- TUZLACI, E. and DOĞAN, A. 2010. Turkish folk medicinal plants, IX: Ovacık (Tunceli). *Marmara Pharmaceutical Journal*, 14: 136-143.
- ULLAH, S., ABBASI, M.A., RAZA, M.A., KHAN, S.U., MUHAMMED, B., REHMAN, A. and MUGHAL, M.A.S. 2011. Antibacterial activity of some selected plants of Swat valley. *Bioscience Research*, 8 (1): 15-18.
- USTAÇELEBİ, Ş. 1999. Temel ve Klinik mikrobiyoloji, 1. Baskı, Güneş Kitabevi, ss. 471-515, Ankara.
- UZUNHİSARCIKLI, M.E. and VURAL, M. 2009. Yetersiz veri (DD) kategorisinde bulunan iki *Alcea L.* (Malvaceae) türünün yeni IUCN kategorileri ve taksonomisi. *BioDiCon*, 2 (2): 90-95.
- UZUNHİSARCIKLI, M.E. 2012. *Alcea*. Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. and Babaç, M.T. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, ss. 617-619, İstanbul.
- VAHABOĞLU, H. and AKHAN, S. Ç. 2002. *Pseudomonas aeruginosa* ve Diğer *Pseudomonas* türleri” TOPÇU, A.W., SÖYLETİR, G., DOĞANAY, M., İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitapçevleri, ss. 1608-1616, İstanbul.
- VERASTEGUI, M.A., SANCHEZ, C.A, HEREDIA, N.L and GARCIA-ALVARADO, J.S. 1996. Antimicrobial activity of extracts three major plants from the chihuahuan desert. *J. Ethnopharmacol*, 52: 175-177.
- VERMEULEN, K., VANBOCKSTAELE, D.R. and BERNEMAN, Z.N. 2003. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Proliferation*, 36: 131-149.
- VIKRAN, PATEL, N., ROOPCHANDANI, K., GUPTA, A., AGARWAL, K. and CHOUDHARY, R. 2013. In vitro antimicrobial activity of benzene and chloroform extracts of *Mucuna pruriens*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 5 (1): 19-23.
- WANG, S., et. al. 2009. Suppression of growth, migration and invasion of highly-metastatic human breast cancer cells by berbamine and its molecular mechanisms of action. *Molecular Cancer*, 8: 81.

- YAZICI, Y., AYDIN, F., TOSUN, İ., KAKLIKKAYA, N., ÇAYLAN, R. and KÖKSAL, İ. 2004. Klinik örneklerden izole edilen Enterobacter suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 34: 29-32.
- YILDIRIM, M. 2007. Enterokoklar ve enterokoklarla gelişen infeksiyonlar. *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2: 46-52.
- YIN, J., KWON, G.J. and WANG, M.H. 2007. The antioxidant and cytotoxic activities of *Sonchus oleraceus* L. extracts. *Nutrition Research and Practice*, 1 (3): 189-194.
- YOKUŞ, B. and ÇAKIR, D.Ü. 2012. Kanser biyokimyası. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1 (2): 7-18.
- YÜCEL, E. and TULÜKOĞLU, A. 2000. Gediz (Kütahya) çevresinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. *Çevre Koruma Dergisi*, 9 (36): 12-14.
- ZAEOUNG, S., PLUBRUKARN, A. and KEAWPRADUB, N. 2005. Cytotoxic and free radical scavenging activities of *Zingiberaceous rhizomes*. *Songklanakarın J. Sci. Technol.*, 27 (4): 799-812.