



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**DÜZCE YÖRESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN LAMIACEAE FAMILİYASINDAN
ÜÇ TÜRÜN (*Prunella vulgaris*, *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* ve *Teucrium
chamaedrys* subsp. *chamaedrys*) ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

KAAN ÇETİN

**YÜKSEK LİSANSTEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

DANIŞMAN

PROF. DR. BAŞARAN DÜLGER

DÜZCE, 2022

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DÜZCE YÖRESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN LAMIACEAE FAMILİYASINDAN
ÜÇ TÜRÜN (*Prunella vulgaris*, *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* ve *Teucrium*
***chamaedrys* subsp. *chamaedrys*) ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ**
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Kaan ÇETİN tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Başaran DÜLGER

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Başaran DÜLGER

Düzce Üniversitesi

Prof.Dr. Cüneyt AKI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Doç.Dr. Ersin ORHAN

Düzce Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 01/07/2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

25.07.2022

KAAN ÇETİN

TEŞEKKÜR

Lisansüstü öğrenimim ile bu tezin hazırlanmasına kadar geçen süreçte gösterdiği büyük emek, sabır ve desteği dolayısıyla değerli hocam Düzce Üniversitesi Biyoloji Bölümü Başkanı Sayın Prof. Dr. Başaran DÜLGER'e en samimi dileklerle ve saygılarımla teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmaları boyunca bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Görkem DÜLGER'e, çalışma sürecinde göstermiş oldukları emek ve yardımlarından ötürü Sayın Arş. Gör. Bahar GEDİK ve Sayın Arş. Gör. Dr. İlker KILICÇIOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim. Bitki materyalinin teşhis edilmesinde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Ersin KARABACAK'a ve bitkilerin kimyasal bileşenlerinin karakterizasyonun belirlenmesinde tecrübe ve bilgilerini bizimle paylaşan Sayın Doç. Dr. Kerem CANLI'ya teşekkür ederim.

Son olarak çalışma boyunca gerek ev gerekse iş yaşantımızda yardımlarını ve sabrını esirgemeyen sevgili eşim ve meslektaşım Emel ÇETİN'e, küçük yaşlardan itibaren bana bilimi sevdiren rahmetli babam Ahmet ÇETİN'e ve hayat yolculuğunda desteklerini esirgemeyen sevgili annem Havva ÇETİN ile kardeşim Hakan ÇETİN'e sonsuz şükranlarımı sunar ve her şey adına çok ama çok teşekkür ederim.

25.07.2022

KAAN ÇETİN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	x
HARİTA LİSTESİ.....	xi
KISALTMALAR.....	xii
SİMGELER.....	xiv
ÖZET.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Bitkilerin Genel Özellikleri.....	5
1.1.1.Lamiaceae Familyası.....	5
1.1.2.Lamiaceae Familyasının Morfolojik Özellikleri.....	6
1.1.3.Lamiaceae (Labiatae) Familyasının Uçucu Yağ Çalışmalarındaki Yeri...6	
1.1.4.Lamiaceae (Labiatae) Familyasının Etnobotanikteki Yeri.....	8
1.2. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Genel Özellikleri.	11
1.2.1. <i>Prunella</i> L.	11
1.2.1.1. <i>Prunella vulgaris</i> L.	11
1.2.2. <i>Thymus</i> L.	13
1.2.2.1. <i>Thymus longicaulis</i> subs. <i>longicaulis</i> C.Presl.....	13
1.2.3. <i>Teucrium</i> L.	14
1.2.3.1. <i>Teucrium chamaedrys</i> subsp. <i>chamaedrys</i> L.....	14

1.3. Antimikrobiyal Aktivite.....	15
1.3.1. Antimikrobiyal Maddeler ve Özellikler.....	15
1.3.2. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler.....	17
1.3.2.1. Dilüsyon Yöntemi.....	17
1.3.2.2. Broth Dilüsyon Yöntemi.....	18
1.3.2.3. Agar Dilüsyon Yöntemi.....	18
1.3.2.4. Difüzyon Yöntemi.....	18
1.3.2.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi.....	19
1.3.2.4.2. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi.....	19
1.4. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GS-MS).....	20
1.4.1. GS-MS Cihaz Bölümleri.....	20
1.4.1.1. Enjeksiyon Kısmı.....	20
1.4.1.2. Kolon Kısmı.....	21
1.4.1.3. Dedektör Kısmı.....	21
1.4.2. GC/MS Çalışma Prensipleri.....	21
1.4.3. Gaz Kromatografisi Alev İyonlaştırma Dedektörü.....	22
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	32
3.1. MATERYAL.....	32
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bitkiler.....	32
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Test Mikroorganizmaları.....	34
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamları.....	34
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar.....	35

3.1.5. Çalışmada Kullanılan Diskler ve Mukayese Antibiyotikleri.....	35
3.2. YÖNTEM.....	35
3.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanışı.....	35
3.2.2. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması.....	36
3.2.3. Disk Difüzyon Yöntemi.....	36
3.2.4. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GS-MS) Yöntemi.....	36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	38
4.1. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	38
4.1.1. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları.....	38
4.1.1.1. <i>Prunella vulgaris</i> L. Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	38
4.1.1.2. <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	40
4.1.1.3. <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	41
4.1.2. GS-MS Analizi.....	57
4.1.2.1. <i>Prunella vulgaris</i> L. Bitkisinin GS-MS Tayini.....	57
4.1.2.2. <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. Bitkisinin GS-MS Tayini.....	57
4.1.2.3. <i>Teucrium chamaedrys</i> subsp. <i>chamaedrys</i> L. Bitkisinin GS-MS Tayini..	57
4.2. TARTIŞMA.....	62
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	82
6. KAYNAKLAR.....	84
7. ÖZGEÇMİŞ.....	100

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1. <i>Prunella vulgaris</i> L. bitkisinin arazideki genel görünüşü.....	33
Şekil 3.2. <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. bitkisinin arazideki Genel görünüşü.....	33
Şekil 3.3. <i>Teucrium chamaedrys</i> subsp. <i>chamaedrys</i> L. bitkisinin arazideki genel görünüşü.....	34
Şekil 3.4. Çalışmada bitki ekstraksiyonu için kullanılan Soxhlet ekstraktörü.....	37
Şekil 4.1. <i>Escherichia coli</i> bakterisinin <i>Prunella vulgaris</i> L. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu İnhibisyon zonları.....	48
Şekil 4.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisinin <i>Prunella vulgaris</i> L. bitkisinin 50 ve 75 µL'lik Etanol (E),Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	48
Şekil 4.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i> bakterisinin <i>Prunella vulgaris</i> L. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	49
Şekil 4.4. <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisinin <i>Prunella vulgaris</i> L. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	49
Şekil 4.5. <i>Candida albicans</i> mayasının <i>Prunella vulgaris</i> L. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	50
Şekil 4.6. <i>Escherichia coli</i> bakterisinin <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	50
Şekil 4.7. <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisinin <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	51
Şekil 4.8. <i>Bacillus cereus</i> bakterisinin <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	51
Şekil 4.9. <i>Bacillus subtilis</i> bakterisinin <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	52
Şekil 4.10. <i>Proteus vulgaris</i> bakterisinin <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	52
Şekil 4.11. <i>Cryptococcus neoformans</i> mayasının <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	53
Şekil 4.12. <i>Candida tropicalis</i> mayasının <i>Teucrium chamaedrys</i> subsp. <i>chamaedrys</i> L. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	53
Şekil 4.13. <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisinin <i>Teucrium chamaedrys</i> subsp. <i>chamaedrys</i> L. oluşturduğu inhibisyon zonları.....	54
Şekil 4.14. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterisinin <i>Teucrium chamaedrys</i> subsp. <i>chamaedrys</i> L. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	54

Şekil 4.15. <i>Kluyveromyces marxianus</i> mayasının <i>Teucrium chamaedrys</i> subsp. <i>chamaedrys</i> L. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları.....	55
Şekil 4.16. <i>Cryptococcus neoformans</i> maya kültürünün mukayese antibiyotiklerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonları.....	55
Şekil 4.17. <i>Candida albicans</i> maya kültürünün mukayese antibiyotiklerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonları.....	56
Şekil 4.18. <i>Staphylococcus aureus</i> bakteri kültürünün mukayese antibiyotiklerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonları.....	56
Şekil 4.19. <i>Prunella vulgaris</i> L. bitkisinin etanol ekstraktının genişletilmiş GC-MS spektrumu.....	61
Şekil 4.20. <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. ekstraktının genişletilmiş GC-MS spektrumu.....	61
Şekil 4.21. <i>Teucrium chamaedrys</i> subsp. <i>chamaedrys</i> L. ekstraktının genişletilmiş GC-MS spektrumu	



ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bitkilere ait lokalite bilgileri.....	32
Çizelge 4.1. <i>Prunella vulgaris</i> L. bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi.....	44
Çizelge 4.2. <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi.....	45
Çizelge 4.3. <i>Teucrium chamaedrys</i> subsp. <i>chamaedrys</i> L. bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi.....	46
Çizelge 4.4. Çalışmada kullanılan bazı standart antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesi.....	47
Çizelge 4.5. <i>Prunella vulgaris</i> L. bitkisine ait etanol ekstraktının GC-MS analiz sonuçları.....	58
Çizelge 4.6. <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C.Presl. bitkisinin etanol ekstraktının GC-MS analiz sonuçları.....	59
Çizelge 4.7. <i>Teucrium chamaedrys</i> subsp. <i>chamaedrys</i> L. bitkisinin etanol ekstraktının GC-MS analiz sonuçları.....	60

HARİTA LİSTESİ

Sayfa No

Harita 1.1. Lamiaceae familyasının Dünya üzerindeki yayılışı.....6



KISALTMALAR

AZM	Azithromycin
ATCC	American Type Culture Collection
AW	Water Activity
CIP	Ciprofloxacin
CN	Gentamicin
CNCTC	Czech National Collection of Type Cultures
DMSO	Dimethyl Sulfoxide
DSM	Deutsche Sammlung von Microorganismen
E	Erythromycin
E	Etanol
E.A	Etil Asetat
EI	Electron Ionization
FID	Flame Ionization Detection
FLU	Fluconazole
FSS	Fatigue Severity Scale
GAC	Gallic Asit
GC/MS	Gas chromatography/Mass spectrometry
INH	Izoniazid
IPM	Imipenem
K	Kloroform
KUKENS	Kltr Koleksiyonları Araştırma ve Uygulama Merkezi
KTC	Ketoconazole
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MCZ	Miconazole
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MİK	Minimum İnhibitr Konsantrasyonu
MRSA	Methicillin Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MU	Muğla Üniversitesi

NET	Netilmicin
NCTC	National Collection of Type Cultures
NRRL	ARS Culture Collection
Nt	Not Tested
NY	Nystatin
OD	Optical Density
PAS	Para Aminosalisilik Asit
PABA	Para-aminobenzoik Asit
PCI	Original Strain Reference
RSSK	Refik Saydam Ulusal Kùltür Koleksiyonu
RT	Retention Time
S	Streptomycin
TE	Tetracycline
TOB	Tobramycin
TCA	Trikarboksilik Asit
UV	Ultraviyole
UVA	Ultraviyole A
VRE	Vancomycin Resistant Enterococcus

SİMGELER

A	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat
$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	Seskiterpen
cm	Santimetre
CHCl_3	Kloroform
dk.	Dakika
EtOH	Ethanol
He	Helyum
g	Gram
m	Metre
mm	Milimetre
mL	Mililitre
mg/mL	Miligram/mililitre
MeOH	Metanol
μg	Mikrogram
$\mu\text{g}/\text{disc}$	Mikrogram/disk
μL	Mikrolitre
$\mu\text{L}/\text{disk}$	Mikrolitre/disk
Mm	Mikrometre
pHopt	Optimum pH
V	Volt

ÖZET

Düzce Yöresinde Yayılış Gösteren Lamiaceae Familyası Üyesi Üç Türün (*Prunella vulgaris*, *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* ve *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys*) Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Araştırmalar

Kaan ÇETİN

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Başaran DÜLGER

Temmuz, 2022 100 sayfa

Bu çalışmada antimikrobiyal aktiviteyi tespit etmek amacıyla, Düzce ilinden toplanan *Prunella vulgaris* L., *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl., *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. (Lamiaceae) bitkilerinden elde edilen etanol, etil asetat ve kloroform ekstraktları, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* bakteri kültürleri ve *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Cryptococcus neoformans* ve *Debaryomyces hansenii*, maya kültürlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin en yüksek antibakteriyel aktivitesi etanol ekstratında *P. aeruginosa* (14 mm) bakterisine karşı ölçülmüştür. Bitkinin en yüksek antifungal aktivitesi ise etanol ekstratında *K. marxianus* (15mm) maya kültürüne karşı saptanmıştır. *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl., bitkisinin en yüksek antibakteriyel aktivitesi etanol ekstratında *B. subtilis* (15 mm) bakterisine karşı ölçülürken, en yüksek antifungal aktivitesi ise yine etanol ekstratında *C. neoformans* (12 mm) maya kültürüne karşı ölçülmüştür. *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin en yüksek antibakteriyel aktivitesi etanol ekstratında *S. aureus* (14 mm) bakterisine karşı bulunmuştur. En yüksek antifungal aktivitesi ise yine etanol ekstratında *K. marxianus* (17 mm) maya kültürüne karşı ölçülmüştür. Ek olarak üç bitki türünün etanol ekstraktlarının kimyasal karakterizasyonu Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi (GC/MS) tekniği ile araştırılıp değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, Lamiaceae, Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi (GC/MS)

ABSTRACT

The studies on Antimicrobial Activities of Three Species from the family Lamiaceae (*Prunella vulgaris*, *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* and *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys*) Distributed in Düzce region.

Kaan Çetin

Düzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Biology
Master's Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Başaran DÜLGER

July 2022, 100 pages

In this study, ethanol, chloroform and ethyl acetate extracts obtained from *Prunella vulgaris* L., *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. and *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. (Lamiaceae) collected from Düzce province were investigated for their antimicrobial activities against the bacterial cultures; *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* and the yeast cultures; *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Cryptococcus neoformans*, *Debaryomyces hansenii* by disc-diffusion method. The highest antibacterial activity of *Prunella vulgaris* L. was measured against *P. aeruginosa* (14 mm) bacterium in the ethanol extract. Besides, the highest antifungal activity of the plant was determined in the ethanol extract against the yeast culture as *K. marxianus* (15 mm). While the highest antibacterial activity of *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. plant was measured against *B. subtilis* (15 mm) bacterium in the ethanol extract, the highest antifungal activity was found against the yeast culture *C. neoformans* (12 mm) in the ethanol extract. Likewise, the highest antibacterial activity of *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. plant was detected against *S. aureus* (14 mm) bacterium while the highest antifungal effect was determined in *K. marxianus* (17 mm) as the yeast cultures in the ethanol extracts of the plant. In addition to all these, chemical characterization of the ethanol extracts of three plant species used in this study was investigated and evaluated by Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GC/MS) technique.

Keywords: *Antimicrobial activity, Lamiaceae, Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GC/MS)*

1.GİRİŞ

Tarih öncesi döneme (Prehistorik) ait verilere göre insan toplulukları, gıda sorunlarına çözüm bulmak ve tıbbi amaçlar doğrultusunda ilk olarak bitkilerden yararlanmışlardır [1]. İnsanlığın ilk dönemlerinden başlayarak günümüze kadar bitkilerden farklı yollarla elde edilen ilaç ve ilaç ham maddeleri yaygın olarak kullanılmıştır. Cumhuriyetin ilanına müteakip dönemde de halk tıbbına önem verilmiş ve bu konuda birçok bilimsel çalışma yapılmıştır. Anadolu'da Yontma taş (Paleolitik) çağından itibaren bitkilerin tedavi maksatlı kullandığı ve yaklaşık elli bin yıldan beri bitkilerden farklı amaçlarla yararlandığı kayıtlarda yer almaktadır [2]. Bu durumun en önemli kanıtlarından biri Kuzey Irak'ta yer alan Şanidar mağarasındaki yontma taş devrinden kalma mezarlarda bulunan bitki türleridir. Kazılarda insan kalıntıları arasında mezar bölgesinde bulunanlar, bitki ile insan arasındaki ilişkinin başlangıcını gösteren ilk bulgular olarak kabul edilirler. Bitkiler prehistorik dönemin dışında Akad imparatorluğu, Asur antik yerleşimi ile Sümer gibi uygarlıklarda da başta tedavi amacıyla olmak üzere pek çok farklı şekilde kullanılmıştır. Ayrıca bu dönemde iki yüz elli civarı bitkinin; safran, kekik, adamotu, banotu, nar kabuğu, haşhaş ve nane gibi kullanıldığı bilinmektedir [3]. Asırlardan beri devam eden insan-bitki ilişkisine bağlı olarak, günümüzde tüm bilim camiasının önemli kabul ettiği etnobotanik bilim dalı oluşmuştur [1]. Bilim insanlarının pek çok yarar uğruna kullanılan bitkileri araştırarak, bu yarar ilişkisinin bilimsel temellerini ortaya koyma ihtiyacı giderek artmaktadır. Tarih boyunca nefes darlığı, sarılık, şeker hastalığı vb. gibi birçok rahatsızlık bitkiler vasıtasıyla giderilmeye çalışılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), tüm insan nüfusunun yarısının sağlık problemlerini öncelikle bitkilerden gidermeye çalıştıklarını bildirmektedir. Ek olarak medeni ülkelerde reçeteli ilaçların hemen hemen % 25'ini bitkilerden elde edilen kinin, aspirin, rezerpin, vb. gibi farmasötik maddeler oluşturmaktadır [4].

Yüze yakın ülkenin yapmış olduğu araştırmaları derleyen Dünya Sağlık Örgütü, tıbbi amaçla kullanılan aromatik bitkilerin toplamının yirmi bin civarı olduğunu belirlemiştir [5]. Halk arasında yaygın olarak uzun dönemlerden beri kullanılan bitkiler, bilimsel aşamalardan geçirilerek araştırılmış ve bunun sonucunda da fitoterapi adıyla isimlendirilen bilim dalı doğmuştur. Fitoterapi geçmişten günümüze giderek daha fazla önem kazanmaktadır [6]. Dünya Sağlık Örgütü verileri, bazı ülkelerde toplumun

%80'nin öncelikle bu terapi şeklini kullandığını; dünya nüfusunun neredeyse 1/3'ünde tıbbi ve aromatik bitkilerden terapi vasıtasıyla faydalandığını göstermiştir [7]. Bitki uçucu yağları, farklı doğal bileşenleri içeren kompleks karışımları ihtiva ettikleri için biyolojik etkileri açısından da değişiklik gösterirler. Birçok uçucu yağın içerdiği kimyasal bileşiklerin farklı olmasından dolayı bu yağlar değişik antimikrobiyal etkiler gösterebilmektedir [8]. Tıbbi bitkiler günümüzde birçok hastalığa karşı ilaç olarak kullanılan etken maddelerin doğal kaynağıdır [9]. Bitkilerin birçoğu, insanlar üzerinde önemli biyolojik aktivitelere neden olan özelliklere sahip kimyasallar içerir [10]. Bitkilerin doğal yapısında sentezlenen tanin, kinin, flavonoid, terpenoid, berberin ve alkaloidler gibi kimyasal bileşikler farklı tipteki enfeksiyonların tedavi edilmesinde yaygın olarak tercih edilmektedir [11]. Bitki kaynaklı doğal yapılar olan birincil ve ikincil metabolitler endüstrinin en temel ve önemli ham madde ürünleridir. Bitkiler doğadan aldıkları su, mineraller ve bazı maddeleri öz metabolizmalarında insanların ve diğer canlıların faydalanabileceği çeşitli özelliklerdeki doğal bileşenlere dönüştürürler. Bunlar bitki metabolizması sonucunda oluşan ve sıklıkla kullanılan çeşitli yapıdaki öğelerdir. Bu kompleks bileşikler vücudun bağışıklık sistemini destekleyerek, organların işlevlerini düzene sokar ve/veya iyileşme sürecini hızlandırırlar. Böylece organizmadaki bazı dokuların ve organların biyolojik işlevlerini yerine getirmelerinde olumlu katkılar sağlarlar. Eterik (uçucu) yağlar, kimyasal yapıları değişkenlik gösteren komplike karışımlar olduklarından, biyolojik etkinlikleri bakımından da değişiklik gösterirler. İçermiş oldukları kimyasal endikenele bağlı olarak biyolojik aktiviteleri farklılıklar göstermekle birlikte pek çok eterik yağ; başta antimikrobiyal aktivite olmak üzere karminatif, sedatif, koloretik, diüretik ve antispazmodik gibi özelliklere sahiptir [12].

Özellikle son dönemde antibiyotik direncine sahip mikroorganizmaların sayısının zamanla artmasına bağlı olarak, bu canlıların neden olduğu enfeksiyonların tedavisi giderek daha da zorlaşmaktadır. Yaygın olarak kullanılan antibiyotik çeşitlerine karşı farklı direnme yolları arayan mikroorganizmalarda, antibiyotik dirençliliği sürekli artmakta ve genişlemektedir. Bu sebeple antibiyotiklere alternatif olarak medikal bitkilerden yararlanılması önerilmekte ve medikal bitkiler hali hazırda bu amaç için kullanılmaktadırlar [13]. Yeni nesil kemoterapötiklerin aktif maddelerinin en az %25'i bitki kaynaklıdır. Ayrıca, günümüzde suni yollarla üretilen sentetik temelli pek çok ilacın etken maddesi de ilk defa bitkilerden ayrıştırılan doğal bileşiklerin yapıları ile benzerlik göstermektedir. İlaç yapımında kullanılan bitkilere olan talep; maliyetin diğer

sentetik kimyasallara nazaran daha düşük olması, yan etkilerinin çok az olması yada olmaması, toksisite özelliklerinin düşük ve natural özellikli olmasından dolayı gelişmiş devletelerde olduğu gibi gelişmekte olan devletlerde de artış göstermektedir [14]. Bitkiler, insan ömrünün uzamasındaki baş aktörlerden biri olan antibiyotiklerin, önümüzdeki yıllarda daha da güçlendirilebilmesi adına önemli bir etkidir. Asırlardan beri bitkiler çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır [15]. İnsanlar tıbbi amaçlarla bu tarz bitkileri doğadan temin ederek yada çevresinden satın alarak farklı şekil ve amaçlarla değerlendirmektedirler [3]. Fesleğen, zencefil, tarçın, hardal, sarımsak, köri ve diğer bazı bitkilerin antimikrobiyal aktivite sergiledikleri belirtilmektedir [16]. Ayrıca, çoğu Labiatae (Lamiaceae) familyasında bulunan aromatik bitkilerin eterik yağlarının, antimikrobiyal özelliklere sahip oldukları raporlanmıştır [17]. Örneğin; biberiye, fesleğen, kekik, defne ve karanfil eterik yağının *L. monocytogenes* ve diğer patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir [18]. Çin tarçını ile sarımsağının et ve süt ürünleri ile meyve sularının bozulmadan saklanması sırasında *E. coli* ve diğer bakterilerin üremesini baskılayarak sayılarının önemli ölçüde azalmasını sağladığı görülmüştür [19]. 2004 yılında yapılan bir çalışma neticesinde, nane, defne, kimyon ve rezene eterik yağlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis* bakterilerinin gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir [20]. *Helicobacter pylori* gastrik mukozaya yerleşip gelişen Gram (-) mikroaerofilik bir bakteridir [21]. *C. citratus* (lemongrass) ve *L. citriodora* (*Lemon verbena*) bitkilerinin esansiyel yağlarının %0.01'lik konsantrasyonda *H. pylori*'ye karşı bakterisit faaliyet sergilediği bulunmuştur [22]. 2005 yılındaki bir araştırma sonucunda *Lepechinia caulescens* bitkisinin *Vibrio cholerae* bakterisine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir [23].

Bitkilerin antimikrobiyal aktivitesini etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Bunlara; bitkinin türü, kullanılan hedef bakteri ve mayanın türü, konsantrasyonu, substratın kompozisyonu, gıdanın üretim ve depolama koşulları gibi birçok etmen örnek olarak gösterilebilir. Bitkilere ait farklı eterik yağ bileşenleri, ayrı olarak tahlil edildiklerinde dikkate değer oranda antimikrobiyal etki göstermektedirler. Bileşenlerin sinerjik kullanımının ise mevcut etkiyi daha da arttırdığı gözlemlenmiştir [24, 25, 26, 27]. Bitki uçucu yağlarının diğer antimikrobiyal aktivite çalışmalarına nispeten çok daha az olan antiviral aktivitelerine de dikkat çekilmiş ve bu çalışma sonuçları ayrıca literatüre bildirilmiştir. Beş ayrı uçucu yağ ile yapılmış olan bir çalışmada bu uçucu yağların

öpücük hastalığının nedeni olan Epstein-Barr virüsüne karşı endike olduğu tespit edilmiştir [28]. Yapılan araştırmalardan bazıları, bitkilerin farmakolojik etkilerinin tek bir endiken ajandan ziyade çok sayıda farklı kimyasal bileşimin ortak etkisinden kaynaklanabileceğini ve bu nedenle bitki kökenli medikal bileşimlerin tek bir antibiyotik çeşidi ile inhibe edilmesi zor olan mikroorganizmaların direnciyle savaşarak, daha etkin bir tedavi sağladığını bildirmektedir [29, 30]. Bu durum bilim insanlarını, bitkilerden çeşitli metod ve uygulamalarla izole edilen antimikrobiyallerin öldürücü etkiye sahip bileşimlerini belirlemeye yöneltmiştir [31]. Anadolu'da bitkilerin çok eski çağlardan beri oldukça yaygın kullanımının nedenlerinden biri, bölgenin coğrafi konumunun getirdiği bitki çeşitliliğinin oldukça yüksek seviyede olmasıdır. Bölgenin farklı iklim çeşitlerinin etkisinde kalması flora çeşitliliğinin yüksek olmasındaki en önemli etkenlerden biridir [32]. Anadolu sahip olduğu özel coğrafya ve iklimiyle 11.000 üstünde bitki türüne yuva olmaktadır. Ayrıca bu rakamın 1/3'ünde endemik özelliklerde olduğu literatüre bildirilmiştir [33]. Türkiye Florası'na göre, ülkemiz 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000'den fazla tür ve tür altı taksonu (alt tür ve varyete) ile oldukça yüksek zenginlikte bir floraya sahiptir [34, 35, 36]. Bu taksonlardan 234 tanesi yabancı kaynaklı ve kültür bitkisidir. Geriye kalan diğer türler ise ülkemiz vejetasyonunda doğal yayılış gösteren bitki türleridir. Avrupa genelinin yaklaşık olarak 12.000 seviyelerinde bir bitki taksonuna sahip olduğu dikkate alındığında, Türkiye'nin flora bakımından nedenli zengin ve önemli olduğu net bir şekilde anlaşılmaktadır [37].

Ülkemizin bitki çeşitliliği bakımından oldukça zengin olması yeni ilaç çalışmaları açısından çok yüksek potansiyel sağlamaktadır. Bunun yanında henüz çalışılmamış ve antimikrobiyal etkileri açısından keşfedilmemiş yüzlerce bitki türü bulunmaktadır. Bu tarz çalışmaların zamanla artış göstermesi yeni nesil antimikrobiyal ajanların ortaya çıkarılabilmesi adına yüksek önem arz etmektedir. Gerçekleştirdiğimiz bu çalışma sonucunda, araştırdığımız bitki türlerinin farmakolojik yararlanımlarını tespit etmek amacıyla antimikrobiyal etkilerine bakılmış, doğal bileşik yapısı araştırılarak kimyasal içeriği belirlenmeye çalışılmıştır.

1.2. Bitkilerin Genel Özellikleri

1.1.1. Lamiaceae Familyası

Zengin bir coğrafyaya sahip olan ülkemizde en önemli familyalardan biri olan ve yurdumuzda 45 cins ve 546'dan fazla türe sahip olan Lamiaceae (Ballıbabagiller) ailesi gezegenimiz üzerinde bilinen 236 cins, 7173 civarında taksonla dağılım göstermiştir [38, 39]. Lamiaceae familyası sistematik olarak plantae aleminde magnoliophyta şubesinde, magnoliopsida sınıfında, asteridae alt sınıfında ve lamiales takımında yer almaktadır. Lamiaceae familyasının üyeleri dünyada Akdeniz iklimi etkisi altındaki coğrafyalarda [40], özellikle Kap yarımadası ile Madagaskar, Güneybatı Asya, Avustralya'nın tropik iklim etkisindeki yerleri ve Çin, Amerika kıtasının Meksika bölgesi ile Şili kıyılarında yayılmaktadır. Ayrıca başta ülkemiz olmak üzere, Akdeniz havzasında yer alan bölgeler ile Güneybatı Asya bölgesi tür yoğunluğu ve endemizm oranı bakımından en zengin coğrafyalardır [41]. Ülkemiz; Akdeniz ve Ege Bölgeleri yoğunlukta olmak üzere Lamiaceae familyasının birincil ve önemli gen odaklarından biridir [42]. Aynı zamanda insanlar tarafından Ballıbabagiller adıyla bilinen Lamiaceae familyasına ait bitki taksonları, Anadolu'nun bitkisel çeşitliliği içinde önemli bir paya sahip olmalarının dışında, kimyasal kompozisyonlarında bulunan başta eterik yağlar olmak üzere, çeşitli özelliklerdeki katkı maddeleri ve kimyasallar nedeniyle; antioksidan, antimikrobiyal, antifungal etkilerinden dolayı tıbbi amaçlı olduğu kadar ticari bakımdan da önemli bitkilerdir [43]. Bu familyanın üyeleri sekonder metabolit ve hoş kokulu yağ içermelerinden dolayı farmakolojide ve parfüm endüstrisinde de çok önemli bir yere sahiptir [44].

Lamiaceae familyası üyeleri bir çok alanda kullanım alanı bulunan kültürel, tıbbi, biyolojik ve endüstriyel ham madde kaynaklarıdır. Lamiaceae türlerinden elde edilen unsurlara olan ilgi ve talep her geçen gün artmakta ve bu artış giderek hızlanmaktadır. Familya üyeleri gıda sanayisinde yoğun olarak kullanılmalarının yanı sıra, çevre düzenlemesi ve peyzaj amaçlı süs bitkisi olarak da yetiştirilmektedirler [45]. Tıbbi ve aromatik özelliklere sahip olan bu familya; farmakolojik özellikleri nedeniyle etnobotanikçiler arasında merak konusu olmuş ve tıbbi açıdan da tarih boyunca önemli bir yer tutmuştur. Örneğin; diyabet hastalığında, *Melissa officinalis* L. (oğul otu), *Mentha aquatica* L. (su nanesi), *Origanum majorana* L. (kekik), *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* (dağ kekiği), kronik böbrek yetmezliğinde *Salvia miltiorrhiza* (kırmızı

adaçayı), astım ve nefes darlığında *Phlomis armeniaca* Willd. (boz şavlak) gibi bitkiler kullanılmıştır [46, 47, 48].



Harita 1.1. Lamiaceae familyasının Dünya üzerindeki yayılışı [49].

1.1.2.Lamiaceae Familyasının Morfolojik Özellikleri

Lamiaceae familyası, otsu, çalimsı yada ağaç yapısındaki bitkileri içeren tırmanıcı, aromatik kokulu veya kokusuz kozmopolit bir familyadır. Dünyada en yaygın olarak Akdeniz Bölgesi'nde yayılım gösteren çoğunlukla güzel kokulu olan bitkilerdirler. Kökler ender olarak yumru şeklinde ya da kazık formundadır. Yapraklar birbirine karşı olacak şekilde veya çevresel şekilde sıralanır, basit yada bileşik formlarda bulunabilir. Gövde yapısı genellikle 4 köşeli, çiçekler monoklin, zigomorf (nadiren ışmsal) simetrilir. Çiçek formülü; $K_{(5)} C_{(5)} A_{2+2} G_{(2)}$ şeklinde olup, ovaryum üst durumlu, sepallar ve petaller bazen bir veya iki dudaklı olurlar. Bazen bu dudaklar körelmiş olur, stamenler korollaya bağlı, genellikle didinam (ikili), meyve kuru kapalıdır ve 4 nukslu şizokarptır [50].

1.1.3.Lamiaceae (Labiatae) Familyasının Uçucu Yağ Çalışmalarındaki Yeri

Bitkilerin uçucu yağ içeriklerinin araştırılması bilimsel amaçlarla olduğu kadar, tıbbi ve ticari açıdan da önem arz etmektedir. Mikroorganizmaların bilinen antibiyotiklere karşı

zamanla dirençliliğinin artması, bitki hedeflerinin ve bu bitkilerden elde edilen drogların hücre içerisindeki aktivitelerinin araştırılmasını zorunlu hale getirmiştir. Piyasada bulunan ilaçların yapısında yer alan parafin, pektin, glukoz, selüloz, gliserin gibi bazı maddelerin yanında büyük kısmını esansiyel yağların oluşturduğu esanslar da yer almakta ve bu unsurların ilaç endüstrisinde önemli bir yere haiz oldukları bilinmektedir. Bitkisel ürünlerden veya bitki özütlerinden elde edilen uçucu yağlar (esansiyel yağlar) hücre membranından zorlanmadan geçebilir, deriden ve akciğerlerden kolay bir şekilde emilirler. Ek olarak vücuda ilaç yada gıda supplementi olarak doğrudan alınan uçucu yağların DNA'da hasar oluşturma ve mutasyona neden olma potansiyelleri hakkında yeterince bilgi bulunmamaktadır [51]. Bu doğal bileşenler kanser gibi öldürücülüğü yüksek ve tedavisi zor hastalıkların da içinde olduğu birçok hastalığın tedavisinde kullanım potansiyeline sahiptirler [52]. Sentetik temelli endüstriyel ilaçlara karşı mikroorganizmaların direnç geliştirmesi, bu ilaçların yan etkilerinin yüksek olması ve terapotik maddelerin hastalıklarla mücadelede yetersiz kalması, bitkilerin kimyasal içeriğinin araştırılmasını elzem hale getirmiştir [53, 54]. Uçucu yağlar normal şartlar altında oda sıcaklığında akışkan, zaman zaman donabilen, uçucu, keskin kokulu ve yağ benzeri karışımlar şeklinde bulunurlar. Eterik yağlar mikroorganizmalara (bakteri, maya, protista) karşı biyolojik olarak oldukça aktiftirler. Bitkilerin çiçek, gövde, yaprak, rizom, reçine ve meyve gibi bölümlerinde yer alan eterik yağların, bitki hücreleri arasında iletişim, hormon gibi pek çok farklı işlevi bulunmaktadır [55, 56]. Enfeksiyona bağlı iltihap kurutucu, öksürük giderici, idrar söktürücü, antiromatizmal vb. gibi çeşitli şekillerde etkilere sahip ve yaygın kullanışlı olan uçucu yağlar, kemoterapik etkiye sahiptirler. Eterik yağ kullanımının son yıllardaki artış nedenlerinden biri de artık tıbbın bir dalı olarak kabul edilmeye başlayan aromaterapiye karşı giderek artan ilgidir. Eterik yağlar, koku ve tat endüstrilerinde, ev hijyen ürünlerinde, fiziksel terapilerde uygulanan masajlarda, ilaçlarda koku, tat ve aroma vermek amacıyla da kullanılmaktadır. Tüm bunların dışında uçucu yağların sahip olduğu ağrı dindirici (analjezik), mikroorganizma gelişimini inhibe eden (antiseptik), rahatlatıcı (sedatif), canlandırıcı (stimülan) ve antioksidan gibi etkileri ilaç sanayindeki rollerini çok önemli bir konuma taşımaktadır. Lamiaceae (Labiatae) başta olmak üzere Iridaceae, Umbelliferae (Apiaceae), Rosaceae, Rutaceae, Lauraceae, Asteraceae (Compositae), Zingiberaceae ve Pinaceae familyaları esansiyel yağ bileşenlerince zengin familyalar arasında öncelikli bir yere sahiptirler [57].

Lamiaceae familyasına ait olan bitki türlerinin hem biyolojik hemde farmakolojik etkileri yıllardır belirlenmeye çalışılmaktadır. Bitkilerin kimyasal yapısında yer alan temel yağlar bu bitkilere fitoterapik işlevlik kazandırmaktadır [58]. Günümüz itibariyle belirlenmiş olan önemli cinsleri, *Salvia*, *Thymus*, *Prunella*, *Lamium*, *Origanum*, *Teucrium*, *Thymbra*, *Satureja*, *Mentha*, , *Ballota*, *Stachys*, *Ajuga*, *Melissa*, *Marrubium* ve *Sideritis*'dir. Ayrıca uçucu yağ verimi oldukça yüksek olan Lamiaceae familyası endemik bitki bakımından zengindir. Familya genellikle Akdeniz Bölgesi'ndeki yüksek rakımlarda dağılım göstermekte olup endemizm oranı % 42,2 olarak bildirilmiştir [59]. Aromatik özellikte olan bu bitkiler ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Fakat özellikle endemik türler arasında araştırılmayı bekleyen yüzlerce bitkimiz mevcuttur. Türkiye florasının yaklaşık 1/3'ünü oluşturan hoş kokulu (aromatik) özellikteki bitkilerin kayda değer bir bölümünün kimyasal bileşen yapıları halen tespit edilmemiştir. Dünya üzerinde yetişen yaklaşık iki yüz elli bin çiçekli bitkinin antimikrobiyal ve farmakolojik etkileri bakımından çok azının incelenip çalışıldığı düşünülürse, özellikle bu alanda araştırılmayı bekleyen fazlaca bitki türü olduğu söylenebilir [56, 60].

Uçucu yağların bilinen en önemli potansiyellerinden biride antimikrobiyal etkilerinin olmasıdır. Bakteri, maya ve protozoolardan virüslere kadar ulaşan geniş bir etki alanına sahiptirler. Temel yağların % 60'ının mantar, % 30'unun ise bakteri gelişimini engellediği belirtilmektedir [55]. Bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar ve ekstraktlar farklı kimyasal bileşenleri içeren karmaşık yapıları karışımlar olduklarından mikroorganizmalara karşı olan etki dereceleri de bitkiler arasında belirgin farklılıklar gösterebilmektedir. Hatta, bitkinin içinde bulunduğu ekolojik koşullar bitkinin antimikrobiyal etkisinin aynı türler arasında bile değişmesine neden olabilmektedir. Bazen bitkilerin antimikrobiyal etkilerinden esinlenerek geliştirilen ilaçlara karşı mikroorganizmalar zaman içerisinde direnç geliştirebilmektedir. Fakat antibiyotik dirençliliğine karşın mikroorganizmaların bitki türlerine karşı herhangi bir direnç geliştirdiği gözlemlenmemektedir. Bu sonuç bitki veya bitki karışımları şeklinde oluşan drogların önemini bir kez daha ortaya koymaktadır [8].

1.1.4.Lamiaceae (Labiatae) Familyasının Etnobotanikteki Yeri

Etnobotanik ismi, ilk kez J.W. Harshberger tarafından 'Etnobotoniğin Amaçları' adlı çalışmada kullanılmış olup, etno ile botanik terimlerinin bir araya getirilmesi ile

oluşmuştur [61, 62]. Etnobotanik bilim dalı, insan-bitki ilişkilerini evrim süreci içerisinde incelemiştir. Terime daha anlaşılır yönden baktığımızda “bir bölgede yaşayan insanların çevrelerinde bulunan bitkilerden çeşitli ihtiyaçlarını gidermek üzere fayda sağlama bilgisi ve o bitkiler üzerindeki etkileri” olarak da tanımlanabilir [62]. Anadolu'nun Hitit uygarlığı dönemine kadar uzanan tıbbi bitkileri ile ilgili sahip olduğumuz bilgilerin kökenleri, şifahanelerde bitkilerin tıbbi amaçlarla kullanıldığı Selçuklu Hanedanlığı dönemine kadar gitmektedir. Tarih öncesi dönemlerden beri hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkisel kaynaklı drogların içeriğindeki aktif bileşikler ve bunların aktiviteleri ondokuzuncu yüzyılın ortalarından itibaren incelenmeye başlanmıştır. Bitkiler ve bitki ilaç ham maddeleri, günümüzde tedavi amacıyla kullanılan ilaçların önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Son yıllarda sayıları giderek artan hastalık tiplerine karşı geliştirilen sentetik temelli modern ilaçların yetersiz kalması ve yan etkilerinin fazla olması, ilaç endüstrisinde ham madde olarak naturel mahsüllerin tercih edilme zorunluluğunu giderek arttırmaktadır. Bu nedenle doğal temelli ilaç etken madde arayışı her geçen gün artmaktadır [53, 63, 64]. İlaçların sentetik yollarla üretimine nazaran doğal süreçlerle elde edilmesi ilaç endüstrisine çok önemli faydalar sağlamaktadır. Bir rapora göre, Türkiye’de çalışma yapan etnobotanikçiler, yenilebilir nitelikteki 81 familyadan yaklaşık 1200 takson belirlemişlerdir [65]. Lamiaceae familyası besin meziyetli 169 adet kayıtla 166 taksona sahip olan Asteraceae familyasından önce gelmektedir [66]. Elde edilen son araştırma kayıtlarına göre Lamiaceae familyası, Fabaceae ve Asteraceae familyalarından sonra endemizm oranının en yüksek olduğu 3. familya olarak kabul edilir [67]. Ülkemizde yayılış gösteren tüm endemik bitki türleri arasında besin özellikli bitkilerin endemizm miktarı %2,8 iken yenilebilir Lamiaceae familyasının endemik bitki oranı %8,6’dır [66]. Anadolu'nun geçmişten günümüze süre gelen tıbbi mirasını incelediğimizde Lamiaceae'nin, en bilinen familyalar arasında en önlere geldiğini anlamış oluruz. Ülkemizde tedavi amaçlı tıbbi bitki kullanımının miktarı kontrol listesi çalışmalarında 113 familyadan 1.057 takson olarak belirlenmiş ve Lamiaceae 148 takson ile birinci sırada yer almıştır. Bu familyadan sonra 139 takson ile Asteraceae familyası yer almaktadır [68]. Yapılan bir çalışmaya göre, İran coğrafyasında 410 taksona sahip olan Lamiaceae familyasının %18'ini tıbbi kullanım amaçlı bitki türleri oluşturmaktadır [69]. Anadolu'daki çeşitli yöre insanları da bu familya üyelerinin önemli bir kısmının gıda ve tedavi edici özelliklerinin olduğunu bilmektedir. Lamiaceae familyası iyileştirici ve yenilebilir özelliklerinin yanı sıra hoş ve cazibeli bitkiler olarak da halk arasında

kabullenilmiştir. Bu nedenle familya içerisinde yer alan bitki türleri, bal arıları ve diğer polinatörler için çok iyi birer polen ve nektar kaynağı olup; çiftçilerin yetiştirildiği meyve, sebze ve diğer çiçekli bitkilerin gelişimine çok önemli katkılar sağlarlar. İnsanoğlu çevresinde şekillenen bitki türlerinden tarih sürecinde gıda, barınma ve tedavi gibi farklı yönlerden fayda sağlamaya çalışmıştır. Uygarlığın gelişimine bağlı olarak zamanla ısınma, inşaat, boya malzemesi, süs vb. amaçlarla da yararlanmışlardır. Ülkemizde de familya üyesi bitkilerden yukarıda yer alan amaçlarla tarih boyunca yoğun bir şekilde faydalanılmıştır [3]. Etnobotanik alanındaki araştırmalar günümüzde giderek daha da zorlaşmaktadır. Etnobotanik alanında elde edilen geçmiş tarihli toplumsal verilerin yeterince kayıt altına alınmaması ve yeni nesillerin bu alana olan ilgisinin azalması nedeniyle de günden güne giderek kaybolmaktadır. Elde edilen yeni bilgilerin kayıt altına alınması adına geniş ölçekli ve bilimsel nitelikli çalışmaların organize bir biçimde mümkün olan en kısa sürede yapılması gerekmektedir. Fakat özellikle köy yerleşimlerinde bulunan insanların büyük bir kısmının zaman içerisinde şehirlere göç etmesi bu alandaki tecrübelerinden yararlanılacak kullanıcılara ulaşılması meselesini önemli bir problem haline getirmektedir [70]. Geçmişten günümüze kadar uzanan süreçte halk tarafından yoğun bir şekilde kullanılan ve kullanılmaya devam eden, modern çağın sentetik ilaçlarının birçoğunun da temel etken maddesini oluşturan bitkileri tanımlayarak doğru bir şekilde kullanmak çok büyük önem arz etmektedir. Sentetik temelli geliştirilen ilaçların faydaları olduğu kadar zararlı yan etkilerinin de oldukça fazla olduğunun belirlenmesi sonucunda, özellikle 20. yüzyılın son çeyreğinde farklı özellikteki hastalıkların tedavisinde bitkisel droglar ile elde edilen tedavi yöntemlerine ve ilaçlara yeniden dönüş yapılmasına sebebiyet vermiştir. Doğaya yeniden dönüş olarak isimlendirilen Yeşil Akım, tıbbi bitkilerden elde edilen ilaçlar ile tedavisi kısmen basit olan hastalıkların iyileştirilmesinde öncelikli tercih olmuştur [71]. İnsanlar bitkilere ait mevcut bilgileri deneme yanılma yöntemiyle bulmuş ve bazı değişiklikler ve uygulama yöntemleri ile günümüze kadar aktarmayı başarmışlardır. Jitin 2013 yılındaki çalışmasında dünyadaki 250.000 damarlı bitki türünün yaklaşık 85.000 civarının tıbbi özellikteki bitkiler olduğunu rapor etmiştir [72]. Ülkemizdeki genel bitki taksonunun 500 adetinin tıbbi ve aromatik özellikte olduğu, bunlardan da yaklaşık 200 tanesinin ise ihracat açısından önemli bir yere sahip olduğu belirtilmiştir [3, 37, 73]. Yukarıda sayısal olarak da ifade edildiği gibi ülkemizin bu denli zengin bir bitki çeşitliliğine sahip olmasına rağmen, bitkilerin halk arasındaki tedavi, gıda ve diğer amaçlarla yararlanımını konu alan bilimsel temelli ve nitelikli çalışma sayısı oldukça

yetersiz kalmaktadır [70]. Türkiye florasında tanımlanmış bitkilerin maalesef büyük bir kısmının etnobotaniği hakkında hala daha bilgilerimiz kısıtlıdır. Bu konuda yazılmış ve kaynak niteliği taşıyan iki kitap mevcuttur. Baytop 'un 1997 yılında yazmış olduğu kitapta bitkilerin bölgesel isimleri ve kısmen bazı bitkilerin kullanım amaçları belirtilirken [74], Güner ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yazılan başka bir eserde ise genellikle tanımlanan taksonların sadece yöresel isimlerinden bahsedilmektedir [75].

1.2. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Genel Özellikleri

1.2.1 *Prunella L.*

Prunella L. türleri Avrupa'dan K.Afrika'ya, Akdeniz havzasından Rusya ve D. Asya'ya, Amerika kıtasından Avustralya'ya olmak üzere gezegenimiz üzerinde oldukça geniş bir dağılım göstermektedir [76]. Bunun yanında *Prunella L.* cinsinin K. Amerika, Asya, Avrupa ve Kuzey Batı Afrika'da yayılış gösteren 9 farklı türü bulunmaktadır [77, 78]. Türkiye'de ise kayıtlara göre 3 türü yayılış göstermekte olup *P. grandiflora* şüpheli kayıt olarak yer almaktadır [77]. Türkçede 'yara otu' olarak adlandırılan *Prunella L.*, 17. yy'da Avrupa kıtasında öksürük ve boğaz ağrılarını gidermek yada azaltmak, ateşi düşürmek ve yaraların iyileşme hızını arttırmak için yaygın kullanılan bir bitkiydi. Çin'de çok eskiden beri halk arasında yüksek ateşi düşürmek için tıbbi amaçlarla kullanılmıştır [79]. Günümüzdeki araştırmalar *Prunella L.* bitkilerinin antibakteriyel, ağrı kesici, antiviral, antioksidan, bağışıklık dengeleyeci, tümör baskılayıcı ve hipoglisemik gibi çeşitli fonksiyonlara sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır [80]. 1950'lerden beri D.Asya ülkelerinden Çin ve Japonya'da, bu bitkilerin sahip olduğu kimyasal bileşenlerinin yapı ve özellikleri üzerine detaylı araştırmalar yapılmıştır. Yapılan detaylı çalışmalar neticesinde bu bitkilerden izole edilen kimyasal bileşikler esas olarak fenolik asitleri, triterpenoidleri ve bunların saponinlerini, sterollerini ve glikozitlerini, organik asitleri, esansiyel yağ, flavonoidleri ve sakkaritleri meydana getirmektedir [81].

1.2.1.1 *Prunella vulgaris L.*

Prunella L. türleri arasında özellikle *Prunella vulgaris L.*, boğaz ağrısını hafiflettiği, yaraların hızlı iyileşmesini sağladığı için 17.yy'dan beri Avrupa'da kullanılan geleneksel ilaçlar içinde önemli yere sahiptir [82]. Çin tıbbi eski kayıtlarında, *P.*

vulgaris bitkisinin acımsı bir tadla karakterize olduğunu ve doğada görme duyusunu iyileştirme, şişkinliğin dindirilmesi gibi işlevleri olan bitki türü olduğundan bahseder. Yakın bir dönemde, *P. vulgaris* bitkisi ağız ve boğazdaki enfeksiyonlara bağlı yaraları iyileştirmek için sıcak su uygulaması şeklinde ve göz uçuğunun klinik tedavisinde sulandırılmış ekstrakt şeklinde kullanılmıştır [83]. *Prunella vulgaris* L. 6-40 cm boyunda gövdeler dik ve yükselici, yapraklar (en tepede yer alan çift hariç) saplı, ovattan oblonga kadar farklılaşan figürlerde, obtus, tam veya hafifçe krenat, bazen pennatisekt, çıplak veya bir miktar tüylü. Çiçek yapısı spika. Brakteler kırmızımsı veya siyahımsı-mor, kenarlar siliat. Kaliksin alt dudağı 2 loblu, üst dudağı trunkat, 3 mukronat dentat; yan ve orta dişler arası yuvarlak girintili. Korolla koyu leylak rengi veya lavanta-mavimsi (nadiren beyaz). Meyve nuks, ovoid-eliptik. Orman, tarlalar, yol kenarları, nemli, sulak alanlar gibi bölgelerde yayılış gösterir ve Türkiye genelinde kozmopolit bir bitkidir. Çiçeklenmesi Mayıs-Eylül aylarıdır. Gıda ve tıbbi açıdan yaygın kullanıma sahip olan bitkinin çiçekleri kurutulduktan sonra suda kaynatılarak elde edilen çaydan soğuk algınlığına karşı halk ilacı olarak yararlanılmaktadır. Çiçek ve yaprakları ayrıldıktan sonra ezilerek lapa haline getirilir. Daha sonra bu lapa yaralara haricen sürülerek iyileştirici etki göstermektedir. Bitkinin en yaygın kullanımı yara tedavisinde kullanılmasıdır [84]. *Prunella vulgaris* kimyasında fenol yapıda rosmarinik asit bulunmaktadır ve güneş ışınlarından koruyucu (fotokoruyucu ajan) olarak kullanılmaktadır. Rosmarinik asit, hücrelerde lipid peroksidasyonunu azaltır ve UVA ışınlarının etkilerini artıran reaktif oksijen türlerini etkin bir şekilde azaltır. *Prunella vulgaris* özütünün UV ışınlarının ve iyonlaştırıcı radyasyonun zararlı hücresel etkilerini azaltmak için kullanıldığı bildirilmiştir [85, 86, 87]. Yapılan araştırmalar sonucunda yara otunda bulunan rutin ve oleanolik asitin yara otunun anti-enflamatuvar aktivite göstermesini sağladığı tespit edilmiştir [88]. Yapılan başka bir araştırmada ise, SKI 306X'in (Uzakdoğu Asya'da lenfadenit ve artrit gibi iltihaplı hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan *Clematis mandshurica*, *Trichosanthes kirilowii* ve *Prunella vulgaris* L. karışımından arıtılmış bir özüt) uygun dozlarda alındığında eklem kıkırdaklarını koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir [89].

1.2.2 *Thymus L.*

Avrupa kıtasında yaygın olarak bulunan *Thymus* bitkileri ülkemizde 20'si endemik olmak üzere 38 tür ve 64 takson ile dağılım göstermektedir [35]. Her daim yeşil, otsu veya çalimsı yapıdadırlar. G. Akdeniz ile Asya'nın özgün bitkilerindedir. Ayrıca bunun dışında K. Afrika'da da yayılış gösterirler [90]. Perennial, aromatik, yastık yapıcı, tabanda odunsu çalimsı veya sürünücü bitkilerdir. Gövde dipte otsu özellikte yukarıda ise dallanmış şekildedir. Dalları sık ve uzun, enine kesitte dört köşeliden yuvarlağa kadar değişen şekillerde, karşılıklı iki yüzeyi yada her tarafı tüylüdür. Yaprak ayasının kenarları tam, revolut veya değil, kısa saplı ya da sapsız, genelde saptan ayanın kenarlarına doğru olacak şekilde sillidir. Yapraklar, kaliks ve brahteler yağ damlacıklı, salgı ise renksizden kapalı kırmızıya kadar değişen şekillerdedir. Vertisillatlar floral yapraklarla desteklenen çok çiçekli, bazen sık başçık formundadır. Brahteler yapraksı yapıda yada daha farklıdır. Brahteoller genel olarak küçük haldedir. Bitki çoğu zaman ginodioiktir [91]. *Thymus* türlerinin önemi içeriğindeki uçucu yağların biyolojik aktivitelerinden gelmektedir. Uçucu yağların en çok merak edilen ve incelenen özelliklerinin başında ise antimikrobiyal aktivite çalışmaları gelmektedir. Tür adı verileyen bir kekik bitkisinin buharının *Bacillus anthracis* bakterisi üzerindeki inhibe edici etkisi günümüzden yaklaşık 135 yıl önce 1887 yılında ilk olarak Chamberlain tarafından kayıtlara geçirilmiştir [92]. Bu nedenle tüm aromatik bitkilerin antimikrobiyal etkilerinin ilk kez tespit edilmeye başlandığı bitkilerde *Thymus* türleridir [93].

1.2.2.1 *Thymus longicaulis subsp. longicaulis C.Presl.*

Türkiye'de "dağ kekiği" olarak isimlendirilen *Thymus longicaulis C.Presl.*, genel olarak Akdeniz bitki örtüsüne has, perennial bir bitki türüdür [94]. Gövdesi dip kısımda otsu özellikte olup yukarı doğru dal oluşumlarında bulunmaktadır. Bu dallar tüylü ve dört köşelidir. Bitkinin kendisine özel salgısı kırmızı renkli yada renksizdir. Bitki çoğunlukla ginodioiktir. Doğu Sicilya ile Fransa ve G. Avrupa'da yayılım gösteren *Thymus longicaulis C.Presl.* bitkisi ülkemizde Trakya ile Kuzey-Orta Anadolu bölgelerinde bulunmaktadır. Geçmişten günümüze soğuk algınlığı, öksürük, grip, mide ve bağırsak ağrısı gibi sorunlarda kullanılan *Thymus longicaulis C.Presl.* bitkisi Türkiye'de de mevcut şikayetlerin tedavisinde sıcak içecek halinde ve baharat amaçlı yemeklerde tercih edilmektedir [94, 95].

1.2.3 *Teucrium* L.

Teucrium L. cinsi bitkiler, içeriklerinin zenginliği nedeniyle eski dönemlerden beridir halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu bitkiler diüretik, diaforetik, tonik, antispazmodik ve kolagog etkileri sebebiyle yoğun ilgi görmektedirler. Ayrıyeten *Teucrium* L. cinsine ait bitkiler, son yıllarda antineoplastik etkileri sayesinde de popülerlik kazanmıştır. Yapılan araştırmalarda, bu cinsin bazı üyelerinin tek başlarına kanser gelişimini durdurmada pozitif etki göstermelerinin yanı sıra diğer kanser ilaçlarının da farmakolojik etkilerini arttırdıkları tespit edilmiştir. [96]. Bu cinse ait türler ile ilgili henüz yeterince araştırma yapılmamış olması bitkinin bilimsel açıdan değerlendirilmesini zorlaştırıyor olsa da, zamanla artan bilimsel çalışmalar ile bu durumun ortadan kalkacağı düşünülmektedir. *Teucrium* cinsine ait türlerden, içerdikleri muhtelif maddeler sebebi ile çok uzun süredir (2000 yıl) halk arasında tıbbi amaçlarla yararlanılmaktadır [91, 97]. *T. polium* ve *T. chamaedrys* bitkileri ülkemizde oldukça geniş bir coğrafik alana intişar etmektedirler. Tıbbi bitkiler sınıfında bulunan bu bitki grubunun kullanılan parçaları, toprak üstü kısımları; gövde, yaprak, çiçek ve meyvesidir. Halk tarafından; gövde, yaprak ve çiçek kısımları çay şeklinde tüketilir. Halk tıbbında nefes darlığı, ishal, egzama, öksürük, mide, bronşit, yara ve boğaz iltihabı gibi rahatsızlıkları iyileştirici [3], insülin düzenleyici, idrar arttırıcı, sinir uyarıcı, ateş düşürücü, gaz söktürücü, kuvvet verici [98], tansiyon düşürücü, anti-romatizmal, zayıflatıcı gibi birçok etkiye sahip olduğu [99], yaprakları taze çiğnendiğinde özellik karın ağrısını başta olmak üzere pek çok ağrıyı kısa sürede dindirdiği ayrıca serbest radikallere karşı indirgeyici yapıda oldukları ve bitki ekstraktlarının da doğal antioksidan olarak kullanılabileceği çoğu kez bildirilmiştir [100].

1.2.3.1 *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L.

Teucrium chamaedrys boy uzunluğu 50-60 cm'e kadar ulaşabilen, perennial, otsu özellikte olan ve toplumda genellikle 'Kısamahmut otu' adı ile tanınan tıbbi bir aromatik bitkidir. Bitki ayrıca dalak otu, duvar otu, yer meşesi, bodurmahmut otu, basur otu, v.b.' gibi adlar ile bilinmekte olup; kaşıntıları dindirmede, mide sancılarında, hemoroidlerde ve madde bağımlılığının azaltılmasında kullanılmaktadır. Ülkemizde Akdeniz, Karadeniz, Ege ve Marmara bölgelerinde, dünyada ise Avrupa-Sibirya coğrafyasında geniş yayılım göstermektedir. Ülkemizde altı farklı alt türü olduğu

bilinmektedir [3]. Ekseri rizomlu yarı çalimsı perennial bitkilerdir. Yapraklar kısa ve basit lobludur. Çiçekler, uçta yer alan rasemuslarda veya yaprak koltuklarında 2-8 adet, mor yada pembe renkte, kaliksin iki katı uzunluktadır. Türkiye'nin neredeyse tüm bölgelerinde yayılım göstermektedir. Çiçeklenme dönemi genellikle Haziran-Eylül ayları aralığındadır [91]. *T. chamaedrys* bitkisinin toprak üstü kısımlarının, asırlar boyunca analjezik, gastroenterolojik, spazm çözücü ve Antienflamatuvar unsurlar olarak kullanıldığı ve şifa verici özellikleri nedeniyle, bu bitki genel olarak halk tıbbında, sindirim sorunları, öksürük, astım, apse, göz nezlesi ve selülit tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. [101]. Biyolojik olarak aktif doğal bileşik yapısıyla dikkat çeken *Teucrium chamaedrys* L. bitkisiyle gerçekleştirilen çalışmalarda bitkinin feniletanol glikozit organik bileşiğinin çok güçlü bir radikal temizleme özelliğinin olduğu rapor edilmiştir. Bunlara ek olarak, *T. chamaedrys* bitkisinin kimyasal yapısında yer alan neo-clerodane diterpenoids bileşiğinin hepatotoksik olduğu bildirilmiştir [96, 102, 103].

1.5. Antimikrobiyal Aktivite

1.5.1. Antimikrobiyal Maddeler ve Özellikleri

Günümüzde tedavide kullanılan ilaçların önemli bir kısmını bitkilerden elde edilen etken maddeler oluşturmakta ve yaklaşık 21.000 civarında bitki türünden ilaç elde edilmesi amacıyla yararlanılmaktadır [53]. Birçok aromatik yada tıbbi özellikteki bitkilerden çeşitli yöntemlerle izole edilen ekstraların antimikrobiyal etkili oldukları rapor edilmiştir [106]. Bitkisel temelli antimikrobiyal ajanlar bitkinin çeşitli kısımlarından (kök, yaprak, gövde, çiçek, meyve, tohum) farklı metodlar dahilinde elde edilebilmektedir [107]. Antimikrobiyal hususlar, mikroorganizma gelişimini durduran (inhibisyon), biyolojik temelli olan sekonder metabolitlerdir. Bu hususlar mikroorganizmaların ölmesini sağlayan “bakterisit” ve “fungisit” şeklinde etkili oldukları gibi; mikroorganizmanın çoğalmasını baskılayan “bakteriyostatik” veya “fungustatik” etkilide olabilmektedirler [104, 105]. Antimikrobiyal ajanlar etki ettikleri mikroorganizmaların tür yoğunluğuna göre, dar yada geniş spektrumlu veya spesifik yada genel etkili olarak sınıflandırılırlar. Spesifik etkiye sahip olan ajanlar enfeksiyon gelişimine neden olan hedefin üzerinde direk etki ettiğinden tedavinin sürdürülmesinde ideal antimikrobiyal etken olarak tanımlanırlar. Geniş spektrumlu antimikrobiyal

maddeler ise immün sistemde önemli bir göreve sahip olan doğal biyotayı bozar. Ancak sekonder enfeksiyonlarda veya süre sıkıntısı olan sepsis gibi acil vakalarda geniş spektrumlu etki mekanizmasına sahip olan antimikrobiyal ajanlar kullanılmaktadır. 1600'lü yıllarda G. Amerika'da, insanlar sıtma hastalığına çare olarak *Cinchora* türünün kabuklarını yemişler, ipeka bitkisinin kök ekstratı ile *Entamoeba histolytica*'nın neden olduğu amipiyaz tipi dizanteri (amipli dizanteri) hastalığına karşı tedavi yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemlerin başarılı olmasının altında *Cinchora* bitkisinin kabuklarında bulunan kinin ve ipeka bitkisinin köklerinde yer alan emetin maddesinin antimikrobiyal etkinliğe sahip olması yatmaktadır. 1928 yılında A. Fleming tarafından tesadüfen keşfedilen ve o dönemlerde zararlı yada toksik etkileri nedeniyle kullanımı kısıtlı olan penisilin, 1940 yılında E.Chain ve H.Florey tarafından ilaç haline getirilmiştir. II. Cihan harbinde cephede yaralanan askerlerin tedavisinde kullanılan penisilin birçok askerin ölümden dönmelerini sağlamıştır [108]. Ayrıca günümüzde antibiyotiklerin bilinçsiz ve gereksiz kullanımı özellikle patojen mikroorganizmaların farklı çeşit ve özelliklerdeki antibiyotiklere karşı direnç geliştirmelerine sebebiyet vermiştir. Bu sonuç ise bilim insanlarını farklı kaynaklardan yeni antimikrobiyal aktiviteye sahip yeni nesil antibiyotik geliştirmeye zorlamıştır. Son yıllarda yeni keşfedilen antimikrobiyal etkinliğe sahip bitkiler, enfeksiyona bağlı hastalıkların tedavisinde etkinliği kabul görmüş ilaçlara bile rakip olabilecek özelliktedir [107]. Doğal yapılu maddeler, enfeksiyon hastalıklarında dahil olmak üzere farklı hastalıklar içinde tedavi edici özelliği olan kimyasal bileşenleri ihtiva etmeleri açısından önem arz etmektedirler [109]. Bitki türlerinden elde edilen yağ bileşenleri kompleks yapılu karışımlar olduklarından biyolojik etkinlikleri bakımından da çeşitlilik gösterirler. Pek çok farklı yapılu özelliklere sahip esansiyel yağın antimikrobiyal, antispazmodik, sedafik, koloretik gibi etkileri vardır [110]. Günümüzde birbirinden farklı özelliklere sahip bitki özütleri gelişmekte olan ülkelerin öncelikle taşra bölgelerinde, halk tıbbında tedavi amacıyla kullanılmaktadır [111]. Doğal yollardan elde edilen antimikrobialların bir kısmı da gıda maddelerinin bozulmaya karşı korunması amacıyla kullanılmaktadır. Bitki türlerinin yapısında bulunan antimikrobiyal özellikteki maddeler kimyasal karakterizasyonları bakımından terpenoidler, alkaloidler ve polipeptitler, fenolikler ve uçucu yağlar, poliasetilenler, lektinler, olarak farklı sınıflara ayrılırlar ([55] ; [107]). Süt içeriğindeki laktoferrin ve laktoperoksidaz, yumurtanın yapısında bulunan ovotransferrin, avidin ve lizozim kan serumunda yer alan transferrinler sentetik olmayan antimikrobiyal özelliğe sahip hayvansal kökenli

maddelere örnek olarak verilebilirler. Bitki biyolojisinde yer alan bileşikler arasında ki fitoaleksinler, şifalı bitkilerden elde edilen karvakrol, sinnam aldehit, timol, eugenol, allisin gibi fenolik bileşenler ile ekstraktlar, uçucu yağlar bitkisel kaynaklı antimikrobiyellerin başında gelmektedir. Bunun yanı sıra nisin ve pediosin gibi polisiklik maddeler mikroorganizmalardan izole edilen doğal antimikrobiyal ajanlardandır ([112] ; [107]).

1.5.2 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Antimikrobiyal faaliyetlerin tespit edilmesinde kullanılan deney, metod ve teknikler literatürde bilgisinde yer almasına karşın, kaynağı gıda olan mikroorganizmalara karşı mevcut koruyucuların antimikrobiyal etkinliklerinin belirlenmesine yönelik standartlaştırılmış yöntem ve testler bulunmamaktadır [113]. Bu sebeple antibiyotikler için geliştirilen antimikrobiyal duyarlılık testleri uçucu yağlara uygulanmıştır. Ancak uçucu yağın izole edilmesi için tercih edilen metod, kullanılan mikroorganizma miktarı, inkübe edilme süresi, besiyeri ve ortam sıcaklığı gibi pek çok faktör, analiz sonuçlarını doğrudan yada dolaylı yollardan etkilemektedir. Bu sonuç elde edilen bilgilerin birbirleriyle karşılaştırılmasını da zorlaştırmaktadır ([114]; [115]). Antimikrobiyal aktivitenin statik yada sidal etkilerinin ölçülmesinde en sık kullanılan yöntemler difüzyon ve dilüsyon metodları olmak üzere genel olarak iki ana başlık altında değerlendirilmektedir.

1.5.2.1. Dilüsyon yöntemi

Dilüsyon teknikleri niceliksel sonuçlar vermekte ve bu sonuçları; besiyerinin özelliği, inokulumun yoğunluğu, inkübasyon zamanı ve ortam sıcaklığının stabilitesi, antimikrobiyal maddenin kararlılığı gibi etmenler belirlemektedir ([115]; [116]). Dilüsyon tekniği ile uçucu yağların MİK ve MBK değerleri tespit edilebilmektedir. Bulanıklık tayiniyle üremenin durumu kontrol edilmekte ve üremenin gerçekleşmediği en düşük konsantrasyon değeri minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) olarak tanımlanmaktadır. Prosesin başında ekimi gerçekleştirilen kültürün %99.9'u veya daha fazlasını inhibe eden konsantrasyon yada yeni besiyerine alındıktan sonra üremenin gözlenmediği en düşük konsantrasyon minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değeri olarak ifade edilmektedir [117]. MBK, MİK testine mütakiben uygulanır. MİK testi sonucunda gelişmenin olmadığı tüplerden numune alınarak agarlı katı besiyerine

ekim gerçekleştirilir. Ekimin yapıldığı besiyerinde mikroorganizma gelişiminin kesin bir biçimde olmadığı ilk besiyeri MBK değerini verir [118]. Dilüsyon metodu, sıvı (broth) dilüsyon ve agar dilüsyon metodu olmak üzere iki farklı teknik ile gerçekleştirilebilmektedir.

1.5.2.2 Broth dilüsyon yöntemi

Broth dilüsyon yöntemi makrodilüsyon ve mikrodilüsyon olmak üzere iki farklı şekilde yapılabilir. Her iki yöntemin de prensibi temelde aynıdır. Daha az miktarlarda çalışıldığı için mikrodilüsyon yöntemi, makrodilüsyon yöntemine göre daha az maliyetlidir. Mikrodilüsyon tekniğinde 96 kuyucuklu plaklar, makrodilüsyon yönteminde ise steril tüpler kullanılarak, hazırlanan farklı konsantrasyonda uçucu yağ veya diğer antimikrobiyal madde dilüsyonlarının, belirli konsantrasyondaki mikroorganizmaya karşı aktivitesi değerlendirilmektedir. Hedef mikroorganizmaya karşı uçucu yağın etkili konsantrasyonları ile MİK ve MBK değerleri mikroorganizma üremesinin varlığına veya yokluğuna göre tespit edilmektedir [119]. Üremenin gözlenmesinde, optik yoğunluk (OD) ölçümü ve canlı mikroorganizmaların sayımı başta gelen en yaygın yöntemlerdir. Elde edilen sonuçlar agar dilüsyon metotuna nazaran daha hassastır [120].

1.5.2.3. Agar dilüsyon yöntemi

Bu yöntemde uçucu yağların farklı çözümler kullanılarak belirli bir ısıda ve donmamış agarda çözündürülmesi ile farklı konsantrasyonları oluşturulmaktadır. Petri kaplarına dökümden ve agarın katılmasından sonra farklı miktarlarda inokulum (1-100 µL), nokta veya sürme ekim teknikleriyle agar yüzeyine ekilmektedir. Agar dilüsyon yönteminde farklı ekim yöntemleri kullanılmasına rağmen elde edilen MİK değerleri hemen hemen aynıdır [121].

1.5.2.4. Difüzyon yöntemi

Teknik açıdan kolay bir metottur ancak analiz gerçekleştirilirken tahlil sonucunu değiştirebilecek talimatların dikkate alınması gerekmektedir. Bu yöntemde öncelikle kullanılacak besiyerinin saf olması gerekmektedir. Ayrıca agarın tipi, konsantrasyonu ve petri kabındaki hacmi eşit olmalıdır. Çalışılacak hedef mikroorganizma suşlarının sıvı besiyerindeki süspansiyonlarının konsantrasyonu/bulanıklığı uygun özellikte olmalı ve diskler/kuyucuklar mikroorganizma ekiminin gerçekleşmesinden hemen sonraki 15

dk içinde yerleştirilmeli/açılmalıdır. Son olarak petri kapları ivedilikle inkübasyona bırakılmalıdır [116].

1.5.2.4.1 Disk difüzyon yöntemi

Uçucu yağların antimikrobiyal yetkinliğinin tespitinde sıklıkla kullanılan metot disk difüzyon yöntemidir. Uygulaması basit ve ucuz olan bu metot geliştiricilerinin (Kirby-Bauer) ismiyle de anılmaktadır. Bu yöntem yada test, emiciliği yüksek disklere emdirilen antimikrobiyal unsurun, duyarlılığı araştırılan bakteri, maya vb. gibi mikroorganizmaların ekildiği besiyerine difüze olması prensibine dayanmaktadır. Bu amaçla; agarlı besiyeri üzerine, çalışılacak uygun dilüsyondaki mikroorganizma kültüründen ekim yapılarak agarın mevcut süspansiyonu emmesini sağlamakta, ardından antimikrobiyal etkinliği araştırılacak maddeye emdirilmiş steril diskler yerleştirilmektedir. Uygun sıcaklık ve inkübasyon süreci sonunda inhibisyon zon çapları ölçülerek uygulanan ekstraktın çalışılan mikroorganizma üzerine antimikrobiyal etkisi değerlendirilmektedir ([122]; [123]). Ayrıca, kullanılan ekstraktın bakteri hücre duvarı üzerinde oluşturacağı hasar ve hücre içerik kaybı elektron mikroskopuyla gözlemlenebilmektedir [117].

1.5.2.4.2 Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Çoğu eterik yağın ve mikroorganizma izolatlarının antimikrobiyal faaliyetlerinin saptanmasında yaygın olarak tercih edilen diğer bir yöntem de agar kuyucuk difüzyon metodudur ([124]; [125]). Bu yöntemde, içeriğinde antimikrobiyal özelliği ölçülecek olan maddenin yer aldığı bir mikro kuyu sistemiyle, hedef mikroorganizmanın bulunduğu besiyeri kullanılmaktadır. Besiyerinin üzerinde gerekli olan çap genişliğinde kuyucuklar açılmakta ve açılan bu kuyular bitkiden izole edilen homojen yapıdaki ekstraktlar ile doldurulmaktadır. Kullanılan maddenin temel özellikleri ve yapısı difüze olma oranını veya zamanını etkileyebilmekte ve buna bağlı olarak deney sonuçları da değişebilmektedir. Etüvdeki inkübasyon sürecinin akabinde araştırılan madde antimikrobiyal açıdan etkin ise kuyucukların çevresinde mikroorganizma üremesinin bulunmadığı inhibisyon zonları meydana gelmektedir. Daha sonra kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çap genişlikleri milimetrik ölçümlerle belirlenerek değerlendirilmektedir. Mikro kuyulara bırakılan maddenin artış veya azalış gösteren konsantrasyonlarına paralel olarak, antimikrobiyal aktivite neticesinde meydana gelen

inhibisyon zonu çapı değerlerinin de doğru orantılı bir şekilde artması yada azalması gerekmektedir ([55]; [125]).

1.6. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GS-MS)

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi tekniği genellikle GC/MS kısaltması ile tanımlanan, gaz kromatogramı ile kütle spektroskopisinin özelliklerinin birleştirilmesi sonucunda, maddenin temel yapısında bulunan bileşiklerin belirlenmesi amacıyla kullanılan kombine bir analitik yöntemdir. GC/MS yönteminin çok geniş bir uygulama alanı mevcuttur. Bu yöntem ile saf maddeler dışında kimyasal temelli birçok karışım ile uyuşturucu, gıda, farmakolojik maddeler, patlayıcı kimyası, kozmetik vb. analizleri gerçekleştirilebildiği gibi, son yıllarda havalimanlarında güvenlik nedeniyle ve astronomi araştırmalarında uzay araçlarında bulunan sistem sayesinde gezegen ve gök cisimlerinin atmosfer ve yüzey analizlerinin incelenmesinde kullanılmaktadır. Bu analitik metod sayesinde numunedeki eser miktarlardaki elementler bile saptanabilir. Bu iki farklı metodun kombinasyonu sayesinde çok daha kesin veriler elde edilir. Çok sayıda farklı bileşiğin yer aldığı bir numunenin incelenmesinde bu tekniklerden yalnızca birinin kullanılması ile net bir sonuca varılamayabilir. MS yönteminde yüksek saflıkta numunelerin tercih edilmesi gerekir. Bazı durumlarda, iki molekülden meydana gelen iyonlar benzer yapıda olabilir. GS tekniğinde ise dedektör, bir bileşimdeki alıkonma süreleri eş olan maddeleri ayırt edemez. Bu iki metodun kombine çalışması, iki farklı molekülün hem gaz hemde kütle spektrometrelerinde aynı özellik göstermeleri çok düşük bir ihtimal olduğundan, sonuçlar yüksek kesinlikli veriler şeklinde elde edilir [126].

1.6.1. GS-MS Cihaz Bölümleri

GC/MS analitik yönteminde kullanılan cihazın temel olarak 3 kısmı vardır, bunlar kolon, enjeksiyon ve kütle dedektörü bölümleridir.

1.6.1.1. Enjeksiyon Kısmı

Numune yüklenmesi, kolonda yer alan enjeksiyon bölümü sayesinde gerçekleştirilir. Kolona gönderilen örneğin gaz durumunda olması gereklidir. Bu yüzden enjeksiyon kısmının temel işlevi maddeyi ısıya mağruz bırakmaktır. Dolayısıyla, enjeksiyon bölümünde bir ısıtma çemberi yer alır. Numuneyi buhar haline getirmek amacıyla bu

kısım 200 ila 300 °C aralığındaki sıcaklıkta tutulur. Sıcaklık miktarı az olursa istenilen buharlaşma gerçekleşmez, ısının çok yüksek olması durumunda ise örnekte bozunmalar meydana gelebilir. Numune enjeksiyon bölümünde buhar fazına ulaştıktan sonra sabit akıştaki taşıyıcı bir gaz ile kolona gönderilir. Bu amaçlı kullanılan taşıyıcı özellikteki gaz, kolonla ve örnekle reaksiyona vermeyecek yapıda olmalıdır. Bu nedenle genellikle helyum, azot gibi inert gazlar tercih edilmektedir. Hidrojen de bilinen en iyi taşıyıcı gazlardan biridir. Fakat numuneye karşı reaksiyon verme riski mevcuttur. Seçilen taşıyıcı gaz kullanılan dedektöre de bağlıdır. Örneğin, FID dedektörü ile analizin gerçekleştirilebilmesi için hidrojen atomunun kullanılması zorunludur. Enjeksiyon bölümünün diğer bir görevinde, split ve splitless akışlarını kontrol etmektir. Split akışta, inert yapılu taşıyıcı gaz örneğin bir bölümünü kolona, diğer kısmını farkı bir mekanizma ile cihazın dışına aktarır. Kısaca enjeksiyonlanan örneğin analizi yapan birey vasıtasıyla belirlenen kısmı kolona aktarılmış olur. Bu duruma örneğin derişikliğinin yüksek potansiyellerinde başvurulur. Diğer akış şekli olan Splitless durumunda ise taşıyıcı gaz örneğin tamamını kolona aktarır [127, 128].

1.6.1.2. Kolon Kısmı

Kolonlar genellikle kılcal borular, cam veya paslanmaz çelik kapiler borular şeklindedir. İç çapları 5 mm olup uzunlukları 1 m ile 5 m arasında değişmektedir. 3 farklı kapiler kolon tipi vardır. Destek kaplı kapiler kolonlarda, kapiler duvarlar ince bir destek malzemesi tabakası ile kaplanır ve durağan faz üzerlerine adsorbe edilir. Gözenekli kılcal kolonda, sabit faz olarak gözenekli bir adsorban polimer kullanılır. Duvar kaplı kapiler kolonda, kolon duvarı sıvı sabit bir faz ile kaplıdır [128].

1.6.1.3. Dedektör Kısmı

Gaz kromatograflarında farklı özelliklere sahip dedektörler kullanılmaktadır. Bunlara örnek olarak alev yayılım dedektörleri, argon iyonizasyon dedektörleri, alev iyonizasyon dedektörleri, termal iletkenlik dedektörleri ve elektron tutma dedektörleri verilebilir. Bir GC/MS cihazının MS kısmında, genellikle bir kütle seçici detektör veya bir iyon sensörü tercih edilmektedir [126, 127].

1.6.2. GC/MS Çalışma Prensibi

Cihaza yüklenen madde yada örnek numune, enjeksiyon bölümünde buharlaştıktan sonra taşıyıcı gaz ile kolona aktarılır. Kolon içinde devam ederken, numune içindeki

maddeler kolon içinde farklı zamanlarda alıkonurlar. Bu tutulma zamanı, bileşiğin molekül ağırlığı ve uçuculuğu gibi özelliklerine göre değişkenlik göstermekte ve alıkonma zamanı (RT) olarak isimlendirilmektedir. Kolonun sıcaklığının artmasıyla kolonda alıkonmuş olan moleküller gaz haline geçerek inert yapılı taşıyıcı gaz ile kolonun çıkışına gönderilirler. Alıkonma sürelerine göre birbirlerinden koparak kolondan çıkan bileşikler, MS kısmına gelirler. Bu kısımda bir filamentten elde edilen elektronlarla, elektron bombardımanına mağruz kalırlar. Bu duruma elektron iyonizasyonu (EI) denir. Elektron iyonizasyonu ile meydana gelen iyonlar, kütle/yük oranlarına göre ayrılarak dedektörde tanımlanır ve veriler cihazdan yada bilgisayardan alınır. Bilgisayar hafızasında bulunan veri arşivlerindeki kayıtlı bileşikler ile karşılaştırma sonucu mevcut bileşikler belirlenir [126, 127].

1.6.3. Gaz Kromatografisi Alev İyonlaştırma Dedektörü (GC/FID)

GC/FID, gaz kromatografisi cihazında alev iyonizasyon dedektörünün kullanılmasına bağlı olarak oluşur. FID ölçüm teknolojisinde kullanılan dedektör, numunedeki karbonun yanması sonucu açığa çıkan elektronlar ile gerçekleşen elektriksel akımı belirleyerek, örnekte bulunan bileşiklerin özellikle miktarlarını belirlemeyi sağlar. FID seçici özellikte bir dedektör değildir. Bu sebeple özellikle karmaşık yapılı örneklerde hedef olmayan ve zayıf ayrışma gösteren moleküllerin eliminasyonunu gerçekleştirir. FID dedektörünün prensipteki çalışması, kolondan çıkan gaz fazındaki numunelerin hidrojen alevine gönderilmesi şeklindedir. Alevden uzağa yerleştirilmiş bir elektrot ile alev arasında 100-200 V'luk bir potansiyel farkı vardır. Yanan kömürün yaydığı elektronlardan kaynaklanan elektrik akımı ölçülür. İyonizasyon verimliliği nedeniyle sinyal çıkışı oldukça düşüktür. Ancak gürültü pikleride oldukça düşük olduğu için sinyali etkilemezler. FID dedektörleri, su, helyum, argon, karbon monoksit, nitrojen, karbondioksit, oksijen gibi belirli moleküller dışında karbon içeren tüm bileşikleri tespit etmek için kullanılabilir [127, 129].

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Türkiye pek çok medeniyete ev sahipliği yapmış ve bu nedenle de oldukça zengin kültürel çeşitliliğe sahip bir ülkedir. Bitkilerden farklı amaçlarla yararlanma açısından da dikkat çekici özelliktedir. Cumhuriyetin ilanından hemen sonra bu zenginliğin belirlenmesi adına, 1997 yılına kadar 765 adet araştırma gerçekleştirilmiştir. Araştırmalar bu tarihten itibaren giderek artmış 2008 yılına gelindiğinde ise 89 adet etnobotanik çalışması daha yapılmıştır [61].

Batı Anadolu'da halk tıbbında kullanılan lamiaceae türlerinin incelendiği bir çalışmada, araştırmacılar insanlar arasında tedavi amacıyla olarak kullanılan bitkilerin %83'ünün doğadan toplanarak, %17'sinin ise piyasadan veya bahçelerden sağlandığını tespit etmişlerdir. Ayrıca bitkilerin %51,11'inin gövde, dal gibi toprak üstü bölümünden, %17,78'inin yapraklarından, %13,33'ünün de çiçeğinden faydalandığı belirlenmiştir. Bazı bitki türlerinin kullanımına yönelik sadece tek kayıt bulunurken, en fazla *Rosmarinus*, *Lavandula* ve *Origanum* cins/türlerin kullanımları ile ilgili veriler elde edilmiştir. Bu türler için oluşturulan 90 kayıt içerisinde sırası ile 17, 17 ve 12 kaydın bulunduğunu, halk ilacı olarak kullanılan bitkilerin bazılarının tek kullanılırken, bazılarının diğer bitki türleri ile birlikte yada şeker, bal gibi yan katkı maddeleri ile karıştırılması gerektiği belirlenmiştir [130].

2010 yılında yapılan başka bir çalışmada doğada ve in vitro ortamlarda yetişmiş *Prunella vulgaris* bitkisinin metanol, etanol ve kloroform ekstraktları antimikrobiyal aktivite ve antioksidan özellikleri bakımından karşılaştırılmıştır. Bitki özütleri agar kuyusu difüzyon tekniği ile bazı bakteri suşlarına karşı antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amacıyla farklı çözenlerde incelenmiştir. Ekstraktalardan metanol özütünün, *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı hemen hemen aynı düzeyde etki gösterdiği tespit edilmiştir [131].

Prunella vulgaris bitkisinin metanol, etanol ve sulu ekstraktlarının fenolik ve flavonoid miktarlarının spektrofotometre metodu ile tespit edildiği bir çalışmada ek olarak bitkinin antimikrobiyal etkiye sahip olup olmadığı broth (sıvı ortamda) dilüsyon testi ile incelenmiştir. Analiz bulgularına göre *Prunella vulgaris* ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı en fazla sulu ekstraktta (156,5 mg GAC/g) ardından sırasıyla etanol ve metanol ekstraktındadır. *P. vulgaris* metanol ekstraktının (82.8 mg QE/g) toplam

flavonoid içeriği etanol ekstraktından (22,7 mg QE/g) ve sulu ekstraktan (16.2 mg QE/g) daha fazladır. Ek olarak metanol ve etanol ekstraktlarının antimikrobiyal etkileri sulu ekstraktan daha fazladır. Mikroorganizmaların farklı ekstraktlara karşı olan duyarlılığı patojenitesi ile ilgilidir. Mevcut fenolik madde içeriği ile antimikrobiyal etki arasında pozitif bir korelasyon yoktur. Fenolik ve flavonoid içerik kaynağı olarak *Prunella vulgaris* etanolik ekstresi, antimikrobiyal aktivite açısından değerlendirilebilir [132].

Pakistan'da yapılan bir çalışmada *Prunella vulgaris* bitkisinin etanol ve sulu özütlerini otuz sekiz adet dirençli *E. coli* suşu üzerinde üremeyi inhibe edici etkisi olup olmadığı araştırılmış ve kuyu difüzyon yöntemi ile 4 farklı referans antibiyotiğe karşı karşılaştırılması gerçekleştirilmiştir. Sonuç itibarıyla *Prunella vulgaris* bitkisinin *E. coli* bakterisine karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir [133].

2009 yılında gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise altı farklı bitkinin antimikrobiyal etkileri disk difüzyon yöntemi ile çalışılmıştır. Araştırmacılar çalışılan bitkilerden biri olan *Prunella vulgaris*'in ekstraktlarının *P. aeruginosa*, *B. megaterium*, *P. vulgaris*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. tropicalis*, *C. albicans* ve *C. glabrata* mikroorganizmalarına karşı inhibisyon zonu oluşturduğunu göstermişlerdir [134].

P. vulgaris, *S. nigra*, *C. officinalis* bitkilerinin tüm gövde, dal, meyve ve çiçek kısımlarının etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Araştırmacıların 20 µL'lik etanol ekstraktlarını kullandıkları çalışmada test mikroorganizmaları olarak *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* RSSK 1009, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 8739, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. enteritidis* ATCC 13076 ve *B. cereus* NCTC 7464 kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak seftriakson (30 µg/disk, Oxoid), negatif kontrol olarak ekstraksiyon çözücülerini olan etanol ve metanol kullanılmıştır. Çalışma bulgularına göre *Prunella vulgaris* bitkisinin tüm gövdesinin etanol ekstraktında en yüksek antimikrobiyal aktivitesi *B. subtilis* ATCC 6633 türü üzerinde (10.5±1.72 mm) görülürken, en düşük antimikrobiyal aktivite ise *S. aureus* RSSK 1009 (7.0±1.60 mm) üzerinde görülmüştür [135].

İki araştırmacı, geleneksel tedavilerde kullanılan Lamiaceae familyasına ait Muğla'nın farklı yörelerinden toplanan 23 bitki türünün, 20 µL'lik etanol ekstraktlarının çoklu antibiyotiğe dirençli bakteriler de dahil olmak üzere çeşitli test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini disk difüzyon yöntemiyle araştırmışlardır.

Çalışılan 23 bitki türünden biri olan *Prunella vulgaris* bitkisi en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *S. epidermidis* MU 30 (15 mm) bakterisine karşı gösterirken, en düşük antimikrobiyal aktiviteyi ise *Micrococcus luteus* NRRL B-4375 ve *Streptococcus mutans* CNCTC 8/77 türlerine karşı (6 mm) göstermiştir. Diğer test mikroorganizmaları olan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 11 mm'lik inhibisyon zonu oluştururken, *S. aureus* MU 38 ve *S. aureus* MU 44 suşları ise 10 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuşlardır. Çalışmada kullanılan bir diğer bitki türlerinden biri olan *T. chamaedrys* ssp. *lydium* bitkisi ise en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi yine *S. epidermidis* MU 30 (14 mm) ve *S. aureus* ATCC 25923 (10 mm) bakterilerine karşı gösterirken, diğer türlere ise etki etmediği tespit edilmiştir [136].

T. pulvinatus, *T. zygoides* var. *Lycaonicus*, *T. longicaulis* subsp. *longicaulis* var. *subisophyllus* ve *Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii* bitkilerinden izole edilen eterik yağların, antimikrobiyal ve antikandidal aktivitelerinin incelendiği bir çalışma neticesinde, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris* ve *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı eterik yağların etkili olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca *T. zygoides* var. *lycaonicus* uçucu yağının *Mucor hiemalis* sporlarını güçlü bir şekilde inhibe ettiği fakat *Penicillium clavigerum* ve *Absidia glauca* türleri üzerinde herhangi bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Daha sonra uçucu yağlarının temel bileşenleri GC ve GC/MS analitik yöntemleri ile analiz edilmiştir. Timol oranı *T. longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii* (chemotype I) bitkisinde %56.6, *T. longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii* (chemotypeII) bitkisinde %42.8 ve *T. zygoides* var. *lycaonicus*'da ise %36.9 olarak tanımlanmıştır. Belirlenen ana doğal bileşenler olarak *T. longicaulis* subsp. *longicaulis* var. *Subisophyllus* bitkisinde carvacrol (% 60.0) ve *T. pulvinatus*'da borneol yağı (% 27.9) içerdiği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir [137].

Araştırmacılar İtalya'nın Sicilya ve Campania bölgelerinden topladıkları *Thymus longicaulis* ve *Thymus pulegioides* bitkilerinin antimikrobiyal aktivitesini ve kimyasal kompozisyonunu incelemişler ve sonuçları iki bölge için karşılaştırmışlardır. Disk difüzyon yönteminin kullanıldığı çalışmada antimikrobiyal aktivite tespiti için test mikroorganizmaları olarak *P. aeruginosa*, *S. faecalis*, *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *B. cereus*, *P. mirabilis*, *S. typhi*, türleri kullanılmıştır. Bitki uçucu yağları 10 ila 0.62 mg/mL içeren çözeltiler verecek şekilde dimetil sülfoksit içinde çözdürülmüş ve her

çözeltiden 20 µL emdirilmiş 6 mm steril diskler kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre Sicilya bölgesinden toplanan *Thymus longicaulis* bitkileri Campania bölgesinden toplananlara göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Örneğin; çalışma sonucunda en yüksek antimikrobiyal etkinin görüldüğü *S. aureus* bakterisi Sicilya'dan toplanan *T. longicaulis* bitkisinde 21±1.3 mm'lik (10 mg/ml) inhibisyon zonu oluştururken Campania bölgesinden toplanan *T. longicaulis* aynı konsantrasyonda 18 ± 1.1 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuştur [138].

S. enteritidis, *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus* ve MRSA *S. aureus* bakterilerine karşı kekik otu ve kekik uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili olarak yapılan bir çalışma sonucunda, minimum inhibisyon konsantrasyonu testi kullanılarak analiz edilen bitkilerin uçucu (eterik) yağları 160-640 µg/mL aralığındaki MİK sonuçları ile mikroorganizmaların tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir [139].

Thymus vulgaris bitkisinden elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal etkisi ve kimyasal kompozisyonu yönünden değerlendirildiği bir çalışmada, kekik esansiyel yağlarının, hem gram-negatif hemde gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etkinlikleri analiz edilmiş, biyoimpedans yöntemi, esansiyel yağların antibakteriyel aktivitesinin farklı şekillerde tanımlanması amacıyla uygulanmıştır. Değerlendirilen tüm kekik uçucu yağlarının, analizde kullanılan mikroorganizmaların tamamına karşı etkin bir bakteriyostatik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür [16].

Araştırmacılar Yunanistan'ın çeşitli bölgelerinden topladıkları *Satureja origanum* ve *Thymus longicaulis* L. bitkilerinin esansiyel yağlarının kimyasal karakterini ve aynı zamanda antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Test mikroorganizmaları olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* 0157:H7 NCTC 12900, *Bacillus cereus* FSS 134 *Listeria monocytogenes* ScottA ve *Salmonella enteritidis* PT4 türlerinin kullanıldığı çalışmada, bitkilerin uçucu yağlarının çoğunluğunun yüksek antimikrobiyal etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca yapılan bu çalışmada kekik bitkisinin esansiyel yağında ana kimyasal bileşen olarak karvakrolün (% 60.82) tespit edilmiştir [140].

Aralarında *Thymus vulgaris* bitkisinin 6 farklı kemotipinde bulunduğu 12 bitkinin uçucu yağlarının antifungal aktivitesi Broth dilüsyon yöntemi ile araştırılmış ve test mikroorganizması olarak *Candida albicans* mayası kullanılmıştır. Araştırma neticesinde

C. albicans'a karşı en etkili olan esansel yağın *T. vulgaris* bitkisine ait olduğu belirlenmiştir. Bitkinin ana kimyasal bileşeni ise timol (%63,22) olarak tespit edilmiştir [141].

Yapılan bir çalışmada *Thymus vulgaris* esansiyel yağının ağız biyotasında yer alan bazı patojenik mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi araştırılmış ve *Thymus vulgaris* esansiyel yağı, hidrodistilleme ile hazırlanmıştır. *S. mutans*, *P. gingivalis*, *S. pyogenes*, *C. albicans* ve *A. actinomycetemcomitans* türleri test mikroorganizması olarak kullanılmıştır. Disk difüzyon ve et suyu mikrodilüsyon metodları kullanılarak 16 ila 256 mg/mL konsantrasyonlarda *Tymus vulgaris* yağı içeren steril diskler ölçüldüğünde 7.5 ila 42 mm arasında değişen inhibisyon zonları ile etki ettiklerini belirlenmiştir. 1.9 mg/mL'lik konsantrasyonla *S. pyogenes* ve 3.6 mg/mL'lik konsantrasyonla *S. mutans* türleri en hassas türler olurken, MIC değerleri *C. albicans*, *A. aktinomisetemcomitans* ve *P. gingivalis* türleri için sırasıyla 16.3, 32 ve 32 mg/mL olarak tespit edilmiştir [142].

2014 yılında gerçekleştirilen diğer bir çalışmada araştırmacılar, *T. chamaedrys* özütünün, *S. aureus* bakterisine karşı (inhibisyon çapı-20 mm), referans antibiyotik olarak kullanılan gentamisinden daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Bitki özütünün test edilen diğer bakterilere karşı ise sınırlı aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Mevcut özüt aynı zamanda *C. albicans* üzerinde de etkili olmuştur. (16 ve 22 mm arasındaki inhibisyon zonlarının çapı). Ek olarak, *T. chamaedrys* özütü, bu mantar türüne karşı (inhibisyon çapı – 22 mm), flukonazol ile karşılaştırıldığında yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. Öte yandan *T. chamaedrys*'in etanolik özütü dikkat çekici bir antimikrobiyal aktivite göstermiş ve mikroorganizmalar arasında en duyarlı olanı *S. aureus* bakterisi olmuştur. Çalışmada *T. chamaedrys* bitkisinin etanolik ekstraktında iki hidroksisinamik asit türevi (klorojenik ve p-kumarik asit), bir dihidroksibenzoik asit (gentisik asit), bir flavon (luteolin) ve üç flavonoid glikozit (izokuersitrin, rutin ve kersitrin) tespit edilmiştir [101].

İki endemik Lamiaceae türü olan *Teucrium chamaedrys* C. Koch ve *Ballota rotundifolia* L. bitkilerinin antimikrobiyal ve antioksidatif etkileri yapılan bir çalışma ile incelemiştir. *T. chamaedrys* en yüksek antimikrobiyal etkiyi *Acinetobacter lwoffii* bakterisine karşı gösterirken (MİK değeri 9,00 mg/mL, inhibisyon zonu 26.00±1.73

mm) en düşük antimikrobiyal etkiyi ise *B. cereus* ve *K. pneumoniae* türlerine karşı göstermiştir. (MİK değeri (>72.00 mg/mL)) [102].

Sinop yöresinde yayılış gösteren 15 bitki türünden elde edilen ekstraktların 8 farklı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon metodu ile analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda araştırmacılar elde edilen bitki ekstrelerinin, referans mikroorganizmalara karşı önemli ölçüde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, bu bitkilerin içerdiği antimikrobiyal ajanların, enfeksiyona bağlı hastalıkların tedavisinde bazı sentetik temelli antibiyotiklere rakip yada alternatif olabileceklerini bildirmişlerdir [143].

G. Afrika'da halk tıbbında kullanılan 21 farklı bitkinin metanol ve sulu özütlerinin antimikrobiyal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, bitki özütlerinin önemli bir kısmının Gram-pozitif bakterilere karşı daha yüksek inhibitör etki gösterdiği, Gram negatif bakterilerde ise *K. pneumoniae* bakterisine karşı özütlerden hiçbirinin aktivite göstermediği, yalnızca bitkilerin metanol özütlerinin *E. coli* bakterisine karşı anlamlı bir antimikrobiyal aktivite sergilediği kaydedilmiştir [144].

6 ayrı bitki türünden (kekik, yenibahar, kimyon, nane, karabiber, sirmo) elde edilen esansiyel yağların, *M. luteus*, *S. aureus*, *L. plantarum*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *L. sake* bakteri suşlarına karşı sergiledikleri antimikrobiyal etkinin analiz edildiği bir çalışmada, kekik yağı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir [145].

Diğer bir çalışmada araştırmacılar medikal özellikli bazı bitki özütlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin Gram (+) bakteri ve mantar türlerine karşı Gram (-) bakterilerden daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir [24].

2002 yılında yedi farklı bitki ekstraktının (kekik, kimyon, mersin yaprağı, mercanköşk, defne ve ölmez çiçek) *E. coli* O157:H7 bakterisinin üremesine karşı olan ekisi üzerine yapılan bir çalışmada, ekstrakt eldesi için metanolik distilasyon, uygulamalarda ise kağıt disk difüzyon yöntemi tercih edilmiştir. En yüksek antimikrobiyal aktiviteyi mercanköşkü ve kekik bitkileri gösterirken, defne ve ölmezçiçek türlerinin üremeyi stimule ettiği belirlenmiştir. Çalışma ile *E.coli* O157:H7 strainine karşı çalışmada deneyleyen bitki ekstraktlarının antimikrobiyal amaçla kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır [146].

Origanum majorana L., *Origanum onites* L., *Origanum vulgare* L. olmak üzere üç farklı mercanköşk ve *Thymus vulgaris* L. ile *Thymus serpyllum* L. kekik türlerinin antimikrobiyal etkilerinin incelendiği bir çalışma sonucunda, bitkilerin *E. coli* O157:H7 ATCC 33150, *E. coli* ATCC 25922, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501 ve *S. aureus* ATCC 2392 patojenlerine karşı yüksek seviyelerde antimikrobiyal aktivite sergiledikleri gözlenmiştir. Kâğıt disk difüzyon metodunun kullanıldığı çalışmada, bitki hidrolatlarına karşı en hassas patojenin *S. aureus* bakterisi olduğu, patojenik özellikteki 4 bakteriye karşı en yüksek ve anlamlı inhibisyon zonu gösteren bitki türlerinin ise *O. majorano* L. ve *O. onites* L. olduğu belirlenmiştir. Çalışılan bitki hidrolatlarının arasında en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *Origanum onites* L. bitkisi ortalama 30 mm'lik inhibisyon zonu oranıyla *S. aureus* bakterisine karşı gösterirken, en düşük inhibitif etkiyi ise kekik türlerinin 12 mm'lik inhibisyon çapı oranı ile *E. coli* O157:H7 bakterisine karşı gösterdikleri tespit edilmiştir. *Origanum onites* L. bitkisinden izole edilen hidrolatın *E. coli* bakteri türüne karşı 17 mm'lik, *E. coli* O157:H7 bakterisine karşı ise 19 mm'lik inhibisyon zonu değerleriyle etkili olduğu saptanmıştır. Söz konusu bitkiler gıda ve içecek üretiminde yaygın olarak kullanılmakta ve gıda kaynaklı patojenlere karşı en anlamlı antimikrobiyal aktiviteyi *O. onites* L. bitkisinin gösterdiği anlaşılmaktadır [25].

16 farklı bitki türünden elde edilen metanol ve aseton ekstraktlarının disk difüzyon metodu ile *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella infantis* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitesinin denendiği bir çalışmada *Cinnamomum cassia*, *Ruta graveolens*, *Azadirachta indica*, *Thymus serpyllum*, *Zingiber officinale* ve *Rumex nervosus* ekstraktlarına karşı en hassas bakteri türününün *Bacillus cereus* olduğu, *C. cassia* bitkisinin ekstraktının ise yalnızca *E. coli* ve *S. infantis* üzerinde antimikrobiyal etkili olduğu tespit edilmiştir [147].

İran'nın Aligudarz bölgesinde (Loristan) tedavi edici özellikleri nedeniyle kullanılan ve Lamiaceae familyasında yer alan bazı bitki türlerinin fitokimyasal yapılarının analiz edildiği bir çalışmada, Lamiaceae familyasından birçok bitkiden dünyanın pek çok yerinde geleneksel halk ilacı olarak yararlanıldığını ve bu familyadan elde edilen ikincil metabolitlerinde dikkat çekici biyolojik aktivitelere haiz olduğu rapor edilmiştir. Araştırmada, Loristan'a bağlı olan Aligudarz yöresinde halk arasında tedavi edici özellikleri yoğun olarak kullanılan Lamiaceae familyasında bulunan bazı bitkilerin fitokimyasal analizi gerçekleştirilmiştir. Bitkilerde; flavonoidler, saponinler,

alkaloidler, taninler, antrakinon ve glikozitler gibi kimyasal bileşiklerin mevcudiyeti belirlemek için analizler gerçekleştirilmiştir. Bitkilerin en yaygın nazofarenjit türevi rahatsızlıklarda ve sindirim sistemi hastalıklarının tedavi edilmesinde kullanıldığı yada aromatik özelliklerinden fayda sağlandığı tespit edilerek, araştırmada incelenen bitki türlerinin, yeni nesil ilaçlar geliştirmek için potansiyel birer hedef olarak değerlendirilebileceği belirtilmiştir [148].

Araştırmacıların yapmış oldukları bir çalışmanın bulguları, Lamiaceae familyasının *Origanum* ve *Thymus* cinslerine ait türlerinin uçucu yağ bileşenlerinin antifungal ve antibakteriyel aktiviteye sahip olduklarını ortaya çıkarmıştır. Aynı çalışmada bu iki bitkinin *Salmonella typhimurium* üzerinde bir mutasyon etkisi gözlenmediği ve bu uçucu yağların gıda koruyucusu olarak güvenle kullanılabilmesi de gösterilmiştir [149]. 46 adet tedavi edici özelliği olan ve/yada baharat olarak kullanılan bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus*, *S. anatum* ve *E. coli* gibi gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalara karşı test edilmiştir. Fenolik madde içeriklerinin toplamında analiz edildiği ekstraktlardan, antimikrobiyal aktivitesi yüksek olarak belirlenen türlerin çoğunda fenolik madde seviyesi de yüksek olarak saptanmıştır. Baharat özellikteki ekstraktlara karşı Gram-pozitif bakterilerin, Gram-negatif bakterilerden daha duyarlı olduğu, araştırılan mikroorganizmalardan direnç geliştirme indeksinin en yüksek olduğu *E. coli*, en hassas olanının ise *S. aureus* bakterisi olduğu belirlenmiştir [150].

Bir çalışmada kurutulmuş ve öğütülmüş olan *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys*, *T. orientale* L. var. *puberulens* ve *T. chamaedrys* subsp. *lydium* bitkilerinin uçucu yağları GC-MS yöntemi ile analiz edilmiş, analiz sonucunda sırasıyla 37, 36 ve 33 tane bileşik tanımlanmıştır [151].

2017 yılında Pakistan'da yapılan bir çalışmada *Thymus vulgaris* bitkisinin uçucu yağının antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Quetta Bolan Tıp Kompleksi Hastanesi'nden (Pakistan) temin edilen *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *E. coli*, *Streptococcus* ve *Pseudomonas* bakteri kültür suşları test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Test mikroorganizmaları arasında en yüksek antimikrobiyal etki 22 mm inhibisyon zonu çapıyla *E.coli* bakterisine karşı ölçülürken en düşük antimikrobiyal etkiyi ise 8 mm'lik zon çapıyla *Streptococcus*'a karşı ölçülmüştür [152].

Bilecik yöresinde yetişen ve tıbbi amaçlarla yaygın bir biçimde kullanılan *Lavandula stoechas* subsp. *cariensis*, *Hedera helix*, *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys*, *Plantago major* ve *Teucrium* bitki özütleri, biri mantar ve yedisi bakteri olmak üzere sekiz farklı mikroorganizma kültürüne karşı antimikrobiyal etkisi dilüsyon metodu kullanarak test edilmiş, *Plantago major* ve *Lavandula stoechas* subsp. *cariensis* etanol özütlerinin *Staphylococcus aureus* bakteri kültürüne karşı en yüksek mikrobiyal etkiyi sergilediği belirlenmiştir. (MİK: 19,52 µg/mL) Çalışmada *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* ve *Teucrium polium* petrol eteri özütlerinin ise *Klebsiella pneumoniae* bakterisine karşı orta seviyede antimikrobiyal aktivite sergilediği gözlemlenirken (MİK: 156,2 µg/mL), elde edilen bitki özütlerinin hiçbirinin *C. albicans* mayasına karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir [153].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 MATERYAL

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bitkiler

Lamiaceae familyası üyesi üç türün (*Prunella vulgaris* L., *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl., *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L.) Düzce Üniversitesi'nin Konuralp yerleşkesinde gerçekleştirilen saha çalışmaları sırasında çişeksiz toprak üstü bölümleri toplanmış ve Çanakkale 18 Mart Üniversitesi öğretim üyesi Prof. Dr. Ersin Karabacak tarafından teşhis edilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bitkilere ait lokalite bilgileri

Çalışılan Bitki Taksonu	Yükseklik	Koordinatlar	Toplanma Tarihi
<i>Prunella vulgaris</i>	250 m	40°54'26"K, 31°11'7"D	30/05/2020
<i>Thymus longicaulis</i>	196 m	40°54'9"K, 31°10'59"D	22/05/2020
<i>Teucrium chamaedrys</i>	280 m	40°54'24.19"K, 31°11'12.18"D	27/05/2020

Çalışmada kullanılan bitkilerden *Prunella vulgaris* L. bitkisinin arazideki genel görünüşü Şekil 3.1'de, *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin arazideki genel görünüşü Şekil 3.2'de, *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin arazideki genel görünüşü ise Şekil 3.3'te verilmiştir.



Şekil 3.1. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin arazideki genel görünüşü, (Orijinal)



Şekil 3.2. *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin arazideki genel görünüşü, (Orijinal)



Şekil 3.3. *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin arazideki genel görünüşü,(Orijinal)

1.1.2.Çalışmada Kullanılan Test Mikroorganizmaları

Gerçekleştirdiğimiz araştırmada *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* bakteri kültürleri ve *Debaryomyces hansenii*, *Candida tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, maya kültürleri kullanılmıştır. Bakteri ve maya kültürleri, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Bölümü Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

1.1.3.Çalışmada Kullanılan Besi Ortamları

Çalışmada kullanılacak hedef mikroorganizmaların primer kültürlerinin 24 saatlik proseslerini hazırlamak maksadıyla Mueller Hinton Sıvı (MHB) (Oxoid) besiyeri ve antimikrobiyal aktiviteyi çalışmak için Mueller Hinton Agar (MHA) (Oxoid) besiyeri kullanılmıştır.

1.1.4.Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Araştırmada kullanılan bitki türlerinin soxhlet aygıtında ekstraktlarının elde edilmesi amacıyla çözen olarak etanol (Merck, Darmstadt), kloroform (Merck, Darmstadt) ve etil asetat (Merck, Darmstadt) tercih edilmiştir.

1.1.5.Çalışmada Kullanılan Diskler ve Mukayese Antibiyotikleri

Deneyde hazırlanan bitki ekstraktlarının, disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal etki seviyelerini ölçmek için 6 mm çapında sterilize emici disklerden (Bioanalyse) faydalanılmıştır. Referans antibiyotikleri olarak bakteriler için AZM₁₅ (Azithromycin (15 µg/disc)), E₁₅ (Erythromycin (15 µg/disc)), CN₁₀ (Gentamicin (10 µg/disc)), TOB₁₀ (Tobramycin (10 µg/disc)), S₁₀ (Streptomycin (10 µg/disc)), CIP₅ (Ciprofloxacin (5 µg/disc)), TE₃₀ (Tetracycline (30 µg/disc)), NET₃₀ (Netilmicin (30 µg/disc)), IPM₁₀ (Imipenem (10 µg/disc)), (Bioanalyse) ile funguslar için KTC₁₀ (Ketoconazole (10 µg/disc)), MCZ₁₀ (Miconazole (10 µg/disc)), FLU₂₅ (Fluconazole (25 µg/disc)), NY₁₀₀ (Nystatin (100 µg/disc)) CLT₁₀ (Clotrimazole (10 µg/disc)) (Bioanalyse) antibiyotikleri kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanışı

Çalışmada kullanılacak *Prunella vulgaris* L., *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl., *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkilerinin çiçekli toprak üstü kısımları herbaryum tekniklerine uygun olarak kurutulmuştur. Kurutulmuş bitkiler teşhisleri gerçekleştirildikten sonra aseptik koşullar altında bir karıştırıcı (mekanik öğütücü) kullanılarak toz haline getirilmiştir. Her bitki materyali (15 g), Soxhlet aygıtı kullanılarak % 96'lık 180 mL etanol (Merck, Darmstadt) ile ekstrakte edilmiştir. Aynı teknik 12 saatlik ekstraksiyon işleminden sonra diğer solventler olan kloroform ve etil asetat çözenleri ile her bitkiye ayrı ayrı uygulanmıştır. Bitkinin etanol, kloroform ve etil asetat ekstraktları etiketli şişelere konulmuş ve çalışmada kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2 Mikroorganizma Kùltürlerinin Hazırlanması

Düzce Üniversitesi Tıp Fakùltesi'nin Tıbbi Biyoloji bölümünün laboratuvarı'ndan temin edilen mikroorganizmaların, Muller Hinton Broth (MHB) (Oxoid) besiyerine ekimleri yapılmıştır. Ardından bakteriler 36-37 C'de 24 ila 48 saat aralığında, mayalar ise 25-27 C'de 48 ila 72 saatlik aralıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda ise mikroorganizma kùltürleri daha sonra çalışmada kullanılmak amacıyla +4 C'de buzdolabına kaldırılmıştır.

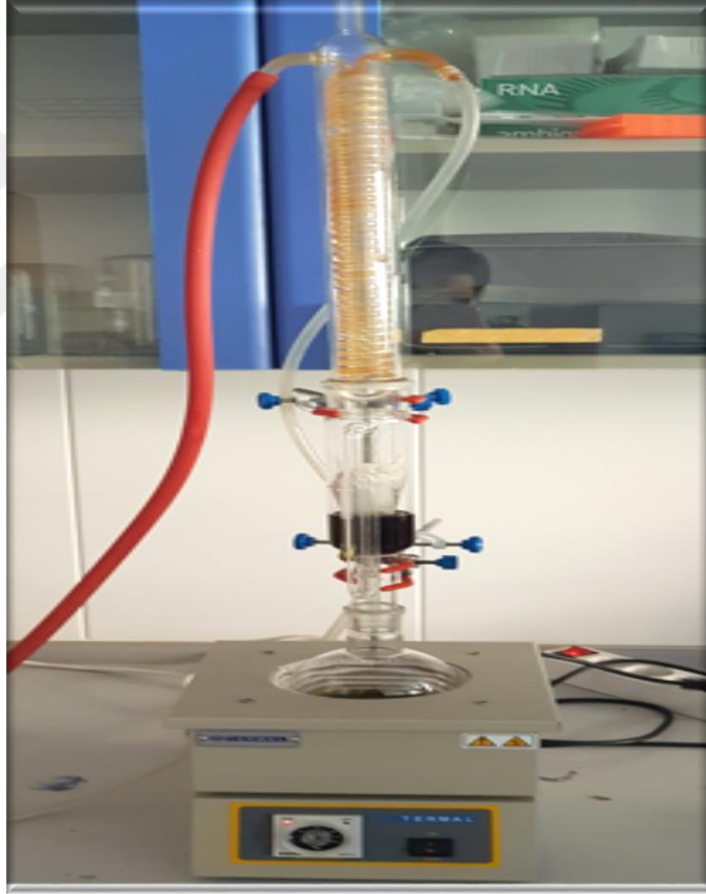
3.2.3 Disk Difüzyon Yöntemi

İnokülasyonun gerçekleştirileceği petrilere 20 mL Muller Hinton Agar (MHA) (Oxoid) dökülerek aseptik koşullarda kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra ekimi gerçekleştirilen mikroorganizmalardan hacim ayarlı mikropipet ile uygun şartlarda 100 µL ekim yapılmıştır. L baget kullanılarak ekimin eşit bir şekilde besiyeri üzerinde dağılması sağlanmıştır. Petriler oda sıcaklığında 15-20 dk kurumaya bırakılmıştır. 6 mm'lik steril boş disklere (Bioanalyse) mikropipet ile kontaminasyon önlemleri altında 50 ve 75µL olacak şekilde aktivitesi saptanacak olan bitkinin ekstraktları emdirilmiştir. Ardından diskler ekimin gerçekleştirildiği MHA'lı besiyeri kaplarında uygun mesafelerde ve kullanılan üç ektrat sayısına uygun bir şekilde üç bölgeye steril bir pens yardımıyla yerleştirildi. Kullanılan her bir bakteri ve maya kùltürü için 50 ve 75µL'lik ekstrakt konsantrasyonunda disk yerleştirilmiştir. Her diskin tüm yüzeyinin agar yüzeyine dokunması sağlanmıştır. Bakteriler 35-37 °C'de 24-48 saat, mayalar 25-27 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapları milimetrik olarak ölçülüp kaydedilmiştir [154]. Yalnızca çözücü ihtiva eden diskler negatif kontrol amacıyla kullanılırken, referans antibiyotik diskler pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Çalışmaların tamamı üç tekrarlı olarak çalışılmıştır.

3.2.4. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GS-MS) Yöntemi

Bu çalışmada, *Prunella vulgaris* L., *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl., *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkilerinden elde edilen etanol ekstraktlarının ana bileşik yapıları GC/MS analitik metodu kullanılarak incelenmiştir. (Agilent-8890) Cihazda enjektör sıcaklığı 350 °C ayarlanmış ve dakikada 1 mL olacak

şekilde taşıyıcı gaz olarak helyum (He) kullanılmıştır. Enjektör hacmi 1 mikrolitre olmakla birlikte enjektör modu 10:1 split şeklindedir. Fırın ortam sıcaklığı dakikada 4 derecelik artışla 40°C' den 150 °C'ye, dakikada 3 derecelik artışla 150 °C'den 180 °C'ye, dakikada 2 derecelik artışla 180 °C'den 230 °C'ye ve dakikada 1 derecelik artışla 230 °C'den 280 °C'ye kadar olacak şekilde kademeli ve kontrollü bir şekilde gerçekleşmiştir. GC/MS'de elektron iyonizasyonu neticesinde oluşan iyonlar, kütle/yük oranlarına göre ayrılarak dedektörde tutulmuş ve bunun sonucunda elde edilen bilgiler cihaz hafızasından alınmıştır. Nist ve Wiley arşivlerindeki en güncel veriler ile mevcut bulguların karşılaştırılması neticesinde bileşikler belirlenmiştir.



Şekil 3.4. Çalışmada bitki ekstraksiyonu için kullanılan Soxhlet ekstraktörü (Orijinal)

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1.1. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

4.1.1.1. *Prunella vulgaris* L. Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Prunella vulgaris L bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan çalışmanın ortaya konulan verileri Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

İnceleme sonuçlarına göre, *Prunella vulgaris* bitkisinin etanol ekstraktından 6 mm'lik steril disklerle emdirilen 50 µL'lik konsantrasyonunun *S. typhimurium*, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *C. neoformans* ve *D. hansei* mikroorganizma kültürlerine yönelik hiçbir antimikrobiyal etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Yine 50 µL'lik konsantrasyonda *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* ve *P. vulgaris* bakteri kültürlerine karşı az veya orta seviye antimikrobiyal aktivitesinin olduğu saptanırken, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *K. marxianus* maya kültürlerine karşı orta ve iyi seviyede antimikrobiyal aktivite saptanmıştır.

Aynı bitkinin 75 µL'lik etanol konsantrasyonunun *S. typhimurium*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. pyogenes*, *B. subtilis*, *C. neoformans* ve *D. hansenii* türlerine karşı hiçbir antimikrobiyal etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Yine aynı konsantrasyonda *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *S. aureus* bakteri kültürlerine karşı orta seviyede antimikrobiyal aktivitesinin olduğu saptanırken, *K. pneumoniae* bakterisi ve *C. albicans*, *K. marxianus*, *C. tropicalis* maya kültürlerine karşı iyi ve yüksek seviyede antimikrobiyal etki görülmüştür.

Etanol ekstratının 50 µL'lik konsantrasyonunun en yüksek inhibisyon zonunu 12 mm'lik çap oranıyla *P. aeruginosa* bakterisi gösterirken, mukayese antibiyotiklerine nazaran en anlamlı antimikrobiyal etkiyi 9 mm'lik zon çapı ile *K. marxianus* maya kültürü göstermiştir. 75 µL'lik etanol ekstratında ise en yüksek inhibisyon zonu oranını 14 mm'lik çap genişliği oranıyla yine *P. aeruginosa* bakterisi gösterirken, referans antibiyotiklere göre en anlamlı antimikrobiyal etkiyi ise 12 mm'lik çap ile *C. albicans* ve 13 mm'lik çap oranıyla *K. marxianus* maya kültürleri göstermiştir.

P. vulgaris L. bitkisinin 50 µL'lik kloroform ekstraktı *E. coli* ve *P. aeruginosa* bakteri kültürlerine karşı çok az ve orta seviyede antimikrobiyal etki gösterirken, çalışılan diğer bakteri ve mayalar kültürlerine karşı hiçbir antimikrobiyal etki göstermemiştir.

Bitkinin 75 µL'lik kloroform ekstraktı *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* bakteri kültürlerine karşı çok az ve orta seviyede antimikrobiyal etki gösterirken, *K. pneumoniae* bakterisi iyi seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Ekstrakt çalışılan diğer bakteri ve maya kültürlerine karşı ise hiçbir antimikrobiyal etki göstermemiştir.

Kloroform ekstratının 50 µL'lik konsantrasyonunun en yüksek inhibisyon zonunu 8 mm'lik inhibisyon zonu çapıyla *P. aeruginosa* bakterisi oluştururken, *E. coli* 7 mm'lik zon ile çok az antimikrobiyal etki göstermiştir. Çalışılan diğer mikroorganizmalar ise hiçbir şekilde antimikrobiyal etki göstermemiştir. Aynı ekstraktın 75 µL'lik steril disklere emdirilen çözeltilerinde ise en yüksek inhibisyon zonunu 10 mm'lik zon çapı ile *S. aureus* bakterisi gösterirken, mukayese antibiyotiklerine nazaran en anlamlı antimikrobiyal etkiyi 8 mm'lik zon çapı ile *K. marxianus* maya kültürü göstermiştir. *P. aeruginosa* 9 mm, *E. coli* ise 7 mm'lik inhibisyon zonu çapıyla çok az antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çalışılan diğer mikroorganizmalar ise inhibisyon zonu oluşturamamıştır.

Bitkiye ait 50 µL konsantrasyondaki etil asetat ekstraktı *E. coli* bakterisine karşı az seviyede antimikrobiyal etki gösterirken, çalışılan diğer bakteri ve maya kültürlerine karşı antimikrobiyal etki göstermemiştir. Aynı ekstraktın 75 µL'lik konsantrasyonu ise *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* bakteri kültürlerine karşı çok az ve orta seviyede antimikrobiyal etki gösterirken *K. pneumoniae* bakterisi iyi seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. 75 µL'lik ekstrak çalışılan diğer bakteri ve maya kültürleri üzerinde ise antimikrobiyal bir etki oluşturmamıştır.

50 µL konsantrasyondaki etil asetat ekstraktı en yüksek inhibisyon zonunu 8 mm ile *E. coli* bakterisine karşı gösterirken, çalışılan diğer bakteri ve maya kültürlerine karşı hiçbir antimikrobiyal etki göstermemiştir. Bitkinin 75 µL'lik etil asetat ekstraktında ise 10 mm'lik çap oranı ile en yüksek inhibisyon zonunu *S. aureus* bakterisi oluşturmuştur. Referans antibiyotiklerine esas en anlamlı antimikrobiyal etkiyi ise 9 mm'lik zon çapıyla *K. pneumoniae* bakterisi göstermiştir. *P. aeruginosa* ve *E. coli* 8 mm'lik zon çapı oranı ile az seviyede antimikrobiyal aktivite gösterirken diğer mikroorganizmalar ise hiçbir şekilde antimikrobiyal etki göstermemiştir.

4.1.1.2. *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi

T. longicaulis bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan çalışmanın bulguları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

T. longicaulis bitkisinin 50 µL’lik etanol ekstraktının *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *S. pyogenes*, *C. tropicalis*, *K. marxianus*, *D. hansenii* mikroorganizma kültürlerine karşı herhangi bir antimikrobiyal etkisi tespit edilmemiştir. Aynı ekstraktın *E. coli*, *P. vulgaris*, *C. neoformans* türlerine karşı düşük, *S. aureus* ve *B. subtilis* bakterilerine orta, *C. albicans* ve *C. tropicalis* mayalarına ise yüksek seviyede antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bitkinin 75 µL’lik etanol ekstraktı *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *C. tropicalis*, *K. marxianus*, *D. hansenii* bakteri ve maya kültürlerine karşı ise hiçbir şekilde antimikrobiyal aktivite sergileyememiştir. Yine aynı konsantrasyondaki etanol ekstraktı *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* bakterilerine orta, *B. subtilis* için iyi seviyede etki gösterirken, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. neoformans* türlerine karşı yüksek antimikrobiyal aktivite ile etkili olmuştur.

Etanol ekstraktının 50 µL’lik konsantrasyonunun en yüksek inhibisyon zonunu 10 mm’lik çap ile *S. aureus*, *B. subtilis* bakterileri ile *C. albicans* maya kültürü oluşturmuştur. *E. coli* 8 mm, *P. vulgaris* 7 mm’lik zon çapları ile az seviyede etki gösterirken *C. neoformans* ise 7 mm’lik inhibisyon çapı oranıyla mukayese antibiyotiklerine göre anlamlandırıldığında iyi seviyede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çalışılan diğer bakteri ve maya kültürlerine karşı hiçbir antimikrobiyal etki göstermemiştir. Bitkinin 75 µL’lik etanol çözeltilisinin en yüksek inhibisyon zonunu 15 mm’lik inhibisyon zonu çapı oranıyla *B. subtilis* bakterisi gösterirken, çalışmada kullanılan antibiyotikler referans alındığında en belirgin anlamlı etkiyi 12 mm’lik zon çapı oranlarıyla *C. albicans* ve *C. neoformans* maya kültürleri göstermiştir.

Bitkinin 50 µL’lik kloroform ekstraktında *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *S. pyogenes*, *S. typhimurium*, *S. aureus*, *D. hansenii*, *C. albicans* *C. tropicalis*, *K. marxianus* bakteri ve maya kültürleri herhangi bir antimikrobiyal etkinlik göstermezken, en yüksek antimikrobiyal etkiyi *B. subtilis* bakterisi göstermiştir. Bitkinin 75 µL’lik kloroform ekstraktında en etkin antimikrobiyal aktiviteyi *P. vulgaris* bakterisi gösterirken, *E. coli* az, *B. subtilis* ise orta seviyede antimikrobiyal aktivite

sergilemiştir. Çalışılan diğer bakteri ve maya kültürleri ise antimikrobiyal etki göstermemiştir.

50 µL'lik kloroform çözeltilisinde en yüksek inhibisyon zonunu 10 mm'lik çap oranıyla *B. subtilis* bakterisi oluşturmuştur. Aynı çözeltilinin 75 µL'lik konsantrasyonunda ise *B. subtilis* bakterisi 13 mm'lik çap genişliği ile en yüksek inhibisyon zonunu oluştururken, *E. coli* 8 mm'lik inhibisyon zonu ile az seviyede etkili olmuştur. Çalışmada kullanılan antibiyotikler ile karşılaştırıldığında en anlamlı antimikrobiyal aktiviteyi ise 10 mm'lik çap oranıyla *P. vulgaris* bakterisi oluşturmuştur.

T. longicaulis bitkisinin 50 µL'lik etil asetat ekstraktında en yüksek antimikrobiyal etkiyi *B. subtilis* bakterisi gösterirken çalışılan diğer bakteri ve maya kültürlerinden hiçbir mikroorganizma bu ekstrakt çözeltilisinde inhibisyon zonu oluşturamamıştır. 75 µL'lik steril disklerin kullanıldığı çalışmada ise en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *C. tropicalis* maya kültürü gösterirken, *P. vulgaris* ve *S. aureus* bakterileri düşük, *B. subtilis* ise orta seviyede antimikrobiyal etki oluşturmuştur.

50 µL'lik etil asetat ekstraktında en yüksek inhibisyon zonunu 10 mm ile *B. subtilis* bakterisi oluştururken, *P. vulgaris* ve *S. aureus* bakterileri 7 mm'lik çap oranlarıyla düşük seviyede antimikrobiyal etki oluşturmuştur. Antimikrobiyal aktiviteye referans olması amacıyla kullanılan antibiyotik zon çapı oranlarıyla karşılaştırdığımız da ise en anlamlı antimikrobiyal aktiviteyi 8 mm'lik zon çapıyla *C. tropicalis* maya kültürü oluşturmuştur.

4.1.1.3. *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Düzce ilinde dağılım gösteren *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin antimikrobiyal etkinliğine yönelik gerçekleştirilen araştırmanın verileri Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız üçüncü bitki türü olan *Teucrium chamaedrys* 'ın etanol ekstratının 50 µL'lik konsantrasyonunun *E. faecalis*, *S. typhimurium*, *B. cereus*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *E. coli*, *B. subtilis*, *D. hansenii*, *C. albicans* ve *C. neoformans* mikroorganizma kültürlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Yine aynı konsantrasyonda *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakteri kültürlerine karşı orta seviyede antimikrobiyal etki saptanırken, *C. tropicalis*'e karşı iyi

K. marxianus'a karşı ise yüksek seviyede antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. Bitkinin 75 µL'lik etanol ekstraktı *P. aeruginosa*, ve *S. aureus* bakterilerine karşı orta seviyede antimikrobiyal etki gösterirken, *C. tropicalis* ve *K. marxianus*'a karşı ise yüksek sevide antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Çalışılan diğer bakteri ve maya kültürleri ise 75 µL'lik etanol çözeltisine karşı hiçbir antimikrobiyal etki göstermemiştir.

Etanol ekstratının 50 µL'lik çözeltisinin emdirildiği steril diskler ile yapılan çalışma bulgularına göre en yüksek inhibisyon zonunu 12 mm'lik zon çapları ile *P. aeruginosa* ve *K. marxianus* türleri oluşturmuştur. *S. aureus* bakterisi 11 mm'lik zon çapı oranıyla orta seviyede, *C. tropicalis* 8 mm'lik çap oranı ile mukaye antibiyotiklere nazaran iyi seviyede bir etki oluştururken, mukayese antibiyotiklerine göre en manidar antimikrobiyal aktiviteyi 12 mm'lik inhibisyon zonu ile *K. marxianus* maya kültürü göstermiştir. Etanolün 75 µL'lik konsantrasyonunda ise en yüksek antimikrobiyal etkiyi 17 mm'lik inhibisyon zonu ile *K. marxianus* türü göstermiştir. Bu aynı zamanda çalışmada tespit edilen en yüksek inhibisyon zonu oranıdır. *P. aeruginosa* 12 mm ve *S. aureus* 14 mm'lik inhibisyon zonu çapı ile orta seviyede antimikrobiyal etki gösterirken, *C. tropicalis* 13 mm'lik zon çapı ile yüksek seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Mukayese antibiyotiklerin oluşturduğu inhibisyon zonlarına göre en yüksek antimikrobiyal etkiyi *K. marxianus* maya kültürü göstermiştir.

Bitkinin 50 µL'lik kloroform ekstraktında *P. aeruginosa* bakterisi çok az antimikrobiyal etki oluştururken, *K. marxianus* maya kültürü yüksek seviyede antimikrobiyal etki oluşturmuştur. Çalışılan diğer bakteri ve maya kültürleri ise 50 µL'lik kloroform konsantrasyonuna karşı herhangi bir antimikrobiyal etki gösterememiştir. Yine bitkiye ait 75 µL'lik kloroform çözeltisi *P. aeruginosa* bakterisine karşı az, *K. marxianus* maya kültürüne karşı ise yüksek seviyede etki göstermiştir. Diğer mikroorganizmaların hiçbiri bu konsantrasyonda inhibisyon zonu oluşturmayı başaramamıştır.

50 µL'lik kloroform ekstraktında en yüksek inhibisyon zonunu 16 mm ile *K. marxianus* göstermiştir. *P. aeruginosa* bakterisi 7 mm'lik inhibisyon zonu ile çok düşük seviyede etki gösterirken, antibiyotik karşılaştırmasına göre en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *K. marxianus* maya kültürü vermiştir. 75 µL'lik kloroform ekstraktında ise en yüksek inhibisyon zonunu 13 mm ile yine *K. marxianus* göstermiştir. Burada en dikkat çekici nokta ise maya kültürünün 50 µL'lik çözeltide 75 µL'lik kloroform çözeltisine göre

daha yüksek bir antimikrobiyal etki göstermiş olmasıdır. *P. aeruginosa* bakterisi 9 mm'lik inhibisyon zonu ile az seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir. Antibiyotiklerin oluşturduğu inhibisyon zonlarını dikkate aldığımızda en yüksek antimikrobiyal etkiyi *K. marxianus*'un oluşturduğu tespit edilmiştir.

Bitkiden elde edilen 50 µL'lik etil asetat ekstraktı *P. aeruginosa* türüne karşı düşük seviyede antimikrobiyal etki sağlarken, *K. marxianus* mayası yüksek seviyede antimikrobiyal aktivite sağlamıştır. Çalışılan diğer bakteri ve maya kültürleri ise 50 µL'lik etil asetat konsantrasyonuna karşı herhangi bir antimikrobiyal etki gösterememiştir. 75 µL'lik etil asetat ekstraktı ise yine benzer şekilde *P. aeruginosa* mikroorganizmasına karşı az seviyede inhibisyon etkisi oluştururken, *K. marxianus* iyi seviyede antimikrobiyal etkili inhibisyon zonu oluşturmuştur. 75 µL'lik etil asetat çözeltisinde de, 50 µL'lik konsantrasyonda olduğu gibi, çalışılan diğer bakteri ve maya kültürlerinden hiçbir tanesi antimikrobiyal etkiye sahip inhibisyon zonu oluşturma başarısı gösterememiştir.

50 µL'lik etil asetat ekstraktına karşı en yüksek inhibisyon zonunu 11 mm ile *K. marxianus* oluşturken, 7 mm'lik zon çapı ile *P. aeruginosa* düşük seviyede zon oluşumu göstermiştir. 75 µL'lik etil asetat ekstraktında ise en yüksek inhibisyon zonunu 9 mm ile *P. aeruginosa* ve *K. marxianus* türleri oluşturmuştur. Burada da kloroform ekstarktında olduğu gibi *K. marxianus* türü açısından 50 µL'lik etil asetat ekstraktı 75 µL'lik olan ekstrakta göre daha yüksek bir antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Çalışmada kullandığımız referans antibiyotikler ile karşılaştırma yaptığımızda en etkili antimikrobiyal aktiviteyi, diğer örneklerde de olduğu gibi *K. marxianus* mayası oluşturmuştur.

Çizelge 4.1. *Prunella vulgaris* L. bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon Zonları (mm)*					
	Ekstraktlar					
	Etanol		Kloroform		Etil Asetat	
	(50 µL)	(75 µL)	(50 µL)	(75 µL)	(50 µL)	(75 µL)
Bakteriler						
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Escherichia coli</i>	8	11	6	8	6	6
<i>Salmonella typhimurium</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Proteus vulgaris</i>	7	13	6	10	6	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	8	6	6	6	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	12	6	6	6	7
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Bacillus cereus</i>	6	11	6	6	6	6
<i>Bacillus subtilis</i>	10	15	10	13	8	10
Maya Kültürleri						
<i>Candida albicans</i>	10	12	6	6	6	6
<i>Candida tropicalis</i>	6	11	6	6	6	8
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Cryptococcus neoformans</i>	7	12	6	6	6	6
<i>Debaryomyces hansenii</i>	6	6	6	6	6	6

Çizelge 4.2. *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon Zonları (mm)*					
	Ekstraktlar					
	Etanol		Kloroform		Etil Asetat	
	(50 µL)	(75 µL)	(50 µL)	(75 µL)	(50 µL)	(75 µL)
Bakteriler						
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Escherichia coli</i>	8	11	6	8	6	6
<i>Salmonella typhimurium</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Proteus vulgaris</i>	7	13	6	10	6	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	8	6	6	6	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	12	6	6	6	7
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Bacillus cereus</i>	6	11	6	6	6	6
<i>Bacillus subtilis</i>	10	15	10	13	8	10
Maya Kültürleri						
<i>Candida albicans</i>	10	12	6	6	6	6
<i>Candida tropicalis</i>	6	11	6	6	6	8
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Cryptococcus neoformans</i>	7	12	6	6	6	6
<i>Debaryomyces hansenii</i>	6	6	6	6	6	6

Çizelge 4.3. *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisine ait ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi

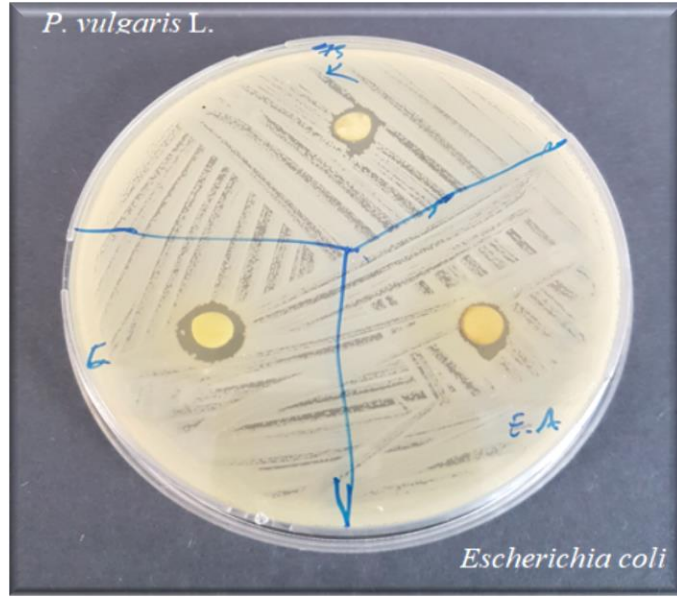
Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon Zonları (mm)*					
	Ekstraktlar					
	Etanol		Kloroform		Etil Asetat	
	(50 µL)	(75 µL)	(50 µL)	(75 µL)	(50 µL)	(75 µL)
Bakteriler						
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	12	7	9	7	9
<i>Escherichia coli</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Salmonella typhimurium</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Proteus vulgaris</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	14	6	6	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Bacillus cereus</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Bacillus subtilis</i>	6	6	6	6	6	6
Maya Kültürleri						
<i>Candida albicans</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Candida tropicalis</i>	8	13	6	6	6	6
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	12	17	16	13	11	9
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6	6	6	6	6	6
<i>Debaryomyces hansenii</i>	6	6	6	6	6	6

Çizelge 4.4. Çalışmada kullanılan bazı standart antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesi

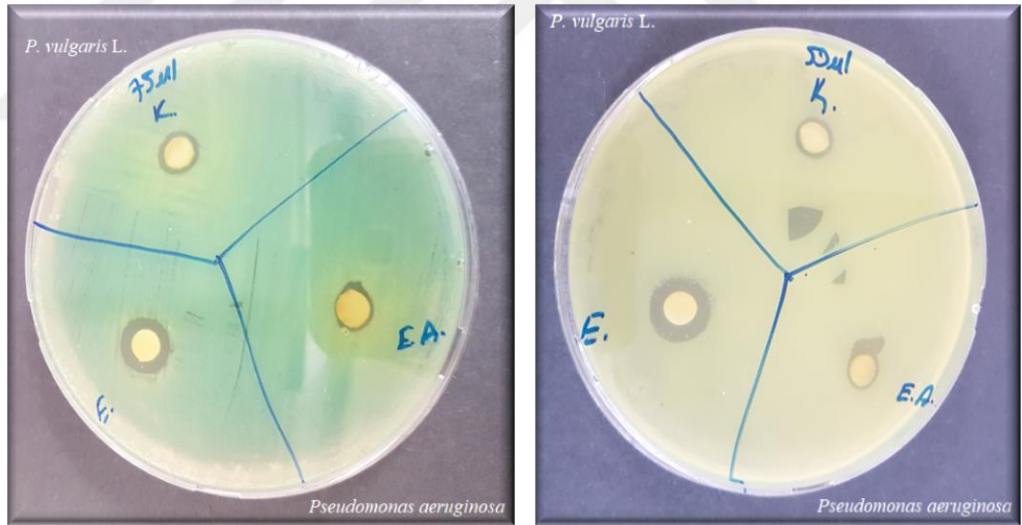
Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon Zonları (mm)*													
	Antibakteriyel Mukayese Antibiyotikleri									Antifungal Mukayese Antibiyotikleri				
	CN ₁₀	E ₁₅	TOB ₁₀	AZM ₁₅	S ₁₀	CIP ₅	TE ₃₀	NET ₃₀	IPM ₁₀	FLU ₂₅	KTC ₁₀	MCZ ₁₀	CLT ₁₀	NY ₁₀₀
Bakteriler														
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	34	21	30	26	41	27	27	45	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Escherichia coli</i>	14	40	18	33	18	44	13	10	52	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Salmonella typhimurium</i>	28	32	24	28	23	29	28	31	48	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19	27	17	25	19	30	26	22	38	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Proteus vulgaris</i>	16	20	18	12	20	22	13	12	32	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11	19	8	8	27	20	10	13	33	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	30	19	23	23	33	29	22	42	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Enterococcus faecalis</i>	18	30	22	21	21	28	24	21	33	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Bacillus cereus</i>	19	30	20	21	17	28	28	22	35	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
<i>Bacillus subtilis</i>	27	39	22	27	24	40	36	30	45	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt
Maya Kültürleri														
<i>Candida albicans</i>	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	6	18	11	10	14
<i>Candida tropicalis</i>	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	7	12	9	14	20
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	6	18	12	10	16
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	9	18	12	9	6
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	Nt	6	17	8	10	16

Nt: Test edilmedi, CN₁₀ (Gentamicin, 10 µg/disc), E₁₅ (Erythromycin, 15 µg/disc), TOB₁₀ (Tobramycin, 10 µg/disc), AZM₁₅ (Azithromycin, 15 µg/disc), S₁₀ (Streptomycin, 10 µg/disc), CIP₅ (Ciprofloxacin, 5 µg/disc), TE₃₀ (Tetracycline, 30 µg/disc), NET₃₀ (Netilmicin, 30 µg/disc), IPM₁₀ (Imipenem, 10 µg/disc), FLU₂₅ (Fluconazole, 25 µg/disc), KTC₁₀ (Ketoconazole, 10 µg/disc), MCZ₁₀ (Miconazole, 10 µg/disc), CLT₁₀ (Clotrimazole, 10 µg/disc), NY₁₀₀ (Nystatin, 100 µg/disc).

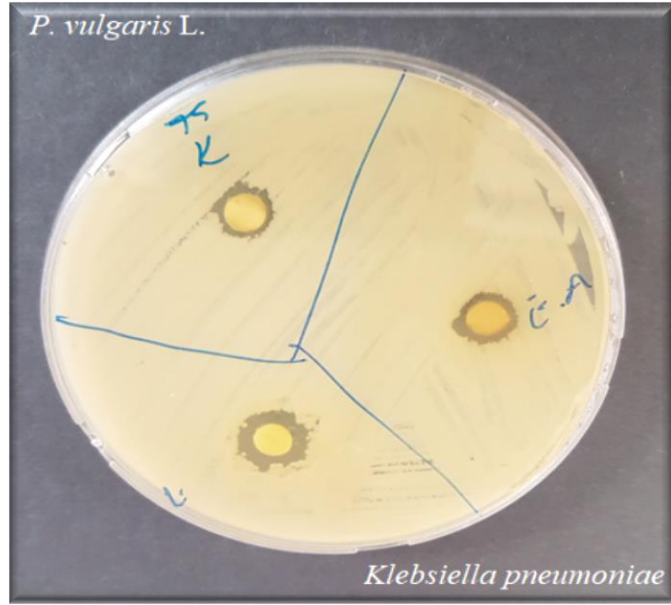
* Disklerin çapı (6 mm) olup değerler üç bağımsız deneyin ortalamasıdır.



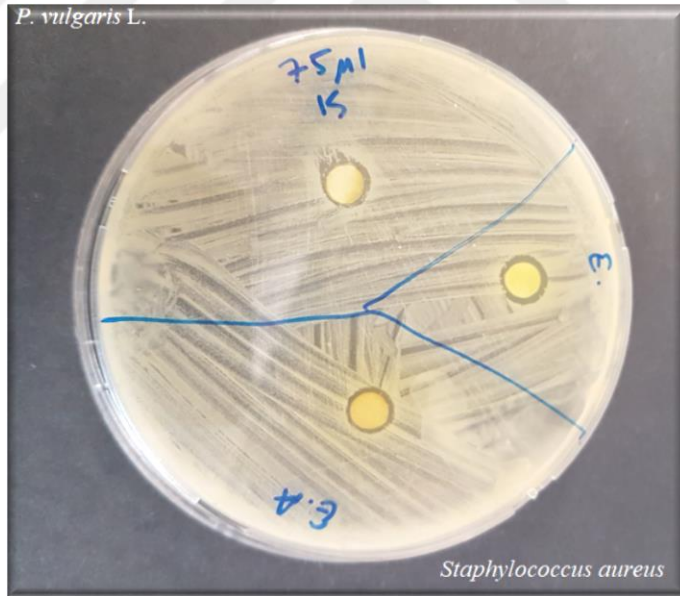
Şekil 4.1. *Escherichia coli* bakterisinin *Prunella vulgaris L.* bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



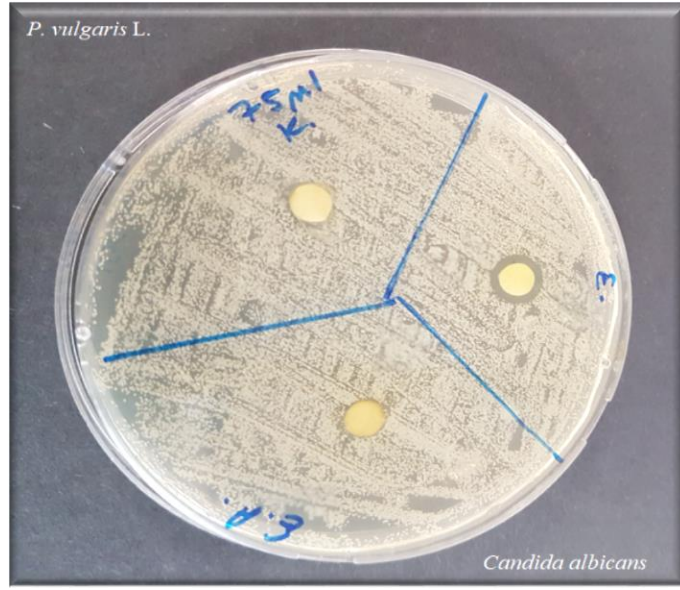
Şekil 4.2. *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin *Prunella vulgaris L.* bitkisinin 50 ve 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



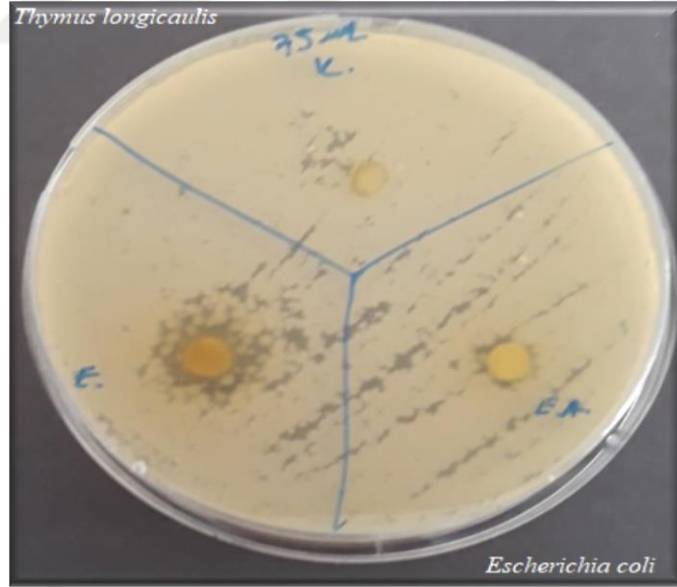
Şekil 4.3. *Klebsiella pneumoniae* bakterisinin *Prunella vulgaris* L. bitkisinin 75 μ L'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



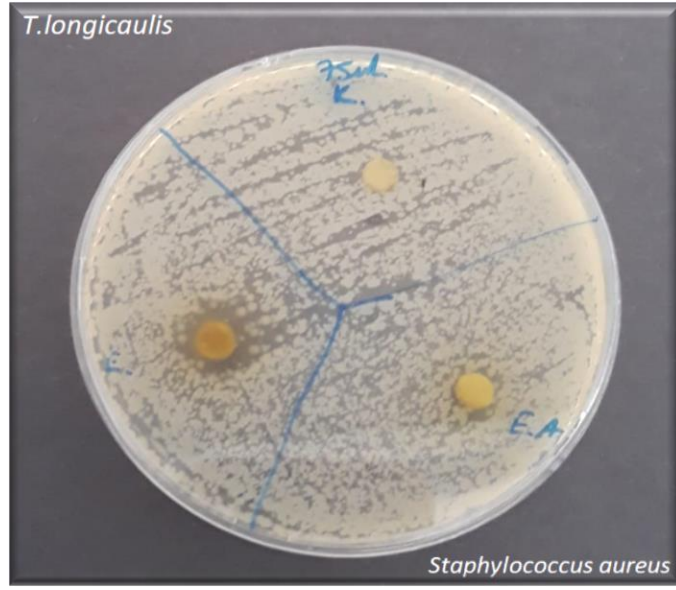
Şekil 4.4. *Staphylococcus aureus* bakterisinin *Prunella vulgaris* L. bitkisinin 75 μ L'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



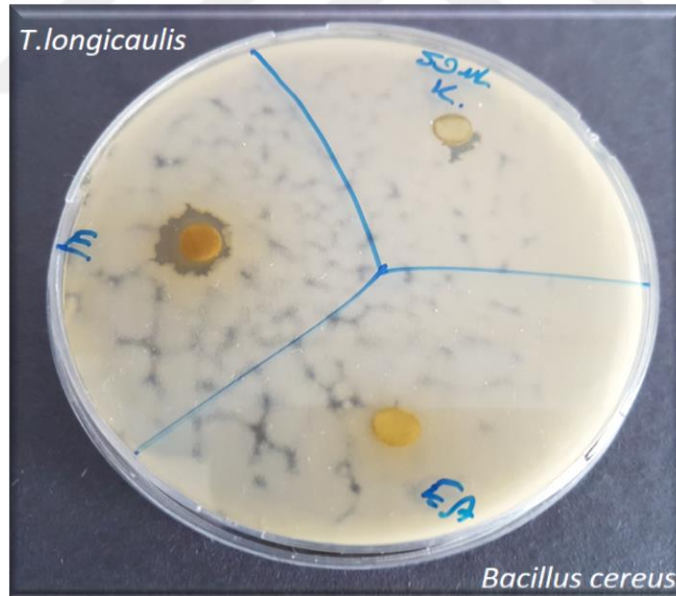
Şekil 4.5. *Candida albicans* mayasının *Prunella vulgaris* L. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



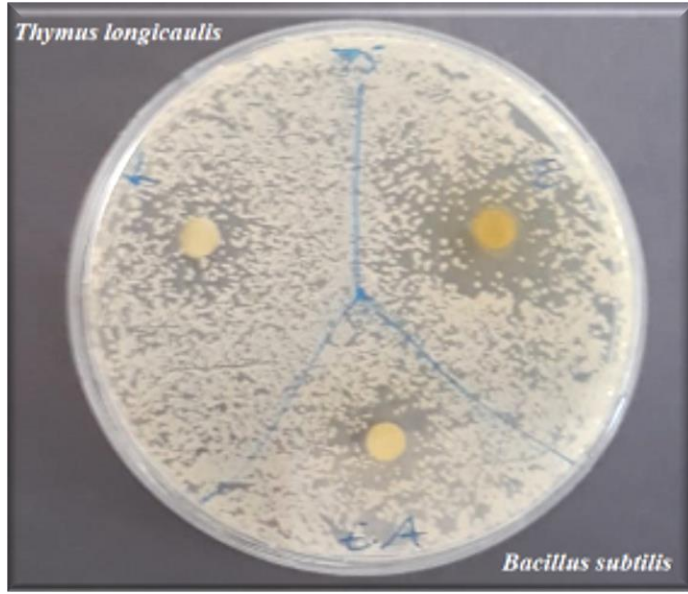
Şekil 4.6. *Escherichia coli* bakterisinin *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



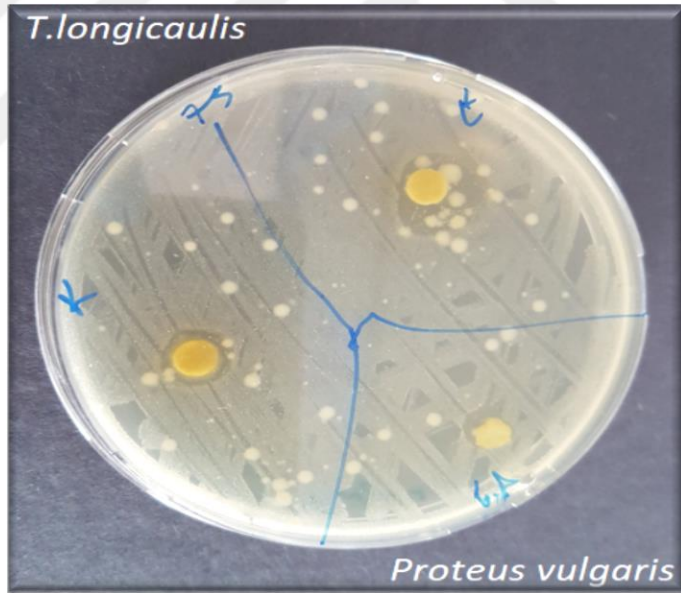
Şekil 4.7. *Staphylococcus aureus* bakterisinin *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



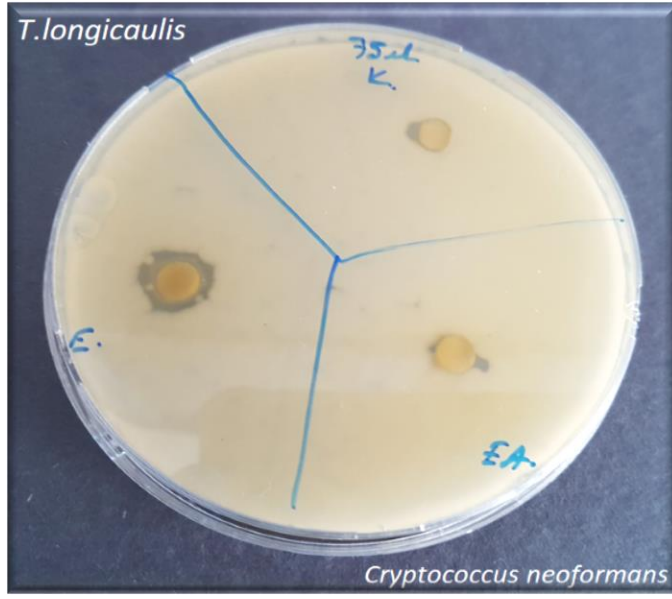
Şekil 4.8. *Bacillus cereus* bakterisinin *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



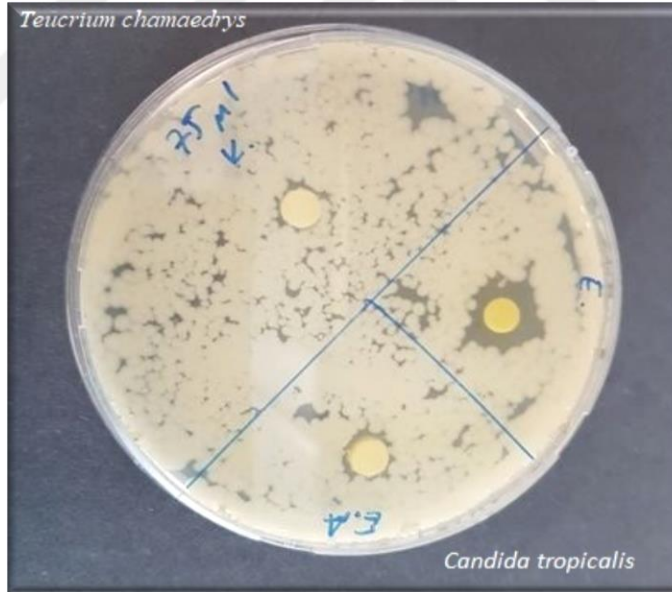
Şekil 4.9. *Bacillus subtilis* bakterisinin *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



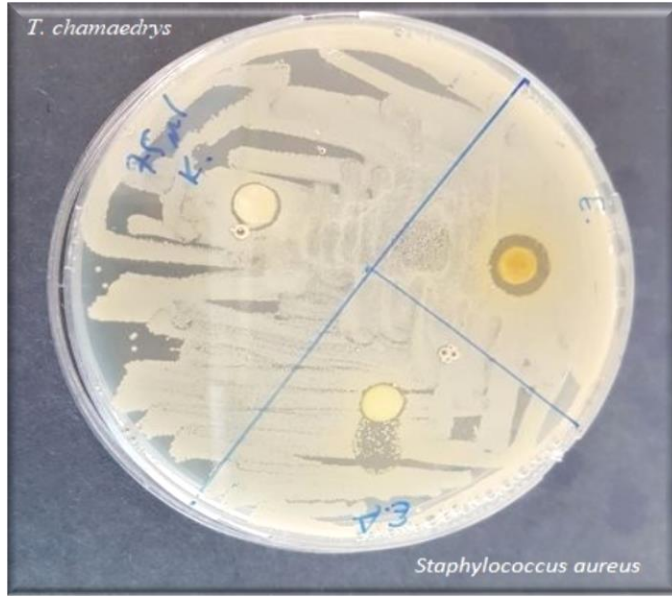
Şekil 4.10. *Proteus vulgaris* bakterisinin *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



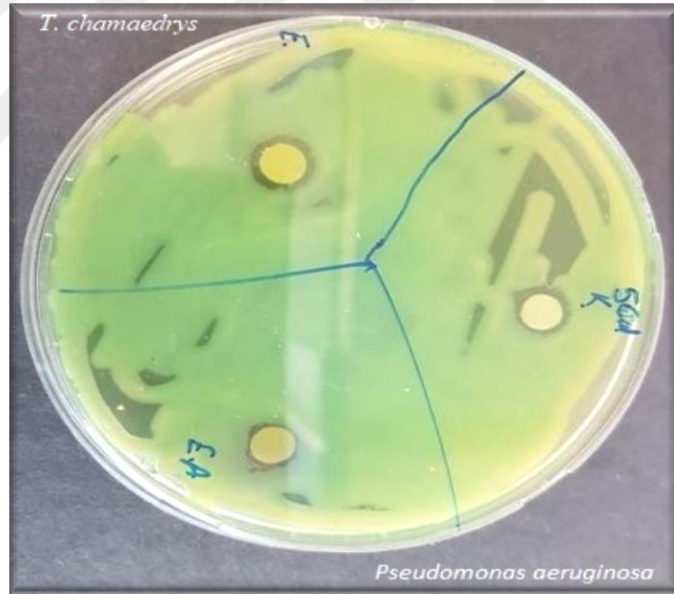
Şekil 4.11 *Cryptococcus neoformans* mayasının *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



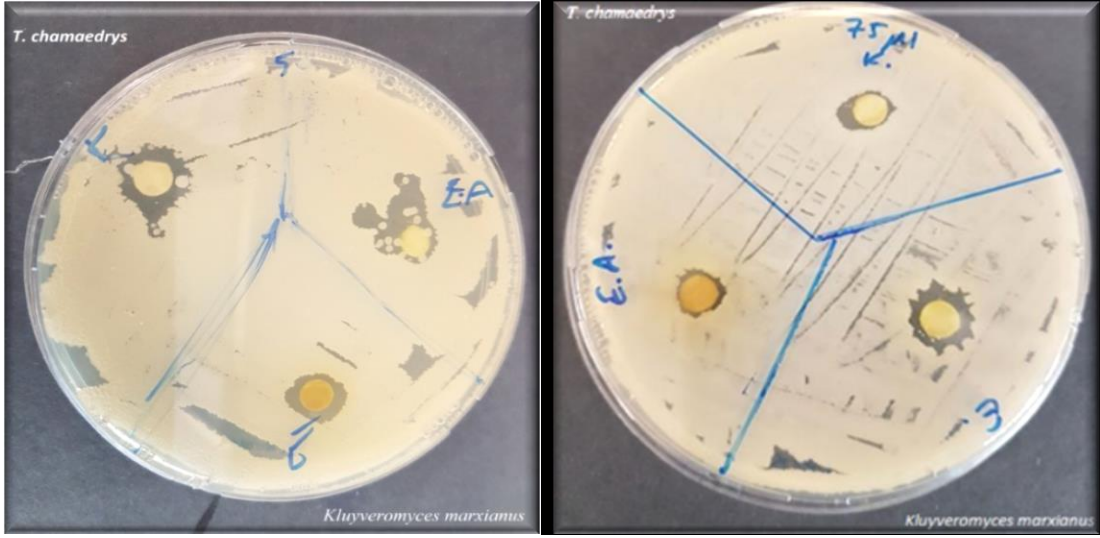
Şekil 4.12. *Candida tropicalis* mayasının *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin 75µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



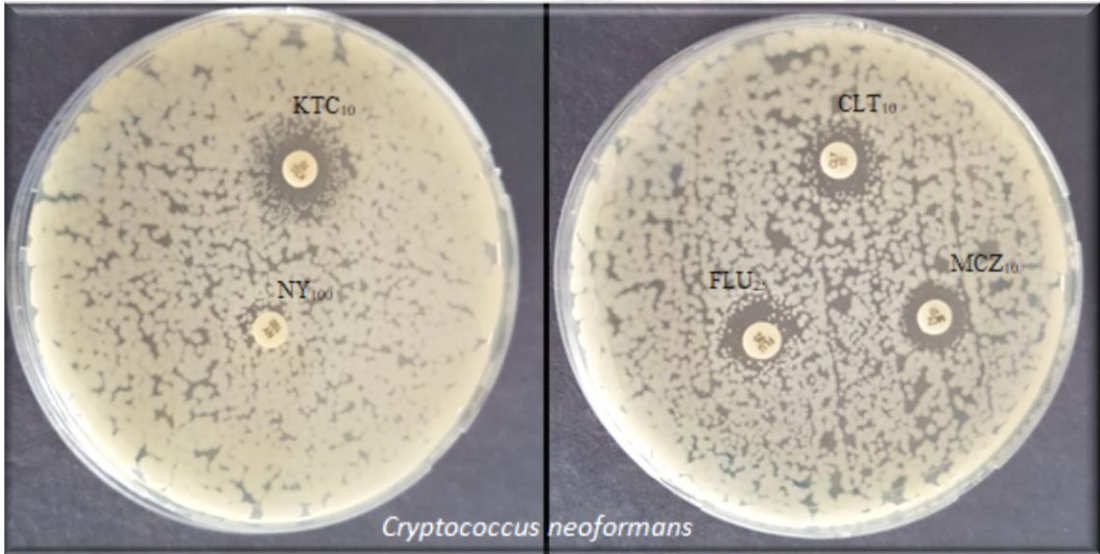
Şekil 4.13. *Staphylococcus aureus* bakterisinin *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin 75 μ L'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



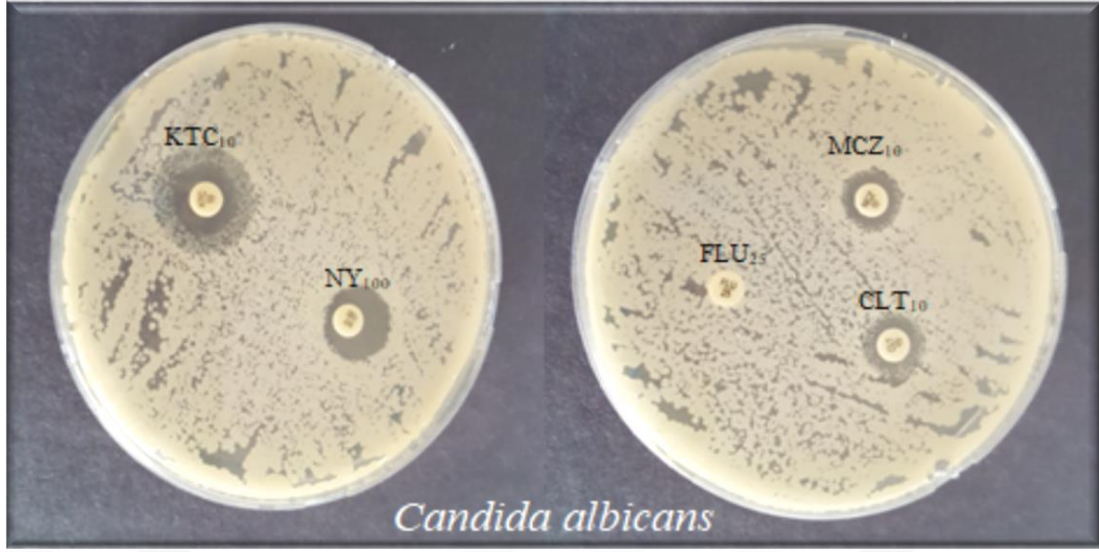
Şekil 4.14. *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin 50 μ L'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



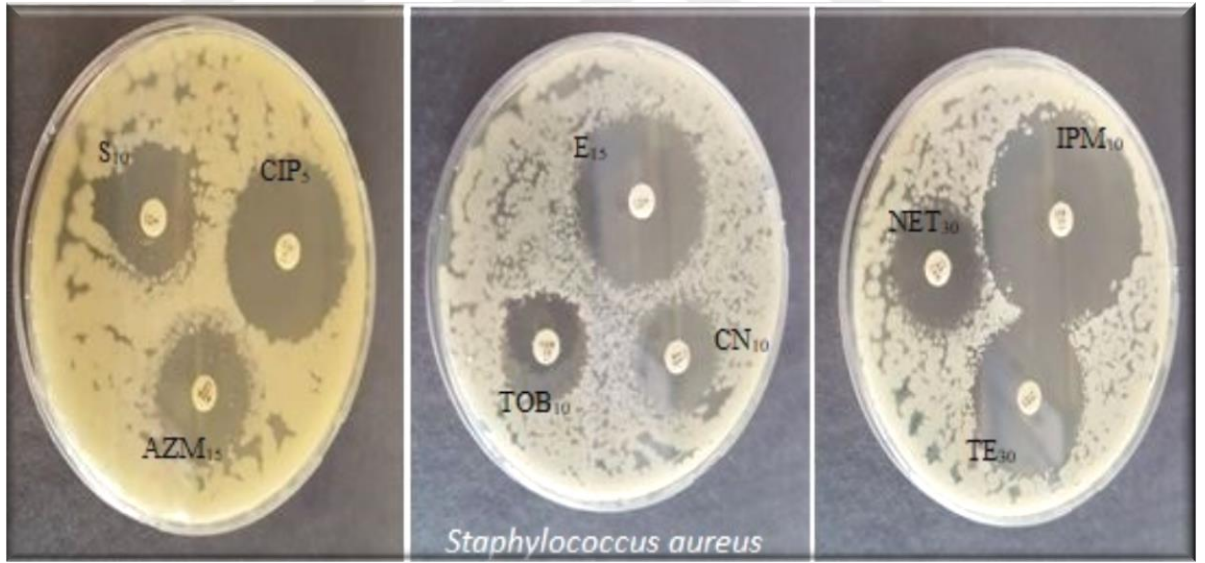
Şekil 4.15. *Kluyveromyces marxianus* mayasının *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin 50 ve 75 µL'lik Etanol (E), Kloroform (K) ve Etil asetat (E.A) ekstraktlarında oluşturduğu inhibisyon zonları



Şekil 4.16. *Cryptococcus neoformans* maya kültürünün mukayese antibiyotiklerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonları. FLU₂₅ (Fluconazole, 25 µg/disc), MCZ₁₀ (Miconazole, 10 µg/disc), CLT₁₀ (Clotrimazole, 10 µg/disc), NY₁₀₀ (Nystatin, 100 µg/disc), KTC₁₀ (Ketoconazole, 10 µg/disc).



Şekil 4.17. *Candida albicans* maya kültürünün mukayese antibiyotiklerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonları. FLU₂₅ (Fluconazole, 25 µg/disc), MCZ₁₀ (Miconazole, 10 µg/disc), CLT₁₀ (Clotrimazole, 10 µg/disc), NY₁₀₀ (Nystatin, 100 µg/disc), KTC₁₀ (Ketoconazole, 10 µg/disc).



Şekil 4.18. *Staphylococcus aureus* bakteri kültürünün mukayese antibiyotiklerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonları. CN₁₀ (Gentamicin, 10 µg/disc), E₁₅ (Erythromycin, 15 µg/disc), TOB₁₀ (Tobramycin, 10 µg/disc), AZM₁₅ (Azithromycin, 15 µg/disc), S₁₀ (Streptomycin, 10 µg/disc), CIP₅ (Ciprofloxacin, 5 µg/disc), TE₃₀ (Tetracycline, 30 µg/disc), NET₃₀ (Netilmicin, 30 µg/disc), IPM₁₀ (Imipenem, 10 µg/disc).

4.1.2. GS-MS Analizi

4.1.2.1 . *Prunella vulgaris* L. Bitkisinin GS-MS Tayini

Prunella vulgaris L. bitkisinin etanol ekstraktının analiz sonucundaki kimyasal içerik yapısı Çizelge 4.5.'te genişletilmiş GC/MS spektrumu ise Şekil 4.1.'de verilmiştir. Bitkinin kimyası GC/MS analitik metodu ile analiz edildiğinde; Katekol, 1-Dodesen, 3,5-Dimetil pirazol, 2,3-Dihidro-3,5-Dihidroksi-6-metil-4H-piran-4-on, 4H-Piran-4-on, 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil, furfural alkol, Hidroksi metil furfural, 2-Metoksi-4-vinilfenol, 2-Tetradecene, 1-hekzadesen, 1-Nonadesen, 1-Nonadesen, Palmitik asit, 1-Oktasen, 9,12-Oktadekadienoik asit (E,Z), Stearik asit, 9-oktadesenamid (Z), trans-13-Dokosenamid, İkozan ile 6 adet henüz evrensel veri arşivlerinde belirlenmemiş toplam 26 adet doğal bileşik tespit edilmiştir.

4.1.2.2. *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. Bitkisinin GS-MS Tayini

Thymus longicaulis subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin etanol ekstraktının kimyasal içerik yapısı Çizelge 4.6.'da, genişletilmiş GC/MS spektrumu ise Şekil 4.2.'de verilmiştir. Bitkinin doğal bileşik yapısı yine aynı teknik ile analiz edildiğinde Palmitik asit, O-Simen, Ökaliptol, Terpinen, Linalol, (+)-2-boranon, 4H-Piran-4-1, 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-, Borneol, Terpinen-4-ol, Katekol, Hidroksi metil furfural, Timokinon, Fenol, 5-metil-2-(1-metiletil), Karvakrol, 9,12-Oktadekadienoik asit (Z,Z)-, 2-Metoksi-4-vinilfenol, (1R)-1,6,6- Trimetil-cis-bisiklo[3.3.0]oktan-3-on, beta-bisabolen, p-Simen-2,5-diol, Benzil Benzoat, neofitadien, metil palmitat, meill ester, 9,12,15- oktadekatrienoik asit, metil ester (Z,Z,Z)-, Fitol, Stearik asit, trikozan, tetrakozan, dokoza, 9,12,15- oktadekatrienoik asit, 3- metilheneikozan, skualen ile 2 adet evrensel kütüphanede listelenmemiş toplam 34 adet doğal bileşik tespit edilmiştir.

4.1.2.3. *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. Bitkisinin GS-MS Tayini

Teucrium chamaedrys subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin etanol ekstraktının kimyasal içerik yapısı Çizelge 4.7.'de, genişletilmiş GC/MS spektrumu ise Şekil 4.3.'te verilmiştir. Bitkinin temel kimyasal bileşenleri yine GS-MS cihaz metodu ile analiz edildiğinde; 1-Metil-5-metilen-8-izopropil-1,6-siklodekadien, 1,5,5,8-Tetrametil-12-oksabisiklo[9.1.0]dodeka-3,7-dien,5, katekol, 2-Furan karboksaldehit, 5-(2-hidroksietil), 2-Furanmethanol, 5-Hidroksi metil furfural, 2-Metoksi-4-vinilfenol, (-)-beta-burbone, siklododekan, 8(13)- dien, 3,7,11,15-Tetrametil-2-heksadesen-1-OL. 9,12,15-Oktade,

katrienoik asit, karyofillen, trans-alfa-Bergamoten, alfa-Humulen, 1-Heptadeken, oktadekanik asit, alfa.Hidroksi karyofil-4(12), 4-((1e)-3-hidroksi-1-propenil)-2-metoksifenol, 1-7-metan osiklopenta[8]annulen-3,6-diol, neofitadien, Palmitik asit, 12-Epi-Teucvin ile 6 adet evrensel arşivde yer almayan toplam 30 adet doğal bileşik aydınlatılmıştır.

Çizelge 4.5. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin etanol ekstratının GC-MS analiz sonuçları

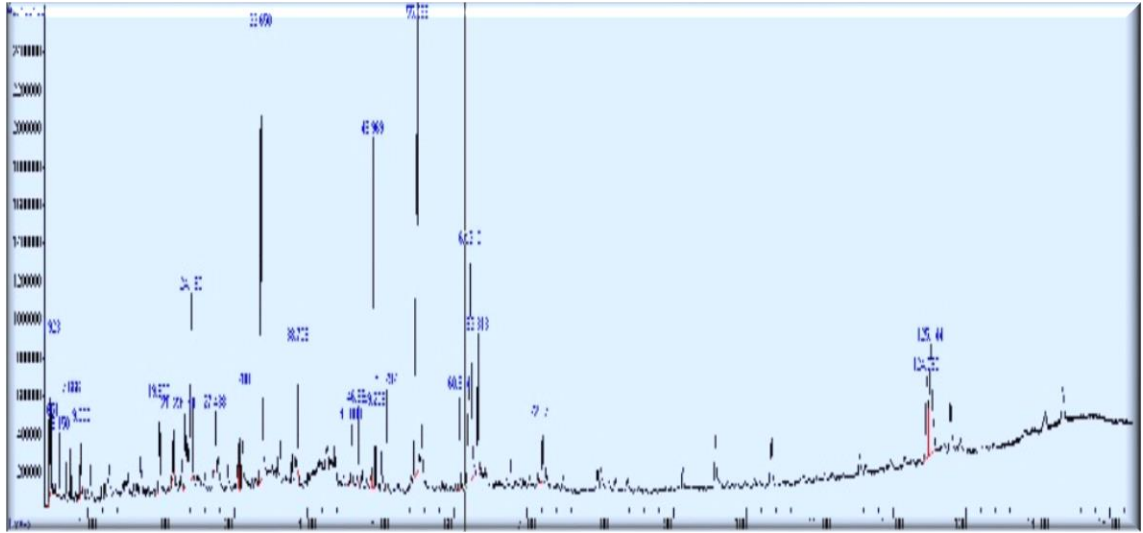
Sıra	Molekül İsmi	Alan %	Yakalama Zamanı
1	1H-Pirazol, 3,5-dimetil-	1,09	7.580
2	2-furanmetanol	0,51	8.182
3	UNKNOWN SUBSTANCE	1,96	8.922
4	2,3-Dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil -4H-piran-4-on	0,50	12.279
5	4H-Piran-4-on, 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-	1,52	19.599
6	1-Dodesen	1,29	21.672
7	katekol	1,50	23.074
8	5-Hidroksimetilfurfural	4,94	23.871
9	2-Metoksi-4-vinilfenol	2,29	27.371
10	2-Tetradesen, (E)-	1,35	30.644
11	UNKNOWN SUBSTANCE	1,39	31.017
12	UNKNOWN SUBSTANCE	12,14	33.423
13	1-hekzadesen	1,31	38.709
14	UNKNOWN SUBSTANCE	0,97	45.866
15	1-Nonadesen	0,76	46.925
16	neofitadien	4,62	48.910
17	n-Heksadekanoik asit	13,52	54.736
18	1-oktadesen	1,81	55.598
19	fitol	1,03	60.731
20	9,12-Oktadekadienoik asit (Z,Z)-	13,40	62.159
21	oktadekanoik asit	2,99	63.143
22	9-Oktadesenamid, (Z)-	1,57	71.900
23	trans-13-Dokosenamid	1,35	95.495
24	Eikozan	1,21	103.232
25	UNKNOWN SUBSTANCE	5,49	124.846
26	UNKNOWN SUBSTANCE	10,89	141.550

Çizelge 4.6. *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin etanol ekstratının GC-MS analiz sonuçları

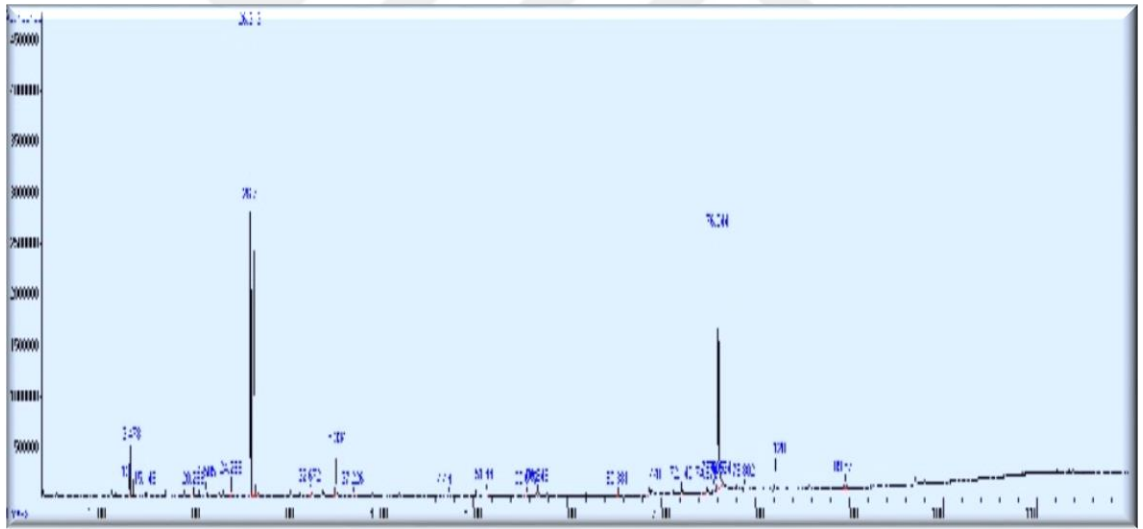
Sıra	Molekül İsmi	Alan %	Yakalama Zamanı
1	o-Simen	3,60	13,820
2	okaliptol	0,71	14,114
3	. gama.-Terpinen	0,65	15,405
4	Linalol	0,27	17,518
5	(+)-2-Bornanon	0,31	19,397
6	4H-Piran-4-on, 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-	0,86	19,749
7	endo-Borneol	0,49	20,513
8	3-Sikloheksen-1-ol, 4-metil-1-(1-metiletil)-	0,39	21,055
9	3-Sikloheksen-1-metanol, a,a,4-trimetil-	0,99	21,762
10	katekol	0,94	23,251
11	5-Hidroksimetilfurfural	1,48	24,178
12	timokinon	1,46	24,477
13	Fenol, 5-metil-2-(1-metiletil)	26,78	26,889
14	karvakrol	16,92	27,277
15	2-Metoksi-4-vinilfenol	0,61	27,505
16	(1R)-1,6,6-Trimetil-cis-bisiklo[3.3.0]oktan-3-on	0,86	33,293
17	UNKNOWN	4,31	33,593
18	.beta.-Bizabolen	3,28	35,525
19	p-Simen-2,5-diol	1,24	37,878
20	UNKNOWN	1,19	42,651
21	Benzoik asit, fenilmetil ester	0,43	45,760
22	neofitadien	1,57	48,992
23	Heksadekanoik asit, metil ester	0,86	52,836
24	n-Heksadekanoik asit	8,28	55,047
25	9,12-Oktadekadienoik asit (Z,Z)-,metil ester	0,68	60,021
26	9,12,15-Oktadekatrienoik asit, metil ester, (Z,Z,Z)-	1,39	60,298
27	fitol	0,61	60,845
28	9,12,15-Oktadekatrienoik asit, (Z,Z,Z)-	12,20	62,590
29	oktadekanoik asit	0,59	63,345
30	trikoza	0,63	69,103
31	tetrakoza	0,86	74,17
32	dokoza	0,78	79,63
33	3-Metilenikosan	0,74	83,769
34	skualen	2,52	124,932

Çizelge 4.7. *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin etanol ekstratının GC-MS analiz sonuçları

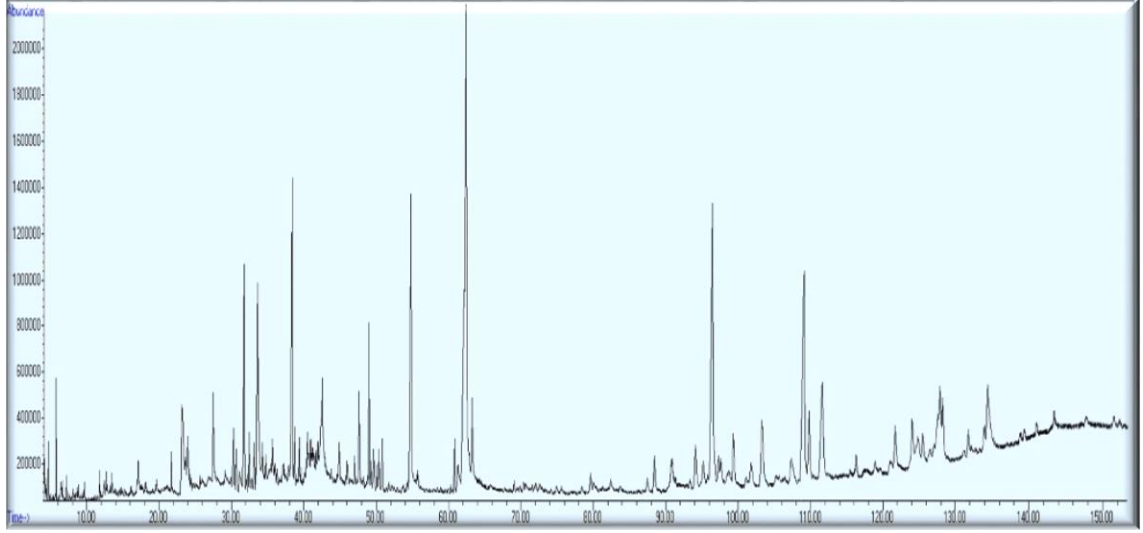
Sıra	Molekül İsmi	Alan %	Yakalama Zamanı
1	2-Furanmethanol	0,15	7.222
2	Katekol	2,93	23.173
3	5-Hidroksimetilfurfural	1,13	23.942
4	2-Metoksi-4-vinilfenol	1,72	27.457
5	.Beta Burbone	0,69	30.273
6	Siklododekan	0,38	30.684
7	Karyofillen	2,41	31.727
8	trans-.alfa.-Bergamoten	0,56	32.465
9	.alfa.-Humulen	0,47	33.156
10	Unknown	4,24	33.607
11	8-İzopropil-1-Metil-5-Metilen-1,6-Siklodekadien	0,95	34.298
12	Unknown	0,54	34.767
13	Unknown	2,08	35.707
14	(-)-5-Oksatrisiklo[8.2.0.0(4,6)]dodekan,,12-trimetil-9-metilen-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]-	3,47	38.373
15	1-Heptadeken	0,61	38.758
16	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetrametil-12-oksabisiklo[9.1.0]dodeka-3,7-dien	0,70	39.403
17	5- α -Hidroksikaryofil-4(12),8(13)-dien	3,15	40.527
18	Unknown	5,23	42.514
19	4-((1E)-3-Hidroksi-1-propenil)-2-metoksifenol	0,66	44.861
20	1-oktadesen	0,24	46.998
21	Unknown	1,17	47.604
22	neofitadien	1,56	48.985
23	(3S,3aS,6R,7R,9aS)-1,1,7-Trimetildekahidro-3a,7-metanosiklopenta[8]annulen-3,6-diol	0,66	50.339
24	neofitadien	0,48	50.823
25	n-Heksadekanoik asit	4,76	54.793
26	Heksadesen-1-ol, 3,7,11,15-tetrametil-, [R-[R*,R*-(E)]]-etil-, [R-[R*,R*-(E)]]-	0,44	60.834
27	9,12,15-Oktadekatrienoik asit, (Z,Z,Z)-	14,39	62.428
28	Oktadekanoik asit	1,67	63.287
29	12-epi-Teucvin	1,50	109.803
30	Unknown	3,24	111.619



Şekil 4.19. *Prunella vulgaris* L. bitkisinin etanol ekstratının genişletilmiş GC-MS spektrumu



Şekil 4.20. *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin etanol ekstratının genişletilmiş GC-MS spektrumu



Şekil 4.21. *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin etanol ekstratının genişletilmiş GC-MS spektrumu

4.2. TARTIŞMA

Çalışmada, 3 farklı bitki türüne ait 50 ve 75 µL'lik etanol, kloroform ve etil asetat çözeltileri ile izole edilen bitki ekstralarının bazı Gram (-) ve Gram (+) bakteriler ile maya kültürlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Bulgulara göre, *Prunella vulgaris* L. bitkisinin 50 ve 75 µL'lik etanol ekstraktlarının *B. subtilis*, *S. typhimurium*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *S. pyogenes*, *C. neoformans* ve *D. hansenii* türlerine karşı ekstrakt emdirilmiş 6 mm'lik steril diskler etrafında hiç zon oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Bu durum bitkiye ait iki farklı konsantrasyondaki etanol ekstraktlarının bu türler üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etkisinin olmadığını göstermektedir. Etanol ekstraktlarının diğer mikroorganizmalar üzerinde ise 7-14 mm aralığında değişen inhibisyon zonları ile farklı seviyelerde etkili olduğu gözlenmiştir.

Prunella vulgaris bitkisinin 50 µL'lik etanol konsantrasyonunda *C. albicans* maya kültürünün oluşturduğu inhibisyon çapı değeri (8 mm) FLU₂₅ antibiyotikinden (6 mm) daha yüksek etki gösterirken, *C. tropicalis* mayası 7 mm'lik zon çapı ile yine FLU₂₅ antibiyotikine (7 mm) karşı eşit seviyede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. 50 µL'lik etanol çözeltilisine karşı en iyi antimikrobiyal etkiyi *K. marxianus* mayası göstermiştir. *K. marxianus*'un oluşturduğu 9 mm'lik inhibisyon zonu değeri, FLU₂₅ (6 mm)

antibiyotiğinden daha yüksektir. Aynı konsantrasyonda etanol içeren steril diskler çalışmada kullanılan diğer bakteri ve maya türlerine karşı ya hiç etkili olamamış yada standart mukayese antibiyotiklerinin oluşturduğu inhibisyon zonu değerlerinin altında etki göstermiştir.

E. coli bakterisi üzerinde bitkinin 75 µL'lik etanol ekstraktının oluşturduğu 12 mm'lik inhibisyon zonu, NET₃₀ antibiyotiğinden (10 mm) , aynı etanol konsantrasyonunun *K. pneumoniae* türü üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (10 mm), TOB₁₀ (8 mm) ve AZM₁₅ (8 mm) antibiyotiklerinden fazla olduğu görülmüştür. *K. pneumoniae* bakterisinin 50 µL'lik etanol konsantrasyonunda inhibisyon zonu oluşturmazken, 75 µL'lik çözeltilde yüksek antimikrobiyal etki göstermesi dikkate değerdir. *C. albicans* mayasına yönelik bitkiye ait etanol ekstraktının oluşturduğu 12 milimetrelik inhibisyon zonu çap değeri, FLU₂₅ (6 mm), MCZ₁₀ (11 mm), CLT₁₀ (10 mm) antibiyotiklerinden, *C. tropicalis*'in oluşturduğu inhibisyon zonu değeri ise (11 mm), FLU₂₅ (7 mm) ve MCZ₁₀ (9 mm) antibiyotiklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 75 µL'lik etanol çözeltisine karşı en güçlü antimikrobiyal aktiviteyi ise *K. marxianus* mayası göstermiştir. *K. marxianus*'un oluşturduğu inhibisyon zonu çapı (15 mm) değeri, FLU₂₅ (6 mm) , MCZ₁₀ (12 mm), CLT₁₀ (10 mm) antibiyotiklerinden çok daha yüksek olduğu yapılan çalışma neticesinde ortaya koyulmuştur.

Çalışmada kullandığımız bir diğer çözücü olan 50 ve 75 µL'lik kloroform ekstraktında ise *E. faecalis*, *B. subtilis*, *P. vulgaris*, *S. typhimurium*, *S. pyogenes*, *B. cereus*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *D. hanseneii*, *C. neoformans* ve *K. marxianus* kültürlerine yönelik herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmamıştır. Bitkinin kloroform ekstraktlarının diğer mikroorganizmalar üzerinde ise 7 ila 10 mm arasında farklılık gösteren inhibisyon zonları ile etkili olduğu gözlenmiştir.

50 µL'lik kloroform ekstraktında sadece *E. coli* (7 mm) ve *P. aeruginosa* (8 mm) düşük seviyede antimikrobiyal etki gösterirken çalışılan diğer hiçbir mikroorganizma bu konsantrasyonda zon oluşturmayı sağlayamamıştır. Bu durum *Prunella vulgaris* bitkisinin 50 µL'lik kloroform çözeltisinin antimikrobiyal aktivite açısından etkisiz olduğunu göstermektedir. Bitkinin 75 µL'lik kloroform ekstraktında ise *Klebsiella pneumoniae* bakterisinin oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (8 mm), TOB₁₀ (8 mm) ve AZM₁₅ (8 mm) antibiyotikleri ile eşit seviyede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu aynı zamanda *Prunella vulgaris*'in kloroform ekstraktlarında görünen en yüksek

antimikrobiyal aktivitedir. Bitkinin 75 µL'lik kloroform ekstraktının çalışılan diğer bakteri ve mayalar üzerinde ise ya hiç etkili olmadığı yada mukayese antibiyotiklerinden daha az etki ettiği görülmüştür.

Bitkinin 50 ve 75 µL'lik etil asetat ekstraktının ise *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. typhimurium*, *S. pyogenes*, *P. vulgaris*, *E. faecalis*, *C. tropicalis*, *C. neoformans*, *C. albicans*, *K. marxianus* ve *D. hansenii* bakteri ve maya türlerine karşı herhangi bir inhibisyon zonu sergilemediği diğer hedef mikroorganizmalara ise 8 ila 10 mm arasında farklılık gösteren inhibisyon zonları ile etki ettiği saptanmıştır. 50 µL'lik etil asetat konsantrasyonunda tek antimikrobiyal aktiviteyi 8 mm'lik zon çapı ile *E. coli* bakterisi göstermiştir. *E. coli* bakterisinin oluşturduğu bu inhibisyon zonu değeri mukayese antibiyotiklerinin altında olduğundan bilimsel açıdan önemli bulunmamıştır. Bu konsantrasyonda çalışılan diğer bakteri ve mayalar ise herhangi bir zon oluşumu gerçekleştirmemiştir. 75 µL'lik etil asetat ekstraktında anlamlı bir antimikrobiyal etki gösteren tek mikroorganizma türü *Klebsiella pneumoniae* bakterisi olmuştur. *K. pneumoniae* bakterisinin oluşturduğu inhibisyon zonu çapı (9 mm) TOB₁₀ (8 mm) ve AZM₁₅ (8 mm) antibiyotiklerinden daha yüksek bir sonuç vermiştir. Bakterinin üç farklı çözgen ile yapılan çalışmalarda birbirine paralel sonuçlar verdiği görülmüştür.

Araştırmacılar 2009 yılında yapmış oldukları bir çalışmada aralarında *Prunella vulgaris* L. türünde bulunduğu altı bitkinin antimikrobiyal etkilerini disk difüzyon yöntemi çalışmışlardır. Çalışmada test mikroorganizmaları olarak *P. vulgaris* FMC 1, *E. coli* ATCC 25922, *B. megaterium* DMS 32, *K. pneumoniae* FMC 5, *P. aeruginosa* DMS 50071 SCOTTA, *S. aureus* COWAN 1 FMC 16 bakterileri ile *C. glabrata* ATCC 66032, *C. tropicalis* ATCC 13803 ve *C. albicans* FMC 17 maya kültürlerini kullanmışlardır. 20 µl'lik dimetil sülfoksit emdirilmiş diskler ile yapılan çalışma sonucunda, *P. vulgaris* bitkisinin 6-15 mm arasında değişen oranlarda inhibisyon zonu oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Bitkinin *B. megaterium* bakterisi üzerinde 10 mm, *P. aeruginosa* türü üzerinde 11 mm, *E. coli* türü üzerinde 8 mm, *P. vulgaris* türü üzerinde 11 mm, *S. aureus* türü üzerinde 11 mm, *C. albicans* türü üzerinde 11 mm, *C. glabrata* türü üzerinde 13 mm, *C. tropicalis* türü üzerinde ise 15 mm olacak şekilde inhibisyon zonu oluşturduğunu göstermişlerdir [134]. Çalışma sonucunda *Prunella vulgaris* bitkisinden edinilen bulgular ile her ne kadar farklı µl ve çözgen ile elde edilmiş olsa da mevcut çalışmamızda tespit ettiğimiz değerler arasında benzerlik ve tutarlılık olduğu görülmüştür. Araştırmacıların çalışmasında kullanılan test mikroorganizmalarının

oluşturduğu inhibisyon zonu çapları ile bu çalışmada gözlemlediğimiz inhibisyon zonlarının mm'lik çap değerleri birbirlerine yakın düzeydedir. örneğin; *Prunella vulgaris* bitkisinin 20 µl'lik dimetil sülfoksit ekstraktının *P. aeruginosa* bakterisine karşı oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (11 mm), aynı bakterinin bu çalışmada 50 µL'lik etanol konsantrasyonunda oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (12 mm) ile çok yakın düzeydedir. Yine *P. vulgaris* bakterisinin aynı konsantrasyondaki dimetil sülfoksit ekstraktına karşı oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (11 mm), bu çalışmada *Prunella vulgaris*'in 50 ve 75 µL'lik etanol ekstraktlarının *Proteus vulgaris* bakterisine karşı oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (11 mm) ile aynı olduğu görülmüştür. Araştırmacıların kullandığı diğer bir bakteri türü olan *S. aureus*'un oluşturduğu 11 mm'lik inhibisyon zonu ile çalışmamızda *S. aureus*'un 75 µL'lik etanol ekstraktına karşı oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (11 mm) yine aynıdır. Bu çalışmada *C. albicans* mayasına karşı 75 µL'lik etanol ekstraktının oluşturduğu zon çapı değeri (12 mm) ile aynı mayanın mevcut çalışmada oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (11 mm) çok yakındır. İki çalışma sonuçları arasındaki en önemli farklılık ise *C. tropicalis* mayasının oluşturduğu inhibisyon çapı değerleri arasındaki farktır. Çalışmamızda *C. tropicalis* 75 µL'lik etanol ekstraktında 11 mm'lik bir zon oluşumu sağlarken, aynı maya kültürü diğer çalışmada 15 mm'lik bir inhibisyon zonu oluşturmayı başarmıştır. Bu farklılığın temelinde ikincil metabolitlerin tür içi değişkenliği yada iki çalışmada kullanılan çözümlerin farklı olması söylenebilir. Aradaki çözümlerin farklılığı iki çalışmayı doğrudan karşılaştırmaya mani olsa da, veriler arasındaki korelasyon bitkinin antimikrobiyal yetkisinin ortaya çıkarılması ve teyit edilmesi açısından oldukça önem arz etmektedir.

2016 yılında aralarında *P. vulgaris* L. bitkisinin de bulunduğu 12 farklı bitki türünün kimyasal karakterizasyonu ile antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış ve test mikroorganizmaları olarak *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. türleri kullanılmıştır. 1 gram kurutulmuş bitkinin 10 mL aseton içinde öğütülerek kurutulmasının ardından DMSO ekstraktı içerisinde çözülerek test için hazır hale getirildiği çalışma neticesinde, bitkinin en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi 10,5 mm inhibisyon çapı ile *S. aureus* bakterisine karşı gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışılan diğer 3 tür ise 7.5 mm'lik inhibisyon çapı değerleriyle düşük antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir [155]. Çalışmada *S. aureus* türü için elde edilen inhibisyon zonu (10,5 mm) değeri ile bu çalışmada aynı bakteri türü için bulduğumuz inhibisyon zonu değeri (11 mm) paralellik gösterse de, *E. coli* bakterisi açısından çok belirgin

olmasa da farklılık bulunmaktadır. Araştırmacıların yapmış oldukları çalışma neticesinde *E. coli* düşük seviyede antimikrobiyal etki sergilerken, bizim çalışmamızda ise düşük ve orta seviye antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu duruma neden olarak, iki çalışmada kullanılan çözümlerin ve deney prosedürleri arasındaki farkların olabileceği gibi diğer pek çok etmen de (genetik, iklim.vb) bu sonucun ortaya çıkmasına neden olacağı düşünülebilir.

Prunella vulgaris, *Sambucus nigra*, *Calendula officinalis* bitkilerinin gıda endüstrisindeki potansiyel kullanımına yönelik olarak 2021 yılında yapılan bir çalışmada bitkilerin, yaprak, gövde, çiçek gibi kısımlarının antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. Bitkilerin etanol ve metanol ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. 20 µL bitki özütü steril filtre kağıdı disklerine (6 mm çapında, Oxoid) emdirildiği çalışmada, test mikroorganizmaları olarak 4 Gram pozitif bakteri olarak *B. cereus* NCTC 7464, *S. aureus* ATCC 25923 ve *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* RSSK 1009, kullanılırken 4 Gram negatif bakteri olarak *S. enteritidis* ATCC 13076, *E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028 ve *E. coli* ATCC 8739 kullanılmıştır. Deneyde pozitif kontrol olarak seftriakson (30 µg/disk, Oxoid), negatif kontrol olarak ise ekstraksiyon çözümleri olan etanol ve metanol kullanılmıştır. Araştırmacılar *P. vulgaris* ve *S. nigra*'nın etanol özütünün en yüksek antimikrobiyal inhibisyon zonunu *B. subtilis* ATCC 6633 bakterisine karşı gösterdiğini tespit etmişlerdir. *P. vulgaris* bitkisinin 20 µL'lik etanol ekstraktı diğer bakterilere sırasıyla *S. aureus* ATCC 25923 (8.0±1.09 mm), *S. aureus* RSSK 1009 (7.0±1.60 mm), *B. cereus* NCTC 7464 (7.7±1.75 mm), *B. subtilis* ATCC 6633 (10.5±1.72 mm), *S. typhimurium* ATCC 14028 (8.2±1.31 mm), *S. enteritidis* ATCC 13076 (9.7±1.17 mm), *E. coli* ATCC 25922 (10.2±1.53 mm), *E. coli* ATCC 8739 (8.5±1.50 mm) inhibisyon zonu değerleri ile farklı miktarlarda antimikrobiyal etki göstermiştir [156]. Bu çalışmada elde edilen antimikrobiyal aktivite verileri ile bizim çalışmamızda elde edilen veriler arasında benzer sonuçlar olduğu gibi bazı bakteri kültürleri açısından da farklar bulunmaktadır. Örneğin mevcut çalışmada 10.5±1.72 mm'lik zon çapı ile en yüksek antimikrobiyal etkiyi *B. subtilis* ATCC 6633 bakteri kültürü gösterirken, aynı bakteri bizim çalışmamızda hiçbir çözümlerde antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Yine *S. typhimurium* ATCC 14028 bakteri kültürü aynı çalışmada 8.2±1.31 mm'lik bir inhibisyon zonu ile etkili olmuşken bizim çalışmamızda inhibisyon zonu oluşturamamıştır. Fakat iki çalışmada da ortak olan diğer iki bakteri kültürü *S. aureus* (11

mm) ve *E.coli* (12 mm) ise çalışmamızda daha yüksek oranda bir antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. İki çalışma arasındaki farkların sebebinin bitki ekstraktlarının içeriğindeki farklı konsantrasyonlara sahip antimikrobiyal bileşiklerden, bakteri strainleri arasındaki farklılardan ve diğer birçok etmene bağlı nedenlerden kaynaklanabileceği söylenebilir

Thymus longicaulis subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin 50 ve 75 µL'lik etanol ekstraktlarının *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, *K. marxianus* *D. hansenii* türlerine karşı antagonistik açıdan bir etkisinin olmadığı, diğer mikroorganizmalara ise 7 ila 15 mm arasında inhibisyon zon çapı oranları ile farklı miktarlarda etki ettiği görülmüştür.

Bitkiye ait 50 µL'lik etanol konsantrasyonunda *C. neoformans* mikroorganizmasının oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (7 mm), NY₁₀₀ (6 mm) antibiyotiğine nazaran daha yüksek bir antimikrobiyal etki oluşturmuştur. 50 µL'lik etanol çözeltisine karşı en iyi antimikrobiyal etkiyi ise oluşturduğu 10 mm'lik inhibisyon zonu ile *C. albicans* mayası göstermiştir. *C. albicans*'ın inhibisyon değeri FLU₂₅ (6 mm) antibiyotiğinden yüksek, CLT₁₀ (10 mm) antibiyotiği ile eşit seviyede bir antimikrobiyal etki sergilemiştir. 50 µL'lik etanol içeren steril diskler çalışmada kullanılan diğer bakteri ve maya türlerine karşı ya hiç etkili olamamış yada standart mukayese antibiyotiklerinin oluşturduğu inhibisyon zonu değerlerinin altında bir etki göstermiştir.

T. longicaulis bitkisinin 75 µL'lik etanol ekstraktında ise mikroorganizma kültürleri 50 µL'lik konsantrasyona göre daha iyi bir antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Etanolde en yüksek inhibisyon zonu değerini 15 mm ile *B. subtilis* bakterisinin oluşturmasına rağmen, bu sonuç çalışılan mukayese antibiyotiklerinin aynı bakteri kültürü üzerinde oluşturduğu zon değerlerinin altında bir etki oluşturmuştur. Bitkinin 75 µL'lik etanol ekstraktında *E. coli* bakterisinin oluşturduğu inhibisyon zonu genişliği (11 mm), NET₃₀ (10 mm) antibiyotiğinden, *P. vulgaris* bakterisinin oluşturduğu zon değeri (13 mm) ise, AZM₁₅ (12 mm) ve NET₃₀ (12 mm) antibiyotiklerinden daha yüksek bir etki oluşturmuştur. Ayrıca *P. vulgaris* TE₃₀ (13 mm) antibiyotiği ile eşit seviyede bir antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. *K. pneumoniae*'nin oluşturduğu inhibisyon zonu çapı (8 mm), TOB₁₀ (8 mm) ve AZM₁₅ (8 mm) antibiyotikleri ile eşit düzeyde bir etki oluşturmuştur. 75 µL'lik konsantrasyondaki etanolün, maya kültürlerine karşı daha etkili bir antimikrobiyal ajan rolü sergilediği görülmüştür. *C. albicans*'ın 75

μL 'lik etanol içeren steril disklerle karşı oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (12 mm), FLU₂₅ (6 mm) ve CLT₁₀ (11 mm) antibiyotiklerinden yüksek, MCZ₁₀ (11 mm) antibiyotiği ile ise eşit seviyede bir antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. *C. tropicalis*'in aynı konsantrasyonda oluşturduğu inhibisyon zonu değeri (11 mm), FLU₂₅ (7 mm) ve MCZ₁₀ (9 mm) antibiyotiklerine göre daha yüksek bir antimikrobiyal etki göstermiştir. Referans antibiyotiklerine göre en anlamlı antimikrobiyal aktiviteyi *C. neoformans* maya kültürü göstermiştir. *C. neoformans*'ın oluşturduğu inhibisyon zonu çapı (12 mm), FLU₂₅ (9 mm), CLT₁₀ (9 mm), NY₁₀₀ (6 mm) antibiyotiklerinden daha yüksek bir etki oluştururken, MCZ₁₀ (12 mm) antibiyotiği ile de eşit seviyede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *C. neoformans*'ın çalışılan 5 mukayese antibiyotiğinin üç tanesinden yüksek, bir tanesi ile de eşit seviyede bir antimikrobiyal etki oluşturması, *T. longicaulis*'in etanol ekstraktının yeni nesil alternatif bir antimikrobiyal madde olarak kullanılabileceği düşüncesini akıllara getirmektedir. Bitkinin 75 μL 'lik kloroform ekstraktının çalışılan diğer bakteri ve mayalar üzerinde ise ya hiç etkili olmadığı yada mukayese antibiyotiklerinden daha az etki ettiği görülmüştür.

Bitkiye ait 50 ve 75 μL konsantrasyondaki kloroform ekstraktında *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. neoformans*, *C. tropicalis*, *C. albicans*, *K. marxianus* ve *D. hansenii* bakteri ve maya kültürleri herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmamıştır. Diğer mikroorganizmalar ise 8-13 mm arasında değişen oranlarda zon oluşturmuşlardır.

Bitkinin 50 μL 'lik kloroform konsantrasyonunda çalışılan mikroorganizma kültürlerinden *B. Subtilis* bakterisi hariç hiçbir mikroorganizma inhibisyon zonu oluşturamamıştır. *B. subtilis* bu çözültide 10 mm'lik bir zon oluşturmasına rağmen bu değer mukayese antibiyotiklerden daha azdır. 75 μL 'lik kloroform ekstraktı ise sırasıyla 8-10-13 mm ile sadece *E. coli*, *P. vulgaris* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı inhibisyon zonu oluşturmayı başarırken, bu değerlerde yine mukayese antibiyotiklerinin oluşturduğu zon çapı değerlerinden daha aşağıda kalmıştır. Bu veriler *T. longicaulis*'in kloroform ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin etanol ekstraktına göre çok daha düşük veya neredeyse hiç olmadığını anlamına gelmektedir.

Bitkiye ait 50 ve 75 μL 'lik etil asetat çözültisi *S. typhimurium*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans*, *D. hansenii*, *C. neoformans* ve *K. marxianus* bakteri ve maya kültürleri herhangi bir inhibisyon zonu

oluşturmamıştır. Diğer mikroorganizma türleri ise 7-10 mm arasında değişen inhibisyon zonları oluşturmuşlardır.

T. longicaulis bitkisinin 50 µL'lik etil asetat çözeltilisinde inhibisyon zonu oluşturmayı başaran tek mikroorganizma kloroform çözeltilisinde olduğu gibi 8 mm ile *B. subtilis* bakterisi olmuştur. 75 µL'lik konsantrasyonda ise anlamlı tek antimikrobiyal aktiviteyi *C. tropicalis* mayası göstermiştir. *C. tropicalis*'in oluşturduğu inhibisyon zonu çapı (8 mm), FLU₂₅ (7 mm) antibiyotiginden daha yüksektir.

Cryptococcus neoformans insanda, menenjit ve ensefalit ile pnömoni başta olmak üzere birçok hastalığa neden olabilen patojenik bir mayadır. Nedeni olduğu hastalık kriptokokkoz ismiyle tanımlanır. *C. neoformans* genel olarak bağışıklık sistemi zayıf olan insanlarda enfeksiyonlara neden olmaktadır. Elimizde yeni nesil pek çok güçlü antibiyotik çeşiti bulunmasına karşın bu mayanın geliştirdiği enfeksiyonlar, immünitesi zayıf vakalarda önemli oranda morbidite ve mortalite sebebi oluşturmayı sürdürmektedir. Tedavide flusitozin ile birlikte veya tek olarak amphotericin B endikendir. Triazololler de yine tedavide başarı sağlamaktadır [157]. Çalışmamızda *Thymus longicaulis* bitkisinin etanol ekstraktının *C. neoformans* mayası üzerinde mukayese antibiyotiklere göre yüksek seviyede antimikrobiyal etki göstermesi oldukça önemlidir. Keza bitki ekstraktlarının daha ileri düzey farmakolojik teknikler ile işlenerek kriptokokkoz hastalığına karşı tedavide kullanılan diğer antibiyotiklerle birlikte, sinerjik bir etki oluşturabilme ihtimali değerlendirmeye değerdir.

Araştırmacılar 2005 yılında, *Thymus vulgaris* bitkisinin etanol, metanol, aseton, kloroform, dimetil sülfoksit (DMSO) ve distile su gibi farklı çözeltili ekstraktlarını *S. aureus* (ATCC 29213), *E. coli* (ATCC 25922), *E. faecalis* (ATCC 29212), *E. gallinarum* (CDC-NJ-4), *B. subtilis* kültür suşları ve *Shigella*, *S. cerevisiae*, *C. crusei* (ATCC 6258), *S. pyogenes* (ATCC 19615), *C. albicans* (845981), *L. monocytogenes* (ATCC 7644), *C. albicans* (90028), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) suşları gibi 4 tanesi maya diğerleri bakteri olmak üzere 14 farklı mikroorganizma karşısındaki antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Damlatma tekniği ve disk difüzyon metodunun kullanıldığı çalışma bulgularına göre *Thymus vulgaris* ekstraktlarının 16 mm'lik inhibisyon zonu çapı oranı ile yalnızca *Bacillus subtilis* bakterisine karşı anlamlı bir antimikrobiyal aktivite sergilediklerini bildirmişlerdir [123]. Araştırmacıların çalışması ile bu çalışma arasındaki en dikkat çekici ayrıntı her iki çalışmada kekik bitkilerinin en

yüksek inhibisyon zonu oranını *Bacillus subtilis* bakterisine karşı göstermiş olmasıdır. Her ne kadar iki bitki arasında tür farklılığı bulunsa da, bu sonuç *Thymus* cinsi üyelerinin antimikrobiyal aktivite çalışmalarında *B. subtilis*'e karşı yüksek bir inhibisyon zonu oluşturma potansiyelinin olduğu yönündeki mevcut verileri destekleyebilir.

Gerçekleştirilen bir çalışmada *Thymus longicaulis* subsp. *chaoubardii* C.Presl. (Reichenb.fil.) Jalas bitkisinin yağlarının antimikrobiyal özellikleri ile birlikte kimyasal yapısı GC ve GC/MS tekniği ile incelemiştir. MİK yöntemi ile çalışılan yağlar 6 Gram (\pm) test bakterisi *K. pneumoniae* (ATCC 13883), *S. epidermidis* (ATCC 12228), *P. aeruginosa* (ATCC 227853) *E. cloacae* (ATCC 13047), *S. aureus* (ATCC 25923) ve *E. coli* (ATCC 25922) karşısında güçlü antimikrobiyal aktivite sergilediği gösterilmiştir [158]. Standart antibiyotiklerin (netilmicin, ciprofloksacin, imipenem, ceftazidim, amoxicillin ve clavulanicacid) kullanıldığı çalışmada *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *S. aureus* türleri için tespit edilen değerler iki çalışma arasında paralellik olduğunu gösterse de, *P. aeruginosa* bakterisi için farklılık göstermektedir. Bu durumun temelinin başta alt tür farklılığı olmakla birlikte kullanılan deney ve bitki etken metabolitlerini ortaya çıkarmak için kullanılan yöntemin farklı olmasından kaynaklanabileceği söylenebilir.

Araştırmacılar *Thymus longicaulis* C.Presl bitkisinin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesini, klinik izolat olan 6 bakteri ve maya kültürüne karşı standart disk agar difüzyon yöntemi ve mikrodilüsyon broth testi kullanılarak belirlemiştir. Araştırma bulgularına göre bitki uçucu yağının, test edilen tüm solunum yolu patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada en duyarlı mikroorganizma suşları *H. influenzae* ve *S. pneumoniae* (MİK=0.78 mg/mL) bakterileri olmuşken, *Staphylococcus aureus* en dirençli tür olmuştur. (MİK>25,00 mg/mL). Elde edilen sonuçlar, *T. longicaulis* eterik yağının, antimikrobiyal farmosötiklere yönelik direnç geliştirme yeteneğine sahip solunum yolu patojenlerine karşı etkili olabileceğini göstermektedir. Bitkinin üst bölümlerinden su buharı distilleme işlemi ile elde edilen uçucu yağ veriminin %1.2 olduğu saptanmış ve GC-MS tekniğine göre, toplam 41 doğal yapıli bileşik (%99) elde edilmiştir. Thymol (timol) (%46.3), timil metil eter (%11.4) p-terpinen (%16.2) ve p-simen (%9.4) bitki kimyasında bulunan temel bileşenler olarak sıralanmıştır [159].

Çalışmada kullandığımız üçüncü bitki türü olan *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisine ait 50 ve 75 µL'lik etanol ekstraktlarının *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. typhimurium*, *B. cereus*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. vulgaris*, *D. hansenii*, *C. albicans* ve *C. neoformans* bakteri ve maya kültürlerine karşı herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmadığı, diğer mikroorganizma kültürlerine karşı ise 8'den 17 mm'ye kadar değişen zon çapları ile etki ettikleri saptanmıştır.

Bitkinin 50 µL'lik etanol ekstraktının *C. tropicalis* üzerinde oluşturduğu 8 mm'lik inhibisyon zonu değeri FLU₂₅ (7 mm) antibiyotığından daha yüksektir. Bu konsantrasyonda en anlamlı ve en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi 12 mm'lik zon çapı oranıyla *K. marxianus* mayası göstermiştir. *K. marxianus*'un oluşturduğu bu inhibisyon zonu FLU₂₅ (6 mm), CLT₁₀ (10 mm) antibiyotiklerinden yüksek, MCZ₁₀ (12 mm) antibiyotığı ile ise eş düzeyde antimikrobiyal aktivite etkisi göstermiştir. Çalışmada kullanılan diğer bakteri ve maya kültürleri ise ya hiç etkili olamamış yada mukayese antibiyotiklerinin oluşturduğu inhibisyon zonu değerlerinin altında bir etki göstermişlerdir. Aynı bitkinin 75 µL'lik etanol ekstraktının *Candida tropicalis* kültürü üzerinde oluşturduğu 13 mm'lik inhibisyon zonu çapı değeri ile FLU₂₅ (7 mm), MCZ₁₀ (9 mm), ve KTC₁₀ (12 mm) antibiyotiklerinden daha yüksek bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Etanol çözeltisindeki en yüksek antimikrobiyal etkiyi 17 mm'lik inhibisyon zonu çapı oranıyla *K. marxianus* maya kültürü oluşturmuştur. Bu aynı zamanda tüm çalışmada elde edilen en yüksek antimikrobiyal aktivite değeridir. *K. marxianus* 75 µL'lik etanol emdirilmiş steril diskler ile yapılan çalışma sonuçlarında FLU₂₅ (6 mm), MCZ₁₀ (12 mm), CLT₁₀ (10 mm), NY₁₀₀ (16 mm) antibiyotiklerinden daha yüksek bir inhibisyon zonu oluşturma yetisi göstermiştir. Bitkinin 75 µL'lik etanol ekstraktının çalışılan diğer bakteri ve mayalar üzerinde ise ya hiç etkili olmadığı yada mukayese antibiyotiklerinden daha az etki ettiği saptanmıştır.

Bitkiden elde edilen 50 ve 75 µL'lik kloroform ekstraktlarının *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. typhimurium*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *E. faecalis*, *C. neoformans*, *D. hansenii*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* bakteri ve maya kültürlerine karşı herhangi bir etki göstermediği, diğer hedef mikroorganizmalara karşı ise 7 ila 16 mm arasında değişen çap oranlarına sahip zonlar oluşturduğu tespit edilmiştir.

50 µL'lik kloroform ekstraktında en yüksek antimikrobiyal etkiyi yine etanol ekstraktında olduğu gibi *K. marxianus* oluşturmuştur. Mayanın oluşturduğu 16 mm'lik

inhibisyon zonu çapı FLU₂₅ (6 mm), CLT₁₀ (10 mm), ve MCZ₁₀ (12 mm) antibiyotiklerinden daha yüksekken NY₁₀₀ (16 mm) antibiyotiği ile eşdeğer seviyededir. Aynı konsantrasyondaki kloroform ekstraktı o da çok az seviyede olmak üzere *P. aeruginosa* dışındaki hiçbir mikroorganizmaya karşı inhibisyon zonu oluşturmamıştır. Aynı çözeltilinin 75 µL'lik konsantrasyonunda ise *K. marxianus*'a karşı oluşan 13 mm'lik inhibisyon zonu değeri, FLU₂₅, CLT₁₀ ve MCZ₁₀ (12 mm) antibiyotiklerinden daha yüksektir. Çalışmada *K.marxianus*'un 50 µL'lik kloroform ekstraktının 75 µL'lik konsantrasyona oranla daha yüksek bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. 75 µL'lik kloroform ekstraktıda 50 µL'lik çözeltilide olduğu gibi *P. aeruginosa* (9 mm) dışındaki hiçbir mikroorganizma inhibisyon zonu oluşturma yeteneği göstermemiştir. *P. aeruginosa*'nın oluşturduğu zon değeri ise mukayese antibiyotiklerinin oluşturduğu zon çapı değerlerinin altında kaldığı için anlamlı bulunmamıştır.

Bitkiden izole edilen 50 ve 75 µL'lik etil asetat ekstraktlarının *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *E. coli*, *S. pyogenes*, *S. typhimurium*, *P. vulgaris*, *B. subtilis*, *D. hansenii*, *C. neoformans* ve *C. albicans* mikroorganizma türlerine etki etmediği, diğer hedef mikroorganizmalara ise 7 ila 11 mm arasında inhibisyon zonu çapları ile değişken oranlarda etki gösterdiği tespit edilmiştir. Her iki konsantrasyonda da mukayese antibiyotiklerine istinaden en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi 9 mm'lik inhibisyon zonu ile yine *K. marxianus* mayası göstermiştir. 50 µL'lik etil asetat ekstraktının *Kluyveromyces marxianus*'a karşı oluşturduğu 11 mm'lik inhibisyon zonu FLU₂₅ (6 mm) ve CLT₁₀ (10 mm) mukayese antibiyotiklerinden, 75 µL'lik etil asetat ekstraktı ise 9 mm'lik inhibisyon zonu oranıyla FLU₂₅ antibiyotiğinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Yine burada da kloroform ekstraktında olduğu gibi *K. marxianus* 'un 50 µL'lik etil asetat çözeltilisinde 75 µL olana göre daha yüksek bir antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir.

2007 yılında gerçekleştirilen diğer bir araştırma neticesinde, *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisine ait esansiyel yağın antimikrobiyal aktivitesi üzerine çalışma yapılmış ve test mikroorganizmaları olarak kullanılmak üzere; *S. aureus* ATCC 25923, *Y. pseudotuberculosis* ATCC 911, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. marcescens* ATCC 13880, *E. coli* ATCC 35218, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *B. subtilis* ATCC 6633, *C. albicans* ATCC 60193 ve *C. tropicalis* ATCC 13803 bakteri ve maya kültürleri seçilmiştir. Asetonun çözücü olarak kullanıldığı bitkiye ait esansiyel (eterik) yağın, *S.*

marcescens, *S. aureus*, *Y. pseudotuberculosis*, *E. faecalis* ve *E. coli* mikroorganizma türlerine karşı antimikrobiyal etki sergilerken, geri kalan 4 mikroorganizmaya karşı ise herhangi bir aktivite göstermediği saptanmıştır. Yapılan incelemede en iyi antimikrobiyal aktiviteyi *Y. pseudotuberculosis* bakterisinin gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen veriler ışığında *E. faecalis*, *S. marcescens*, *S. aureus* ve *E. coli* türleri orta seviyede etki sergilerken *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* bakteri ve maya kültürlerinin ise herhangi bir antimikrobiyal etkisi gözlemlenmemiştir [160]. Araştırma bulgularına göre bitkinin *S. aureus*, *B. subtilis*, *K. pneumoniae* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı gösterdiği antimikrobiyal etki sonuçları ile çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ortak değerler gösterse de, *E. coli*, *E. faecalis* ve *C. albicans* türlerinin oluşturduğu antimikrobiyal aktivite sonuçları ile çalışmamızdaki veriler arasında farklılıklar yer almaktadır. Bu farklılığa neden oluşturabilecek ana etkenler, iki çalışmada kullanılan çözücüler arasındaki farklılıklar, çalışmada tercih edilen bakteri ve maya kemotiplerinin ve sekonder metabolitlerin içeriğinde bulunan biyokimyasal varyasyonlar olabilir.

Araştırmacılar Lamiaceae familyasına ait iki endemik tür olan *Ballota rotundifolia* L. ve *Teucrium chamaedrys* C. Koch. bitkilerinin antimikrobiyal ve antioksidatif aktivitelerini incelemişlerdir. Araştırmada etkinliği ölçülecek hedef mikroorganizmaları olarak *B. cereus* RK75, *A. lwoffii* ATCC 19002, *S. pneumoniae* IK3, *K. pneumoniae* A137, *E. coli* Hak59, *C. perfringens* KUKENS-TURKEY, *C. krusei* ATCC 6258 ve *C. albicans* A117 bakteri ve maya kültürleri kullanılmıştır. Çalışmanın bulgularına göre, *B. rotundifolia* bitkisi orta düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterirken, *T. chamaedrys* bitkisine ait ekstraktların test edilen tüm mikroorganizma kültürlerine karşı yüksek antimikrobiyal etki sergilediğini tespit etmişlerdir. *T. chamaedrys* en yüksek antimikrobiyal etkiyi *Acinetobacter lwoffii* bakterisine karşı gösterirken (MİK değeri 9,00 mg/mL, inhibisyon zonu 26.00±1.73 mm) en düşük antimikrobiyal etkiyi ise *B. cereus* ve *K. pneumoniae* türlerine karşı göstermiştir. (MİK değeri (>72.00 mg/mL)) [102]. Kullanılan mikroorganizma kültürlerinden iki çalışma açısından ortak olan türler dikkate alındığında, çalışmalar arasında benzerlikler ve farklılıklar olduğu görülmektedir. *T. chamaedrys* bitkisi *B. cereus* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı her iki çalışma verilerinin sonuçlarına göre antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Ancak araştırmacıların deney sonuçlarına göre *E. coli* bakterisi ve *C. albicans* mayası yüksek seviye antimikrobiyal aktivite sergilerken, bizim çalışmamızda ise bu türler

kullandığımız etanol, kloroform ve etil asetat ekstraktlarına karşı hiçbir şekilde antimikrobiyal aktivite göstermemişlerdir. Önceki çalışmalar irdelendiğinde, *T. chamaedrys* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesini belirleyen yeterince çalışma olmadığı görülmektedir, bu durum çalışma verilerinin daha anlamlı ve kararlı bir şekilde karşılaştırılmasına yönelik sorun oluşturuyor olsa da, çalışmalar arasındaki tutarlı benzerlikler bitkinin antimikrobiyal aktivitesinin ölçülebilmesi ve litaretüre işlenmesi adına çok önemlidir.

K. marxianus immunitesi baskılanmış kişilerde görülebilmesine karşın, genel anlamda insanlarda hastalığa neden olan bir enfeksiyon etkeni değildir. Ancak bu maya kolonileri artificial cardiac pacemaker (kalp pilleri) ve sentetik kalp kapakları gibi vücuttaki birçok yerleşik ve kalıcı aygıtın biyofilmlerinde gözlemlenebilmektedir. Tedavisinde sekonder etkileri sebebiyle, çoğunlukla kritik önem arz eden vakalarda yada bağışıklığı zayıflamış bireylerde tehlikeli mikozlar (mantar enfeksiyonları) için tercih edilen amfoterisin-B kullanılmaktadır [161]. Çalışmada *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisinin etanol özütü içeren steril disklerinin *K. marxianus* mayasına yönelik oluşturduğu inhibisyon zon çapı değerlerinin, araştırmada seçtiğimiz 5 farklı referans antibiyotik dördünden daha yüksek etki göstermesi, bitkinin *K. marxianus*'a karşı diğer etkin ilaçlarla birlikte sinerjik olarak veya doğrudan kullanımının olumlu sonuçlar doğurabileceği ihtimali dikkate alınmaya değerdir.

Prunella vulgaris L. bitkisinin etanol ekstraktı Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi (GC/MS) cihazı ile deney protokollerine uygun olacak şekilde analiz edilmiş ve cihazdan alınan sonuçlar Çizelge 4.5'de verilmiştir. Bitkinin kimyasal yapısında bulunan bileşiklerden biri olan 2-Furanmethanol (Furfuril alkol) yapıştırıcılarda, kaplamalarda ve döküm reçinelerinde, [162] 1-Dodecene (1-Dodosen) özellikle deterjan endüstrisinde Catechol (Katekol) başta pestisit üretimi olmak üzere, parfüm ve ilaç gibi ince kimyasalların sentezinde kullanılan önemli kimyasal maddelerdir [163]. Bir diğer doğal bileşik olan 1-Hexadecene (1-hekzadesen) sondaj sektöründe yaygın kullanıma sahiptir. Bitki bileşiminde tespit edilen n-Hexadecanoic acid (Palmitik asit) gıda, kozmetik ve ilaç sanayisinde önemli bir yere sahiptir [164]. Phytol (Fitol) yetişkin Refsum hastalığına neden olabilen bir kimyasal madde olmasının dışında, potansiyel anksiyolitik, metabolizmayı modüle eden, sitotoksik, antioksidan, otofaji ve apoptozu indükleyen, antinosiseptif, antienflamatuar, immün modüle edici ve antimikrobiyal etkileri açısından araştırmış bir kimyasaldır [165]. Aynı zamanda

Stearik asit olarak bilinen Octadecanoic acid ise ticari açıdan önemli bir bileşiktir. Boya üretiminde, eczacılıkta, kozmetikte, sabun, gres yağı, antifungal madde gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır [166]. Bitkinin kimyasal kompozisyonunda tespit edilen diğer bileşiklerden biri olan 9-Octadecenamide, (Z)-(Oleamid) insan psikolojisinde meydana gelen çeşitli ruhsal sorunların ve uyku bozukluklarının yanı sıra kannabinoidle düzenlenen depresyon için potansiyel bir tedavi olarak kabul edilmiştir [167].

1984 yılında yapılan bir çalışma neticesinde *Prunella vulgaris* bitkisinin yaprak kısımlarından sağlanan yağın kimyasal yapısında laurik asit, stearik asit, oleik asit, miristik asit, linolenik asit ve palmitik asit bulunmuştur [168].

P. asiatica ve *P. hispida* ile *P. vulgaris* bitkilerinden izole edilen eterik yağların temel yapısı incelenmiş ve *P. vulgaris* eterik yağında 14, *P. asiatica* ve *P. hispida*'da ise 17 temel bileşik tanımlanmıştır. Ana bileşik olarak belirlenen palmitik asit (hexadecanoic acid) *P. vulgaris*'de %17.16, *P. asiatica*'da %51.52 ve *P. hispida*'da %34.85 olarak tespit edilmiştir [169].

Prunella vulgaris bitkisinin toprak üstü bölümlerinin araştırıldığı bir çalışma sonucunda bu kısımlarda karoten ve fitol bileşikleri belirlenmiş ve seskiterpen özellikle bir birleşimin de yer aldığı rapor edilmiştir [170].

Lawson ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptıkları çalışmada, *P. vulgaris* bitkisinin uçucu esansiyel yağının kimyasal yapısını GS/MS yöntemi ile araştırmışlar ve *Aspergillus niger*, *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans* hedef mikroorganizmalarına karşı antifungal etkisini belirlemeye çalışmışlardır. Bitki GS/MS cihazı ile standart prosedürlere uygun şekilde analiz edildiğinde; 1-Methylhept-2-ene, Germacrene D, Octane, Bicyclogermacrene, Hexanal, α -Chamigrene, 2-Hexanol, Cuparene, (2E)-Hexenal, δ -Cadinene, (3Z)-Hexenol, γ -Cuprenene, 1-Hexanol, Spathulenol, α -Pinene, α -Cadinol, Limonene, Unidentified sesquiterpenoidb, Benzene acetaldehyde, Phytone, β -Bourbonene, Monoterpene hydrocarbons, β -Elemene, Sesquiterpene hydrocarbons, 2,5-Dimethoxy-p-cymene, Oxygenated sesquiterpenoids, α -Barbatene, Diterpenoids, β -Ylangene, Benzenoids, β -Copaene, Others, cis-Thujopsene, Total Identified, β -Barbatene tespit edilmiştir. Bitki çalışılan test mikroorganizmaları karşısında belirgin bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. MİK değerleri sırasıyla 625 μ g/mL, 1250 μ g/mL ve 156 μ g/mL olarak tespit edilmiştir [171].

Bu çalışma ve üstteki diğer üç çalışma neticesinde tespit edilen kimyasal bileşiklerin önemli bir bölümünün bizim çalışmamızda elde ettiğimiz kimyasal kompozisyon ile aynı olduğu görülmüştür. Ayrıca yine bu çalışmada *C. neoformans* mayası bizim çalışmamızda olduğu gibi antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Fakat *C. albicans* mayası bu çalışmada antimikrobiyal aktivite göstermezken bizim çalışmamızda mukayese antibiyotiklere nazaran yüksek seviyede antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Thymus longicaulis subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkisinin etanol ekstraktı GS-MS tekniği ile analiz edilmiş ve çalışma neticesinde elde edilen bulgular Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Bitki bileşiminde tespit edilen Eucalyptol (Okaliptol) hoş baharatlı aroması ve tadı nedeniyle aromalarda, kokularda ve kozmetiklerde yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle endüstrideki yeri çok yaygın olmakla birlikte değerlidir. Sineole bazlı okaliptüs yağı, çeşitli unlu mamüller ile şekerlemeler, et ürünleri ve içecekler dahil olmak üzere çeşitli ürünlerde düşük seviyelerde (%0,002) tatlandırıcı olarak kullanılır. Gamma.-Terpinene (Terpinen) parfüm ve tat verici özelliklere sahiptir ancak esas olarak endüstriyel sıvılara hoş koku vermek için kullanılır. [172]. Bitkinin kimyasal kompozisyonunda tespit edilen doğal bileşiklerden biri olan Linalool, parfümlü temizlik ürünleri ve hijyen maddelerinin (sabun, losyon, detarjan vb) % 60 ila % 80'ninde koku verici etken madde olarak kullanılır [173]. Carvacrol (Karvakrol) ise kekik bitkilerinin yapısında bulunan ve birçok mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal aktivitesi araştırılan önemli bir bileşiktir. Squalene (Skualen) ise aşılarda adjuvan olarak kullanılmaktadır [174].

2020 yılında Demiryapan'ın gerçekleştirdiği çalışmada *Teucrium polium* L. ve *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. bitkilerinden elde edilen eterik yağların GS-MS tekniği ile kimyasal içerik analizi ve antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis*'in GC-MS analizine göre toplamda 49 farklı doğal bileşen saptanmış olup %1'nin üstünde çıkan kimyasal madde sayısı 20 olarak bulunmuştur. Bunlar; %2.69 Pinen <alpha->, %3.69 kampen (CAS), %1.68 bisiklo[3.1.1] heptan, %2.69 thujene <alpha->, 6.6 dimetil 2 metilen , (1S)-, %5.81 1,8-sineol, %9.34 gamma.-Terpinen, %2.11 trans Sabinene hidrat, %1.88 ALPHA.-Terpinol, %3.21 1,6 Octadien 3-ol, 3,7 dimeti, %1.56 Ment-2-en-1-ol <trans-,para->, %2.12 bisiklo[2.2.1]heptan-2-1 1,7,7-trimetil-(1S)-, %20.35 3-sikloheksen-1-ol, 4-metil-1-(1-metietil)- (CAS), %2.48 alpha.-Terpineol,%1.69 alpha.-Terpineol, %6.35 benzen, 1-methoxy 4-methyl-2 (1-methylethyl),%14.44 karvakrol %3.32 karyofilen,

%1.07 2-Methoksi-4-Etil-6- metilfenol, %2.03 bisabolen <beta->, %2.79 karyofilen oksid'dir. Yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmaları neticesinde, *T. longicaulis*'un, *T. polium*'a göre belirgin bir farkla mikroorganizmalar üzerinde daha yüksek bir antimikrobiyal etkisinin olduğu belirlenmiştir. *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* uçucu yağının en etkin MİK değerlerinin 0,098 µg/ml ile *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus durans* ve *Enterococcus faecium* ve *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella kentucky*, *Salmonella infantis* ve *Serratia marcescens*, *Candida albicans* üzerine olduğu gözlemlenmiştir. Bitki uçucu yağları *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı ise daha az seviyede antimikrobiyal aktivite göstermiştir [175]. İki çalışma sonuçları karşılaştırıldığında GS-MS analizi sonrası ana kimyasal bileşenlerin aynı olduğu görülürken, %'lik alanlarının farklı olduğu tespit edilmiştir. Örneğin; araştırmacı çalışmasında 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS) bileşiğinin alan yüzdesini %20.35 olarak tespit etmişken, aynı bileşik bizim çalışmamızda %0,39'luk bir sonuç vermiştir. Antimikrobiyal aktivite tespiti için kullanılan deney yönteminin farklı olması çalışmaları doğrudan karşılaştırmaya engel teşkil etse de *Thymus longicaulis* bitkisinin *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* türlerine karşı iki çalışmada da antimikrobiyal aktivite sergilediği görülürken, bitki *Enterococcus faecalis*'e karşı iki çalışmada da anlamlı bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Yine bitki uçucu yağları *S. aureus* bakterisi kültürüne karşı bizim çalışmamızda etanol ekstresinde orta ve iyi seviyede antimikrobiyal aktivite sergilerken, bu çalışmada ise düşük seviyede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ayrıca bitki *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi kültürüne karşı 0,098 µg/mL'lik MİK değeri ile antimikrobiyal aktivite gösterirken, bizim çalışmamızda ise aynı bakterisi kültürüne karşı hiçbir ekstrakta antimikrobiyal aktivite gözlemlenmemiştir.

2007 yılında gerçekleştirilen bir araştırmada bazı kekik ve adaçayı bitki türlerinin yaprak ve tohumlarının sulu ekstraktlarının GC-MS yöntemi ile uçucu bileşenleri incelenmiştir. Kekik bitkisinin yapraklarından elde edilen özütte 40 farklı doğal bileşen saptanmış ve en etkin 7 bileşeni timol, terpinol, linalol, o-simen, terpinen-4-ol, borneol, α-terpineol ve karvakrol olarak belirlenmiştir. Kekik tohum özütünde ise 3-carene,

izobornil format, m-simen, 2-decen-1-ol, mirtenol, karyofilen oksit gibi doğal bileşenler bulunmuştur [176].

Toplanma zamanları arasındaki farklılığın yayla kekiğinin esansiyel yağının kalitesi ve verimine yönelik etkilerinin incelendiği bir araştırmada, Isparta yöresinde yayla kekiğinin tomurcuklanma sonu ve çiçeklenme başı evresinde, tam çiçeklenme evresinde, çiçeklenme sonu evresinde ve tohum olgunlaştırma evresi olmak üzere farklı dönemlerde bitkiler toplanmıştır. Daha sonra bitkiler kurutularak esansiyel yağları su distilasyonu tekniği ile elde edilmiş ve mevcut esansiyel yağ kimyası GC cihaz metodu kullanılarak p-mirsen, borneol, γ -terpinen, karvakrol, timol, p-simen ve α -terpinen olarak belirlenmiştir. Yayla kekiği örneklerinde esansiyel yağ oranı % 1.7 ile % 4.9 arasında değişkenlik göstermiştir. Yayla kekiği esansiyel yağının en temel bileşeni olan karvakrol % 60.3 ile % 92.3 oranı arasında bir değişim göstermiştir. En yüksek esansiyel yağ miktarı (% 4.9) çiçeklenmenin ilk evresinde hasatlanan, en yüksek karvakrol miktarı (% 92.3) ise çiçeklenme evresinin bitiminde toplanan numunelerden elde edilmiştir [177].

Kekik esansiyel yağının kimyasal düzeninin araştırıldığı bir çalışmada, yağ içeriğinin en çok % 47.59 ile timol, % 30.9 ile γ -terpinen ve % 8.41'lik oran ile p-simen içerdiği saptanmıştır [178].

T. chamaedrys subsp. *chamaedrys* L. bitki türünün etanol ekstraktının GS-MS tekniği ile analiz edilmesi sonucu elde edilen değerler Çizelge 4.7.'de verilmiştir. Buna göre bitki yapısında tespit edilen kimyasal bileşiklerden Cyclododecane (Siklododekan) arkeoloji bilimi için önemli kimyasal maddelerden biridir ve kazı sırasında ve sonrasında bulguların hasar verilmeden incelenmesine, taşınmasına yardımcı olur. Ayrıca alev geciktiriciler, deterjanlar ve endüstride kullanılan pek çok kimyasalın üretilmesinde ana madde işlevi görmektedir [179]. Bir diğer bileşik olan Caryophyllene (Karyofillen) alken grubunun bir epoksit haline geldiği karyofillen oksit, uyuşturucu koklayan köpekler tarafından kenevirin tanımlanmasından sorumlu bileşendir ve aynı zamanda onaylanmış bir gıda aromasıdır [180]. Yine bitkinin yapısında keşfedilen trans-.alpha.-Bergamotene (Bergomaten) ise daha karmaşık kimyasal maddelerin biyosentezinde kullanılan ara maddelerdir. Örneğin, β -trans-bergamoten, fumagillin, ovalisin ve ilgili antibiyotiklerin sentezinde öncü bileşik olarak kullanılır [181].

İtalya'nın Korsika ve Sardinia bölgelerinde bulunan *Teucrium chamaedrys* bitkilerinin esansiyel yağlarının kimyasal kompozisyonu araştırılmıştır. Çalışma neticesinde 87 doğal bileşik ortaya çıkarılmıştır. Tanımlanan doğal bileşikler sırasıyla, β -caryophyllene (%29, %27.4) ve germacrene D (%19.4, %13.5) olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda, Korsika örneklerinde α -humulene (%6.8), caryophyllen oxide (%5.4) ve δ -kadinen (%12.3), Sardinia örneklerinde ise %6,5 oranında α -humulene tespit edilmiştir [182].

İran' da yapılan farklı bir çalışmada *Teucrium chamaedrys* taksonunun eterik yağ yapısının GC ve GC/MS tekniği ile incelenmesi neticesinde 49 bileşen tespit edilmiştir. Bu taksonun mühim yağ bileşenleri germacrene D (%16.5), (Z)- β -farnesen (%12.2), β -caryophyllene (%10.5), α -pinen (%9.1) ve δ -kadinen (%7.4) olarak saptanmıştır [183].

T. chamaedrys subsp. *lydium*, *T. chamaedry* subsp. *chamaedrys* ve *T. orientale* L. var. *puberulens* bitkilerinin eterik yağlarının, GC-MS analiz yöntemi ile araştırıldığı bir çalışma bulgularına göre sıralı olarak 33, 37 ve 36 farklı doğal bileşik saptanmıştır. *T. chamaedrys* L. subsp. *chamaedrys*, *T. orientale* L. var. *puberulens* ve *T. chamaedrys* subsp. *lydium* bitkilerinde ana bileşimin sırasıyla %16.7 oranıyla Germakren-D, %21.7 oranı ile β -karyofilen ve %19.7 oranı ile yine β -karyofilen olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca bitkilerden elde edilen eterik yağların antimikrobiyal etki seviyeleri de araştırılmış ve her üç bitkinin eterik yağlarının Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite sergilediği raporlanmıştır [151].

T. chamaedrys, *T. polium*, *T. multicaule* ve *T. parviflorum* bitkileri arasındaki kimyasal özelliklerin ve taksonomik ilişkilerin incelendiği bir çalışmada, Elazığ ve çevresinde yayılım gösteren bitki gruplarından örnekler alınmış ve esansiyel yağ produktiveleri belirlenmiştir. Araştırılan *Teucrium* bitkilerinin uçucu yağları GC ve GC-MS metodu ile analiz edilmiş, bu bitkilerin kimyasal yapılarının temel bileşenleri germacrene D (%32.1), β -caryophyllene (%14.2), α -kadinen (%13.1), bicyclogermacrene (%6.7) olarak saptanmış, *T. polium* bitkisinde ise α -fellendren (%25.3), metil eugenol (%25,1), germacrene D (%19.0), bicyclogermacrene (%4.8) oranında tespit edilmiştir. *Teucrium* bitkilerinin eterik yağlarında nitel ve niceliksel farklılıklar meydana gelmiş, *T. polium* dışındaki 3 *Teucrium* türüne ait eterik yağların monoterpenlerden çok seskiterpen içeriği bakımından zengin olduğu sonucuna ulaşılmıştır [184].

2007 yılında yapılan bir çalışmada, *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys*, *T. orientale* var. *puberulens* ve *T. chamaedrys* subsp. *lydium* bitki türlerinin esansiyel yağ

yapılarının analizi için GC/MS yöntemi kullanılmış ve 65 adet bileşiğin yapısı aydınlatılmıştır. *T. chamaedrys* subsp. *chamaedrys* bitkisinden izole edilen bileşiklerden 36 tanesinin ana karışımının %79.2'sini belirlediği tespit edilmiştir. 65 adet doğal bileşiğin 48 tanesini terpen grubu bileşikler olup bu bileşiklerden seskiterpenler bitki kimyasında sırasıyla %41.8, %53.5 ve %42.3 içerik miktarıyla oranı en yüksek olan sınıftır. [160].

Üstteki çalışmalarda ve bizim çalışmamızda *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisinin kimyasında yer alan temel bileşikler terpenler grubunda bulunan ve çoğunlukla C₁₅H₂₄ formülü ile tanımlanan seskiterpenlerdir. Medisinal, gıda, kozmetik sektörü ve biyoteknoloji endüstrilerinde kullanım için istenen özelliklere sahip olan terpenlerin bu nedenle sektördeki önemleri oldukça yüksektir.

Yapmış olduğumuz araştırmada ekstraktların besiyerinde hedef mikroorganizmalara karşı oluşturduğu inhibisyon zonu ölçümleri karşılaştırıldığında etanolde oluşan zon değeri toplamının kloroform ve etil asetat çözücülerinin oluşturduğu değerden fazla olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca etanol ekstraktında oluşan bazı zon çapı değerlerinin, test mikroorganizmaları üzerinde bazı referans antibiyotik değerlerinden daha etkili olduğuda belirlenmiştir. Bu sonuç, çalışmada kullandığımız etanolün antimikrobiyal etkili maddelerin ekstraksiyonu açısından kloroform ve etil asetata göre daha iyi bir çözücü olduğunu göstermektedir. Ek olarak disk difüzyon metodu uygulamalarında etanol ekstraktının daha iyi sonuç verdiği genel literatür bilgisinde yer almaktadır. Çalışma neticesinde antimikrobiyal aktivitesi ve kimyasal kompozisyonu belirlenen üç bitkinin de belirli mikroorganizma türleri açısından yüksek seviyede antimikrobiyal etki oluşturduğu görülmüştür. Antibiyotik direncinin giderek daha büyük bir sorun haline gelmesi yeni nesil antimikrobiyal ajanların keşfini zorunlu hale getirmeye başlamıştır. Bitkiler, yeni nesil antibiyotik arayışı içerisinde giren ilaç endüstrisi için bu tarz çalışmaların artmasıyla birlikte alternatif bir çözüm yolu oluşturabilirler.

Çalışmamızda kullandığımız üç farklı bitki türünün antimikrobiyal aktiviteleri ve kimyasal karakterizasyonları üzerine gerçekleştirdiğimiz araştırma bulguları ile benzer çalışmalarda elde edilen veriler arasındaki farklılıkların temel nedeni, bitki etken maddelerinin izolasyonu için uygulanan tekniklerdeki farklılıklar ya da antimikrobiyal etkiyi belirlemek için kullanılan deneysel metod farklılıkları olabilir [185, 186]. Farklılıkların nedeni tür içinde değişkenlik gösterebilen ikincil metabolitlerin yapısı

olabilir [186]. Bitkideki uçucu yağ oranları ve kompozisyonlardaki değişkenlikler; ekolojik veya bireysel varyasyonlara [187], konuma [188], çevre ve topografik şartlara [189], coğrafik nedenlere [190], iklim etkisine ([189], [190]), gün içindeki sıcaklık değişimlerine ve bitkinin gelişim sürecine [190], bitkinin genetiğine [188], bitkinin yaşına ve organlarına [189], bitkinin hasat zamanına, kemotiplerine, kurutma şartlarına, damıtma yöntemine yada kuvvetle muhtemel genetik değişimlere neden olan polenleşmeye [190] bağlı olarak değiştiği söylenebilir. Ayrıca benzer çalışmalarda elde edilen inhibisyon zonlarının çapları arasındaki farklılıklar, diskte yer alan antimikrobiyal ajanın miktarı ve difüzyon yeteneği, petri kaplarındaki agarın kalınlığı gibi nedenlere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Dolayısıyla bu metod, uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesinin etkinliğinin belirlenmesi adına kullanılabilir olsa da elde edilen verilerin yayımlanmış sonuçlarla karşılaştırılması için doğru olmayabilir ([191]; [192]).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada bitki materyali olarak kullanılan *Prunella vulgaris* L., *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl., *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. türlerinin standart prosedürler dahilinde elde edilen etanol, kloroform ve etil asetat ekstraktlarının antimikrobiyal yeterliliklerinin ve özelliklerinin bilimsel metodlar kullanılarak tespit edilmesi amaçlanmıştır ve elde edilen özgün veriler diğer çalışmalar ile karşılaştırılarak literatüre katkı sağlaması hedeflenmiştir. Çalışmada kullandığımız bitki türleri hakkında gerçekleştirilmiş bazı benzer araştırmalar bulunsa da, çalışmamız Gram (+) ve Gram (-) 10 farklı bakteri türü ile 5 farklı mayanın test mikroorganizması olarak, 5 farklı antifungal ile 9 farklı antibiyotik pozitif kontrol olarak kullanılıp antimikrobiyal etkinin görüldüğü ilk çalışmadır. *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C.Presl. ve *Prunella vulgaris* L. bitkilerinin antimikrobiyal aktiviteleri ve kimyasal karakterizasyonlarının belirlenmesi için yapılmış çalışmalar bulunuyor olsa da, *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys* L. bitkisi için literatürde yeterli çalışma bulunmadığı anlaşılmaktadır. Çalışmada kullanılan test mikroorganizmalarından bazılarının mukayese antibiyotiklerinin üzerinde bir etki göstermesi oldukça önemlidir. Çünkü bitkilerin antimikrobiyal etkisinden sorumlu kimyasal bileşiklerin izole edilip diğer antibiyotikler ile ortak kullanımı, bu türlere karşı olan antimikrobiyal mücadeleyi kolaylaştırabilir. Ayrıca mikroorganizmaların zamanla geliştirdiği antibiyotik direnci sorunu, bu özelliklerdeki bitkiler kullanılarak aşılabılır.

Özellikle son dönemlerde farklı yapılarıdaki çeşitli antimikrobiyal maddelere karşı mikroorganizmaların giderek artan bir ivme ile direnç geliştirmeye başlaması bilim insanlarını yeni nesil antibiyotik arayışına yöneltmiştir. Geleneksel halk tıbbında çok uzun yıllardan beri, tedavi amacıyla kullanılan bitkiler ile bu bitkilerden izole edilen kompleks bileşiklerin yeni antibiyotikler üretiminde en hızlı ve öncelikli çözümlerden biri olabileceği kabul görmeye başlamıştır. Elde ettiğimiz sonuçlarda içerisinde sadece tek bir bakteri yada maya üzerinde bile anlamlı bir antimikrobiyal etkinin gözlenmesi, bize çeşitli bitki ekstraktlarının tedavi amaçlı olarak kullanılabileceğini ve sentetik temelli antibiyotiklere hem alternatif hemde rakip olabileceğini göstermesi açısından önem arz etmektedir. Ülkemizdeki bitki çeşitliliğinin yüksek ve endemizm oranının fazla olması, benzer çalışmalara yönelik önemli fırsatlar sunmaktadır. Bitkilerden farmakolojik yararlarının ciddi seviyelerde olduğu günümüzde, ülkemizdeki potansiyele rağmen yeterince antimikrobiyal aktivite çalışmalarının yapılmadığı

görülmektedir. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarının zamanla artması, ülkemizdeki ilaç endüstrisinin gelişimine ivme kazandıracak gibi, bu tarz çalışmaların desteklenmesi ve teşvik edilmesi, tedavisi zor olan yada olmayan pek çok hastalığa karşı yeni nesil tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine çok önemli katkılar sağlayabilir.



KAYNAKLAR

- [1] Koçyiğit, M., (2005). Yalova İlinde Etnobotanik Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul, Türkiye.
- [2] Özbek, H., (2005). Cinsel ve Jinekolojik Sorunların Tedavisinde Bitkilerin Kullanımı. *Van Tıp Dergisi*: 12 (2):170-174.
- [3] Baytop, T., (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitapevleri, II. Baskı ISBN: 975-420-021-1. İstanbul, 480s
- [4] Farnsworth, N. R., Akerev, O. Bingel, A.S., (1985). *The Bulletin of WHO.*, 63: 9865-9871.
- [5] Ertürk, Ö. & Demirbağ Z., (2003). *Scorzonare mollis* Bieb. (Compositae) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi, *Çevre Koruma Dergisi*, 12-47, 27-31.
- [6] Aslan, N., (2005). Kekik Tarımı ve Kullanım Alanları, Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Lisans Bitirme Tezi.
- [7] Eloff, J.N., (1998). Which Extractant should be used for the Screening and İsolation of Antimicrobial Components from Plants, *J. Ethnopharmacol.*, 60:1-8.
- [8] Toroğlu, S. ve Çenet, M., (2006). Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi için Kullanılan Metodlar. *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2): 12-21
- [9] Vital, PG., Velasco, JRN., Demigillo, JM. And Rivera, WL., (2010). Antimicrobial activity, cytotoxicity and phytochemical screening of *Ficus septica* Burm and *Sterculia foetida* L. leaf extracts. *The Journal of Medicinal Plants Research.*, 4: 58-63.
- [10] Njume, C., Afolayan, AJ. and Ndip, RN., (2009). An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* Infections. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.*, 3:685-699.
- [11] Hussain, T., Arshad, M., Khan, S., Satar, H. and Qureshi, MS., (2011). In Vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity. *Pakistan Journal of Botany.*, 43:531-538.
- [12] Maksimovic, Z.A., Dordeviv, S., Mraovic, M., (2005). Antimicrobial Activity of *Chenopodium botrys* Essential Oil. *Fitoterapia*, 76: 112-114.
- [13] Yarnel, E., Abascal, K., (2004). The Leading Publisher in Biotechnology. *Alternative & Complementary Therapies Part 2: Vol. 10(5): 277-284.*

- [14] 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.
- [15] Essawi, T., Srour, M., (2000). Screening of Some Palestinian Medicinal Plants for Antibacterial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 70: 343-349.
- [16] Marino, M., Bersani, C. & Comi, G., (1999). Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Thymus vulgaris* L. Measured Using a Bioimpedometric Method, *Journal of Food Protection*, Vol. 62(9): Pages 1017–102.
- [17] Elgayyar, M., Draughon, F.A., Golden, D.A., Mount J.R., (2001). Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants Against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganisms. *Journal of Food Protection*, 64: 1019-1024
- [18] O’Gara, E., Hill, D.J., Maslin, D.J., (2000). Activities of Garlic Oil, Garlic Powder and their Diallyl Constituents Against *Helicobacter pylori*. *Appl. Environ. Microbiology.*, 66: 269-273.
- [19] Mau, J.L., Chen, C.P., Hsieh, P.C., (2001). Antimicrobial Effects of Extracts from Chinese chive, Cinnamon and Corni fructus. *J. Agric. Food Chemistry.*, 49: 183-188.
- [20] Yarnel, E., Abascal, K., (2004). The Leading Publisher in Biotechnology. *Alternative & Complementary Therapies Part 2: Vol. 10(5): 277-284.*
- [21] Warren, J.R. (1983). Unidentified Curved Bacilli on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis. *Lancet*, 1: 1273-1275.
- [22] Ohno, T., Kita, M., Yamaoka, Y., Imamura, S., Yamamoto, T., Mitsufuji, S., Kodama, T., Kashima, K., Imanishi, J., (2003). Antimicrobial Activity of Essential Oils Against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 8(3): 207.
- [23] Acevedo, J. A., López, J. M., Cortés, A. M., Bores, A. G., Cortés, G. M., & Castro, I. P. (2005). In vitro anti-*Vibrio cholerae* activity of essential oil from *Lepechinia caulescens*. *Fitoterapia*, 76(1): 104-107.
- [24] Nostro, A., Germano, M. P., D’Angelo, V., Marino, A. and Canatelli, M. A., (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology*. 30: 379-384.
- [25] Sağdıç, O., (2003). Sensitivity of Four Pathogenic Bacteria to Turkish Thyme and Oregano Hydrosols. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*. 36: 467-473
- [27] Hohman, J., Molnar, J. and Schelz, Z., (2006). Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*. 77:279-285.

- [28] Bammi, J., Khelifa, R., Remmal, A., (1997). Etudes de l'activite antivirale de quelques huiles essentielles, in proceedings of the intern, Congr. Arom. Medicinal Plants & Essential Oils, Benjlali B., Ettalibi M., İsmaili-Alaoui M., Zrira S (eds), Actes Editions, Rabat, Morocco, 502.
- [29] Shanthi, Sree, KS., Yasodamma, N. and Paramageetham, CH., (2010). Phytochemical screening and in vitro antibacterial activity of the methanolic leaf extract: *Sebastiania chamaelea* Müell. Arg. *The Bioscan*, 5: 173-175.
- [30] Mohd Nazri, NAA., Ahmat, N., Adnan, A., Syed Mohamad, SA. & Syaripah Ruzaina SA. (2011). In vitro antibacterial and radical scavenging activities of malaysian table salad. *African Journal of Biotechnology.*, 10:5728-5735.
- [31] Dash, BK., Sultana, S. and Sultana, N., (2011). Antibacterial activities of methanol and acetone extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum*) and Coriander (*Coriandrum sativum*). *International Journal of Life Science and Medical Research*, 27:1-8.
- [32] Başer, K.H.C.,(2000). Çeviren: Yenen O.S., Jawetz, Melnick ve Adelberg Tıbbi Mikrobiyoloji. 26. basım, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul; 2014, s: 229-236.1:39.
- [33] Coşkun, M. & Özkan, A. M. G., (2005). Global phytochemistry: The Turkish Frame, *Phytochemistry*, 66: 956-960.
- [34] Davis, P.H. (1965-1985). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 1-9. *Edinburgh University Press*, Edinburgh.
- [35] Davis, P. H., Mill, R.R. & Tan, K. (1988). Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol. 10, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- [36] Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Baser, K.H.C., (2000). Flora of Turkey, Volume 11, Edinburgh University Press. Edinburgh.
- [37] Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., (2000). Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı Eğrelti ve Tohumlu bitkiler. Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Ankara.
- [38] Harley RM, Aktins S, Budantsev AL, Cantino PD, Conn BJ, Grayer R, Harley MM, Kok R, Krestovskaja T, Morales R, Paton AJ, Ryding O, Upson T., (2004). The Families and Genera of Labiatae. 167-225, içinde; *Flowering Plants-Dicotyledons* (eds: J.W. Kadereit). Springer, Hamburg.
- [39] Jamzad Z. (2013). A Survey of Lamiaceae in the Flora of Iran. *Rostaniha*, 14 (1): 59-67.
- [40] Erdem F., (2013). *Sideritis vulcanica* Hub.- Mor. (Lamiaceae) Türünün (Endemik) Taksonomik Yönden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

- [41] Kaplan, A., Çölgeçen, H., & Büyükkartal, H. N. (2009). Seed morphology and histology of some *Paronychia* taxa (Caryophyllaceae) from Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 38(2): 171-176.
- [42] İpek A., Gürbüz B., (2008). Türkiye Florasında Bulunan *Origanum* Türleri, *Ziraat Mühendisliği*, 350, 4–7.
- [43] Ersoy H., (2009). EDTU Herbaryumu'nda Bulunan Lamiaceae (Ballıbabgiller) Familyasının Revizyonu. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne
- [44] Keskin H., (2014). Hatay'da Yayılış Gösteren *Teucrium polium* L. (Lamiaceae) Populasyonlarında Uçucu Yağ, Flavonoid ve Toprak Analizleri. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- [45] Çınar A, (2010). Antalya İlinde Yayılış Gösteren Bazı *Sideritis* Taksonlarında Genetik İlişkilerin DNA Dizi Analiz Yöntemi İle Belirlenmesi. Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- [46] Kara B., (2006). Kronik Böbrek Yetmezliğine Bitkisel Ürünlerin Etkisi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 48: 189-193.
- [47] Ernaz A., (2009). Iğdır İlinin (Doğu Anadolu Bölgesi) Doğal Bitkilerinin Halk Tarafından Kullanımı. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. *Medicinales et Phytotherapie*, 24(3): 152-157.
- [48] Arıtuluk ZC, Ezer N., (2012). Halk Arasında Diyabete Karşı Kullanılan Bitkiler (Türkiye)-II. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(2):179-208.
- [49] Heywood, V.H., (1978). *Flowering Plants Of the World*. Oxford University Press. 336 s.
- [50] Harley RM, Aktins S, Budantsev AL, Cantino PD, Conn BJ, Grayer R, Harley MM, Kok R, Krestovskaja T, Morales R, Paton AJ, Ryding O, Upson T., (2004). The Families and Genera of Labiales. 167-225, içinde; *Flowering Plants-Dicotyledons* (eds: J.W. Kadereit). Springer, Hamburg.
- [51] Kılıç, A., (2005). Bitkisel Kaynaklı Bazı Uçucu Yağ ve Monoterpenlerin Olası Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, 72 s., 1-3
- [52] Sotto. A.D., Evandri, M.G. and Mazzanti, G., (2008). Antimutagenic and mutagenic activities of some terpenes in the bacterial reverse mutation assay. *Mutation research*, 653(1-2): 130-133.
- [54] Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P.L. and Morelli, I., (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 39(3): 167-170.

- [55] Cowan, M.M., (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *American Society for microbiology*, 12 (4): 564-582.
- [56] Çelik, E. ve Çelik, G.Y.,(2007). Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri. *Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2): 1-6
- [57] Pişkin, Ç., (2007). Lamiaceae Familyasına Mensup Bazı Baharat Bitkilerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye, 52 s., 10.
- [58] Bozin, B., Mimika-Dukic, N., Simin, N. and Anackov, G.,(2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 54: 1822-1828.
- [59] Karaman, S.,& Kocabas, Y. Z. (2001). Traditional medicinal plants of K. Maras (Turkey). *The Sciences*, 1(3): 125-128.
- [60] Solmaz E., (2009). *Lamium purpureum* L. var. *Purpureum* Türünün Farklı Ekstrelerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi ve Aktivitede Rol Oynayan Fenoliklerin Belirlenmesi: Yüksek Lisans Tezi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, Türkiye, 120 s., 1-10.
- [61] Kendir, G. ve Güvenç, A., (2010). Etnobotanik ve Türkiye’de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30(1): 49-80.
- [62] Yıldırım, Ş., (2014). Anadolu Botanik Tarihi, in A. Güner & T. Ekim (Edl.) ‘Resimli Türkiye Florası’. ANG Vakfı, FAD ve Türkiye İş Bankası Yayınları 3090, NGBB Yayınları Flora Dizisi, Cilt 1, 763 s., 265-286.
- [63] Cellat, K., Gül, S. and Everest, S.A., (2011). Investigation of Essential Oil Composition of *Stachys rupestris* Montbret Et Aucher Ex Bentham from Mersin. VII. Lokman Hekim Days, Poster Discussio
- [64] Ahıskalıoğlu, A.,(2007). *Anemone narcissiflora* bitkisinin karakterizasyonu ve biyolojik aktivitesinin incelenmesi (Doctoral dissertation, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı
- [65] Ertuğ, E., (2017). Lamiaceae familyasının Anadolu Etnobotanik Mirası. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 4: 2-6
- [66] Ertuğ, E., (2014). Etnobotanik, Resimli Türkiye Florası. İş Bankası Kültür yayınları, 1. Baskı , 327 s.
- [67] Ekim, T., (2014). Damarlı Bitkiler Resimli Türkiye Florası I, Ali Nihat Gökyiğit Vakfı, Flora Araştırmaları Derneği ve Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları 161 s., 85.

- [68] Ahıskalı, M. ve Malyer, H., (2015). Türkiye’de Tedavi Amaçlı Kullanılan Bitkiler. I. Ulusal Bitki Biyolojisi Kongresi, Bolu, 2-4 Eylül, 102-218
- [69] Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed, S.M. and Ghorbani, A., 2005. Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2: 63-79.
- [70] Şimşek, I., Aytekin, F., Yeşilada, E. ve Yıldırım, Ş., (2002). Anadolu’da Halk Arasında Bitkinin Kullanış Amaçları Üzerinde Etnobotanik Bir Çalışma. Ankara, 705-720.
- [71] Kızıllarslan, Ç., (2008). İzmit Körfezi’nin Güney Kesiminde Etnobotanik Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 87 s., 12-14
- [72] Jitin, R., (2013). An ethnobotanical Study of Medicinal Plants in Taindol Village. District Jhansi, Region of Bundelkhand, Uttar Pradesh, *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1(5): 59-7
- [73] Aydın, S., (2004). Anadolu Diyagonalı: Ekolojik Kesinti Tarihsel-Kültürel Farklılığa İşaret edebilir mi ? *Kebikeç İnsan Bilimleri için Kaynak Araştırmaları Dergisi*, 17: 117-137.
- [74] Baytop, T., (1997). Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Atatürk Kültür Dil ve Tarih Yüksek Kurumu Türk Dil Kurumu Yayınları, 978 s., 298
- [75] Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M.T., (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*, 350 s., 341
- [76] Ahmed, J.H, Ezer N., (2008). *Prunella* L. türlerinin kimyasal bileşikleri ve biyolojik aktiviteleri. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 28(1): 93-113.
- [77] Edmondson, J.R., (1982). “*Prunella* L.”, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Ed.: Davis, P.H., University Press, Edinburg, Vol. 7, pp: 295-297.
- [78] Lamaison, J.L., Petitjean-Freytet, C., (1990). Derives hydroxycinnamiques et flavonoides dans le genre *Prunella* (Lamiaceae): Activites antioxydantes et interet chimiotaxonomique. *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 24(3): 152-157
- [79] Pinkas, L. (1971). Food habits study. Fish Bulletin 152 Food habits of albacore, bluefin tuna, and bonito in California water, 5-10.
- [80] Vostálová, J., Zdařilová, A., Svobodová, A., (2010). *Prunella vulgaris* extract and rosmarinic acid prevent UVB-induced DNA damage and oxidative stress in HaCaT keratinocytes. *Archives of Dermatological Research*, 302(3): 171–181.

- [81] Touwaide, A., Appetiti, E., (2013). Knowledge of Eastern materia medica (Indian and Chinese) in pre-modern Mediterranean medical traditions: A study in comparative historical ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 148(2): 361–378.
- [82] Matthioli, P.A., (1626). *Kräuterbuch*, Norinberg
- [83] Ortiz, R., (2010). Molecular Plant Breeding. *Crop Science*, 50(5): 2196–2197.
- [84] Kural, K., (2012). Trabzon çevresinde yayılış gösteren faydalı bitkiler üzerinde ekonomik botanik yönünden araştırmalar. Unpublished Msc Thesis, İstanbul University, İstanbul
- [85] Vostálová, J., Zdařilová, A., Svobodová, A., (2010). *Prunella vulgaris* extract and rosmarinic acid prevent UVB-induced DNA damage and oxidative stress in HaCaT keratinocytes. *Archives of Dermatological Research*, 302(3): 171–181.
- [86] Jones RN, Pfaller MA, Doern GV., (1999) International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species in the European SENTRY program: Species distribution and antifungal susceptibility including the investigational triazole and echinocandin agents. *Diagn Microbiol Infect Dis*; 35: 19-25
- [87] Psotova, J., Kola, M., Sousek, J., Ivagera, Z., Vicar, J., Ulrichova, J., (2003). Biological activities of *Prunella vulgaris* extract. *Phytotherapy Research*, 17: 1082–1087.
- [88] Park, Sik, K., Kim, H.S., Ahn, J.S., Kim, T.S., Park, P.U., Kwak, W.J., Han, C.K., Cho, Y.B., Kim, K.H., (1995). Preparation of antiinflammatory herbal drug, SK1306K. *Yakhak Hoeji*, 39(4): 385-394
- [89] Choi, J.H., Kim, D.Y., Yoon, J.H., Youn, H.Y., Yi, J.B., Rhee, H.I., Ryu, K.H., Jung, K., Han, C.K., Kwak, W.J., Cho, Y.B., (2002). Effects of SKI 306X. A new herbal agent, on proteoglycan degradation in cartilage explant culture and collagenase-in-duced rabbit osteoarthritis model osteoarthritis and cartilage, 10(6): 471-478
- [90] Könemann., (1999). The Illustrated A-Z of over 10,000 Garden Plants and How to Cultivate them, Botanica, Gordon, 885. *Cheers Publication*: Hong Kong.
- [91] Davis, P.H., (1982). Flora of Turkey and The East Aegaen Islands. Edinburg University Press, *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 5(6): 843-846
- [92] Marino, M., Bersani ,C. & Comi, G., (1999). Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Thymus vulgaris* L. Measured Using a Bioimpedometric Method, *Journal of Food Protection*, 62(9): 1017

- [93] Bektaş, E., (2010). Üç *Thymus* L. Türüne ait Özüt ve Uçucu Yağların Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon
- [94] Galasso S, Pacifico S, Kretschmer N, Pan SP, Marciano S, Piccolella S, et al. (2014) Influence of seasonal variation on *Thymus longicaulis* C. Presl chemical composition and its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Phytochemistry*.;107:80-90.
- [95] Sarikurkcu C, Sabih Ozer M, Eskici M, Tepe B, Can S, Mete E., (2010) Essential oil composition and antioxidant activity of *Thymus longicaulis* C. Presl subsp. *longicaulis* var. *longicaulis*. *Food and Chemical Toxicology*.;48(7):1801-5.
- [96] Antognoni F, Iannello C, Mandrone M, Scognamiglio M, Fiorentino A, Giovannini PP, P. Ferruccio (2012) Elicited *Teucrium chamaedrys* cell cultures produce high amounts of teucroside, but not the hepatotoxic neo-clerodane diterpenoids. *Phytochemistry*.;81:50-9.
- [97] Ulubelen A, Topu G, Sönmez U., (2000). Chemical and biological evaluation of genus *Teucrium*, *Studies in Natural Products Chemistry. Elsevier*, 23: 591-648
- [98] Bağcı E, Yazgın A, Hayta S, Cakılcıoğlu U., (2010). Composition of the essential oil of *Teucrium chamaedrys* L.(Lamiaceae) from Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(23): 2588-2590.
- [99] Bruno M, Maggio AM, Piozzi F, Puech S, Rosselli S, Simmonds MS.,(2003). Neoclerodane diterpenoids from *Teucrium polium* subsp. *polium* and their antifeedant activity. *Biochemical systematics and ecology*, 31(9): 1051-1056.
- [100] Kadıfkova Panovska T, Kulevanova S, Stefova M., (2005). In vitro Antioxidant activity of some *Teucrium* species (Lamiaceae). *Acta Pharmaceutica*, 55(2): 207-214.
- [101] Vlase L, Benedec D, Hanganu D, Damian G, Csillag I, Sevastre B, Mot AC, Silaghi-Dumitrescu R, Tilea I., (2014). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules* (Basel, Switzerland).; 19(5): 5490-5507.
- [102] Gursoy, N.,& Tepe, B., (2009). Determination of the antimicrobial and antioxidative properties and total phenolics of two “endemic” Lamiaceae species from Turkey: *Ballota rotundifolia* L. and *Teucrium chamaedrys* C. Koch. *Plant foods for human nutrition*, 64(2): 135-140.
- [103] Bosisio E, Giavarini F, Dell'Agli M, Galli G, Galli CL.,(2004) Analysis by highperformance liquid chromatography of teucrin A in beverages flavoured with an extract of *Teucrium chamaedrys* L. *Food Additives & Contaminants*.; 21(5):407-14.

- [104] Gdc, F., (2014). *Pyrus elaeagrifolia* bitkisi ekstrelerinin fenolik madde içerikleri, DPPH radikali giderme aktiviteleri ve in vitro antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Edirne, 69 s.
- [105] Brock, Madigan, Martinko. ve Parker., (1994). Biology of Microorganisms. seventh ed. *Prentice Hall, Englewood Cliffs*, New Jersey, USA.
- [106] Bektaş, E., (2011). *Cotinus coggygria* (Scop.) Bitkisinin aktioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 90 s.
- [107] şen, C., (2011). *Hibiscus sabdariffa* L. bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Edirne, 63 s.
- [108] Akyüz, E. (2007). *Polygonum bistorta* ssp. *carneum* bitki ekstraktlarının kromotografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Trabzon, 93 s.
- [109] Clardy, J. ve Walsh, C., (2004). Lessons from natural molecules. *Nature*, 432(7019): 829.
- [110] Samy, RP. ve Gopalakrishnakone, P. (2010). Therapeutic potential of plants as antimicrobials for drug discovery. *Evid Based Complement Alternat Medicine*, 7: 283-294
- [111] Turan, T. (2007). Cumhuriyet niversitesi araştırma ve uygulama hastanesi mikrobiyoloji labaratuvarına gönderilen örneklerdeki *Pseudomonas aureginosa* şuşlarının in-vitro antibiyotik duyarlıklarının son 10 yıl açısından değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas, 64s
- [112] Lemay, M.J., Choquette, J., Delaquis, P.J., Gariepy, C., Rodrigue, N. ve Saucier, L., (2002). Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. *International Journal of Food Microbiology*, 78: 217-226.
- [113] Davidson, P.M., Parish, M.E., (1989). Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technology* 43: 148–155.
- [114] Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C., Baerheim Svendsen, A., (1987). Antimicrobial activity of essential oils: a 1976– 1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta Medica* 53: 396–398
- [115] Rios, J.L., Recio, M.C., Villar, A., (1988). Screening methods for natural antimicrobial products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology* 23: 127– 149.
- [116] tk, G., (1992). Antibiyogramların deęerlendirilmesi. *Antibiyotikler*, s. 11-17

- [117] Burt, S.,(2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- [118] Altuner, M.E., (2008). Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, s. 26-44.
- [119] İşcan, G., Demirci, F., Kırimer, N., Kürkçüoğlu, M., Baser, K.H.C., Kıvanç, M., (2002). Bazı Umbelliferae türlerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyel etkileri. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler (29-31 Mayıs, Eskisehir):355-366. ISBN 975-94077-2-8
- [120] Mann, C.M., Markham, J.L., (1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology* 84: 538– 544.
- [121] Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M., El-Baroty, G.S.A., (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection* 52(9): 665– 667.
- [122] Adıgüzel, A., Güllüce, M., Sengül, M., Ögütçü, H., Sahin, F., Karaman, Ş.,(2005). Antimicrobial Effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) Extract. *Turkish Journal of Biology*, 29: 155-160
- [123] Benli, M. ve Yigit, N., (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyel aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*. 3(8):1-8.
- [124] Deans, S.G., Simpson, E., Noble, R.C., MacPherson, A., Penzes, L., (1993). Natural antioxidants from *Thymus vulgaris* (thyme) volatile oil: the beneficial effects upon mammalian lipid metabolism. *Acta Horticulturae* 332: 177– 182.
- [125] Dorman, H. J. D.,& Deans, S. G., (2000). Antimicrobial agents from plants, antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308-316.
- [126] Anonim,(12Ağustos2021).[Online]. Erişim: http://en.wikipedia.org/wiki/Gas_chromatography-mass_spectrometry Gas Chromatography – Mass Spectrometry, From Wikipedia, The Free Encyclopedia
- [127] Anonim,(13Ağustos2021)....[Online]. Erişim: <http://www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html>
- [128] Anonim,(13Ağustos2021).[Online]. Erişim: http://testequipment.global-spec.com/LearnMore/Labware_Test_Measurement/Chromatography_Instrument/GC_Columns About GC Columns

- [129] Anonim, (13 Ağustos 2021). [Online]. Erişim: <http://www.chromatography-online.org/directory/methdcat-2/page.html> GC/FID
- [130] Sarı, A. O., Bilgin, Oğuz., Bilgiç, A., Nedret, Tort., Güvensen, A., & Gökhan, S. (2006) Batı Anadolu'da halk ilacı olarak kullanılan Lamiaceae Türleri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 16(2): 50-67.
- [131] Rasool, R., Ganai, B.A., Akbar, S., Kamili, A.N. ve Masood, A., (2010). Phytochemical Screening of *Prunella vulgaris* L. An Important Medicinal Plant of Kashmir, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23: 399- 402
- [132] Mahboubı, M., Mahboubı, A. ve Kazempour, N., (2015). The Antimicrobial Activity of *Prunella Vulgaris* Extracts. *Herba Polonica*, 61(1): 31-38. DOI: 10.1515/hepo-2015-0008.
- [133] Komal, S., Kazmi, S. A. J., Khan, J. A. ve Gilani, M. M., (2018). Antimicrobial Activity of *Prunella Vulgaris* Extracts Against Multi-drug Resistant *Escherichia Coli* from Patients of Urinary Tract Infection. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 34(3):616. DOI:10.12669/pjms.343.14982
- [134] Kırbağ, Sevda; Zengin, Fikriye; Kürşat, Murat., (2009). Antimicrobial activities of extracts of some plants. *Pakistan Journal of Botany*; 41(4): 2067-2070.
- [135] Chaleshtori, S.H., Kachoie, M.A., Pirbalouti, A.G., (2016). Phytochemical analysis and antibacterial effects of *Calendula officinalis* essential oil. *Biosciences and Biotechnology Research Communication*, 9(3): 517 522. <https://doi.org/10.21786/bbrc/9.3/26>
- [136] Sarac, N., & Uğur, A. (2007). Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. *EurAsian Journal of BioScience (elektronik)*, 4:28-34
- [137] Azaz, A. D., Irtem, H. A., Kurkcuoglu, M. & Başer, K. H. C., (2004). Composition and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of some Thymus species. *Zeitschrift für Naturforschung*, 59(c): 75–80.
- [138] De Martino, L., Bruno, M., Formisano, C., De Feo, V., Napolitano, F., Rosselli, S., & Senatore, F., (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of Thymus growing wild in southern Italy. *Molecules*, 14(11): 4614-4624.
- [139] Boskovic, M., Zdravkovic, N., Ivanovic, J., Janjic, J., Djordjevic, J., Starcevic, M., & Baltic, M. Z., (2015). Antimicrobial activity of thyme (*Tymus vulgaris*) and oregano (*Origanum vulgare*) essential oils against some food-borne microorganisms. *Procedia Food Science*, 5: 18-21.

- [140] Chorianopoulos, N., Kalpoutzakis, E., Aligiannis, N., Mitaku, S., Nychas, G. J., & Haroutounian, S. A. (2004). Essential oils of *Satureja*, *Origanum*, and *Thymus* species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 8261-8267.
- [141] Giordani, R., Regli, P., Kaloustian, J., Mikail, C., Abou, L., & Portugal, H., (2004). Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytotherapy Research*, 18(12): 990-995
- [142] Fani, M. & Kohanteb J., (2017), In Vitro Antimicrobial Activity of *ThymusVvulgaris* Essential Oil Against Major Oral Pathogens, *Journal of Evidence-Based Complementary &Alternative Medicine*; 22(4): 660-666
- [143] Berber, İ., Avşar, C., Nevra, Çine., Bozkurt, N., & Elmas, E., (2013). Sinop’da yetişen bazı bitkilerin metanolik ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal aktivitelerinin belirlenmesi. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3(1): 10-16.
- [144] Rabe, T. and Van Staden, J. (1997). Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. *Journal of Ethnopharmacology* 56(1): 81-87.
- [145] Çon, A.H., Ayar, A. ve Gökalp, H.Y., (1998). Bazı baharat uçucu yağlarının çeşitli bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi. *Gıda*. 23(3): 171-175.
- [146] Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M., & Özçelik, S. (2002). Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157: H7. *Food Microbiology*, 19(5): 473-480.
- [147] Alzoreky, N.S.and Nakahara, K., (2003). Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *İnternatonal Journal of Food Microbiology*, 80: 223-230.
- [148] Asghari, G., Akbari, M. and Samani, M., (2017).Phytochemical Analysis of Some Plants From Lamiaceae Family Frequently Used in Folk Medicine in Aligudarz Region of Lorestan Province. *Marmara Pharmaceutical Journal* 21(3): 506-514.
- [149] Martino, L.D. Feo, V.D. and Nazzaro F., (2009). Chemical composition and *in Vitro* antimicrobial mutagenic activities of seven Lamiaceae essential oils, *Molecules*, 14: 4213-4230.
- [150] Shan, B., Cai, Y., Brooks, J.D. and Corke, H., (2007) The In Vitro Antibacterial Activity of Dietary Spice and Medicinal Herb Extracts. *International Journal of Food Microbiology*. 117: 112-119

- [151] Küçük, M., Güleç, C., Yaşar, A. O., Yaylı, N., Coşkunçelebi, K., & Yaylı, N. (2006). Chemical Composition and Antimicrobial Activities of the Essential Oils of *Teucrium chamaedrys* subsp. *chamaedrys*., *T. orientale*. var. *puberulens*., and *T. chamaedrys*. subsp. *lydium*. *Pharmaceutical biology*, 44(8): 592-599.
- [152] Inayatullah, S., Shafee, M., Shafiq, M., Asif, M., Parveen, S., Kakar, K. at all., (2017) Antimicrobial activity of Thyme (*Thymus vulgaris*) essential oilcultivated in Quetta, Balochistan, Pakistan, *International Journal of Biosciences* 10(2): 105-110
- [153] Ünsal, Ç., Vural, H., Sariyar, G., Özbek, B., & Ötük, G., (2010). Traditional Medicine in Bilecik Province (Turkey) and Antimicrobial Activites Of Selected. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(2): 139-150.
- [154] Collins, C.M. & Lyne, P.M., (1987). *Microbiological Methods*. Butterworths & Co. Ltd., London
- [155] Gazala, Q., Murtaza, I., Ara, S., Qazi, H., Geelani, S. M., & Amir, S., (2016). Characterization and antimicrobial activity of some natural dye yielding plant species of Kashmir Valley. *Journal of Industrial Pollution Control*, 32(2): 518-528.
- [156] Tosun, M. N., Zorba, N. N. D., & Yüceer, Y., (2021). The anti-quorum sensing and antitumor activity of *Prunella vulgaris*, *Sambucus nigra*, *Calendula officinalis*: Potential use in food industry: Potential use in food industry. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 10(5): e2774-e2774.
- [157] Patterson, T. F., & Andriole, V. T. (1989). The role of liposomal amphotericin B in the treatment of systemic fungal infections. *European journal of cancer & clinical oncology*, 25: 63-8.
- [158] Tzakou, O., Verykokidou, E., Roussis, V. & Chinou, I., (1998). Chemical Composition and Antibacterial Properties of *Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* Oils: Three Chemotypes in the Same Population, *Journal of Essential Oil Research*, 10(1): 97-99
- [159] Vladimir-Knežević, S., Kosalec, I., Babac, M., Petrović, M., Ralić, J., Matica, B., & Blažeković, B., (2012). Antimicrobial activity of *Thymus longicaulis* C. Presl essential oil against respiratory pathogens. *Central European Journal of Biology*, 7(6): 1109-1115.
- [160] Yaylı, N., (2007). Bazı teucrium L. taksonlarında uçucu yağların kimyasal bileşimleri ve antimikrobiyal aktiviteleri (Doctoral dissertation, Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya Anabilim Dalı).
- [161] Thimmappa, R.; Geisler, K.; Louveau, T.; O'Maille, P.; Osbourn, A. (2014). "Triterpene biosynthesis in plants". *Annual Review of Plant Biology*. 65: 225-257.

- [162] Choura, Mekki; Belgacem, Naceur M.; Gandini, Alessandro., (1996). "Furfuril Alkolün Asit Katalizli Polikondensasyonu: Kromofor Oluşumu ve Çapraz Bağlanma Mekanizmaları". *Makromoleküller* . 29 (11): 3839–3850.
- [163] Kurt Kosswig., (2005) "Sümfaktanlar", Ullmann'ın Endüstriyel Kimya Ansiklopedisi. Weinheim: Wiley-VCH. doi : 10.1002/14356007.a25_747
- [164] Anonim, (7 Ekim 2021). [Online]. Erişim: https://tr.wikipedia.org/wiki/Palmitik_asit
- [165] Anonim, (7 Ekim 2021). [Online]. Erişim: <https://en.wikipedia.org/wiki/Phytol>
- [166] Anonim, (13 Ekim 2021). [Online]. Erişim: https://tr.wikipedia.org/wiki/Stearik_asit
- [167] Anonim, (17 Ekim 2021). [Online]. Erişim: <https://en.wikipedia.org/wiki/Oleamide>
- [168] Jain, M., Saxena, V.K., Chemical examination of the fat from the leaves of *Prunella vulgaris*, *India Journal of Chemistry* 56(3):133-134 (1984), Ref: C.A. 101, 9019m
- [169] Wang, H., Zhang, Z., Su, Z., (1995).The constituents of the essential oil from three plants of the *Prunella*, *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, 29(11): 652-653 (1994b), Ref: C.A. 122, 101651f
- [170] Popa, D.P., Pasechnik, G.S., (1974). Higher terpenoides of some species of Labiatae, *Khimiya Prirodnykh Soedinений*, 4: 529-530
- [171] Lawson, S. K., Sharp, L. G., Satyal, P., & Setzer, W. N., (2020). Volatile components of the aerial parts of *Prunella vulgaris* L.(Lamiaceae). *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 8(1): 17-19
- [172] M. Eggersdorfer (2005). "Terpenler". Ullmann'ın Endüstriyel Kimya Ansiklopedisi. Weinheim: Wiley-VCH.
- [173] Anonim, (7 Ekim 2021). [Online]. Erişim: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Linalool>
- [174] Anonim, (7 Ekim 2021). [Online]. Erişim: <https://en.wikipedia.org/wiki/Squalene>
- [175] Demiryapan, A., (2020). *Teucrium polium* L. ve *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C. Presl Bitkilerinden Elde Edilen uçucu Yağların GS-MS Analizi ve Antimikrobiyal Aktiviteleri. Doctoral dissertation, Kastamonu Üniversitesi

- [176] Kutlular, Ö., (2007). Bazı adaçayı ve kekik türlerinin uçucu yağlarının süper ısıtılmış su ile ekstraksiyonları ve GC-MS ile karakterizasyonları. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli
- [177] Baydar, H. (2005). Yayla kekiği (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. PH Davis)'nde farklı toplama zamanlarının uçucu yağ içeriği ve uçucu yağ bileşenleri üzerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(2): 175-178.
- [178] Borugâ, O., Jianu, Mişcâ, C., Golet, I., Gruia, A.T., & Horhat, F.G. (2014). *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine Life*, 7(3): 56-60
- [179] Rowe, Sophie; Rozeik, Christina., (2008). "The uses of cyclododecane in conservation". *Studies in Conservation*. 53: 17–31.
- [180] Stahl, E.,& Kunde, R. (1973). Neue inhaltsstoffe aus dem ätherischen öl von *Cannabis sativa*. *Tetrahedron Letters*, 14(30): 2841-2844.
- [181] Cane, David E.; McIlwaine, Douglas B., (1987). "The biosynthesis of ovalicin from β -trans-bergamotene". *Tetrahedron Letters*. 28 (52): 6545–6548.
- [182] Muselli, A., Desjobert, J. M., Paolini, J., Bernardini, A. F., Costa, J., Rosa, A., & Dessi, M. A. (2009). Chemical composition of the essential oils of *Teucrium chamaedrys* L. from Corsica and Sardinia. *Journal of Essential Oil Research*, 21(2): 138-143.
- [183] Katayoun, M., Akbarzadeh, M., & Moshiri, K. (2005). Essential oil composition of *Artemisia fragrans* Willd. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20: 330-331.
- [184] YAZGIN, A., (2010). Bazı *Teucrium* L. (Lamiaceae) türlerinin kemotaksonomik yönden araştırılması/Chemotaxonomic investigation of some *Teucrium* L.(Lamiaceae) species, Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi.
- [185] Uysal, T. (2006). Türkiye *Centaurea* (Asteraceae) cinsi *Cheirolepis* (Boiss.) O. Hoffm. Seksiyonunun morfolojik, karyolojik ve moleküler revizyonu. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 196 s
- [186] Dulger, G.,& Dulger, B., (2015). Antimicrobial potential of the leaves of *Stachys pseudopinardii* on microorganisms isolated from urinary tract infections. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, 7(10): 821-826.
- [187] A. Yavari and S.M. Shahagolzari, (2013) "Essential oil variation in the populations of *Stachys inflata* Benth from Iran," *American-Eurasian Journal Agricultural & Environmental Sciences*, 13(5): 735–739

- [188] Cavar, S., Maksimovic, M., & Solic, M. E., (2010). Comparison of essential oil composition of *Stachys menthifolia* Vis. from two natural habitats in Croatia. *Biologica Nyssana*, 1: 99-103.
- [189] Fakir, H., Erbař, S., Murat, Özen & Dönmez, İ. E., (2014). Hayıt (*Vitex agnus-castus* L.)’da farklı toplama zamanlarının uçucu yağ oranı ve bileşenleri üzerine etkisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 1(2): 25-28.
- [190] Conforti, F., Menichini, F., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Arnold, N. A., & Piozzi, F., (2009). Comparative chemical composition, free radical-scavenging and cytotoxic properties of essential oils of six *Stachys* species from different regions of the Mediterranean Area. *Food Chemistry*, 116(4): 898-905
- [191] Deans, S.G., Simpson, E., Noble, R.C., MacPherson, A., Penzes, L., (1993). Natural antioxidants from *Thymus vulgaris* (thyme) volatile oil: the beneficial effects upon mammalian lipid metabolism. *Acta Horticulturae* 332: 177– 182.
- [192] Dorman, H. J. D., & Deans, S. G., (2000). Antimicrobial agents from plants, antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308-316.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-Soyadı: Kaan ÇETİN

Yabancı Dili: İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece Yılı	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet
Y.Lisans	Biyoloji	Düzce Üniversitesi	2022
Lisans	Biyoloji	Balıkesir Üniversitesi	2010
Lise		Zonguldak Atatürk Anadolu Lisesi	2005