

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN SWERTIA TÜRLERİ
ÜZERİNE TAKSONOMİK VE
FİTOKİMYASAL ÇALIŞMALAR**

Yüksek Lisans Tezi

Fatmanur TUNÇ

Eskişehir 2025

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN SWERTIA TÜRLERİ ÜZERİNE TAKSONOMİK VE
FİTOKİMYASAL ÇALIŞMALAR**

FATMANUR TUNÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

(İkinci Danışman: Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN)

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Haziran 2025

Eskişehir

Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü tarafından TYL-2023-1848 proje numarası ile desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Fatmanur Tunç'un "Türkiye'de Yetişen *Swertia* Türleri Üzerine Taksonomik ve Fitokimyasal Çalışmalar" başlıklı tezi 18/06/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Botanik Anabilim dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

		<u>Ünvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Danışman)	:	Prof. Dr. Yavuz Bülent Köse	
Üye	:	Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ	
Üye	:	Prof. Dr. Emine Akalın	

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

TÜRKİYE’DE YETİŞEN *SWERTIA* TÜRLERİ ÜZERİNE TAKSONOMİK VE FİTOKİMYASAL ÇALIŞMALAR

Fatmanur TUNÇ

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Tezli Yüksek Lisans Programı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Haziran 2025

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

2.Danışman: Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN

Bu çalışmada Türkiye’de yetişen *Swertia longifolia* Boiss. ve *Swertia iberica* Fischer. ex C. A. Mey. türleri üzerinde morfolojik, mikromorfolojik, anatomik, palinolojik, moleküler, fitokimyasal ve biyolojik aktiviteleri çalışmaları yapılmıştır.

Türlerin morfolojik özellikleri Türkiye Florasındaki morfolojik karakterler ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Tohum, stigma, stoma, polen, nektaryum, sepal, petal ve kapsüle ait mikromorfolojik yüzey özellikleri SEM ile görüntülenmiştir. Anatomik çalışma kapsamında kök, gövde ve yaprak enine kesiti alınarak özellikleri belirlenmiştir. Palinolojik çalışmada türlerin trikolporat polen tipinde olduğu gözlenmiştir. Türlerle ait DNA dizi sekansları kullanılarak NCBI veri tabanındaki verilerle karşılaştırılmış, Blast programı aracılığıyla yakın akraba olan türler belirlenmiş ve ağaç dendrogramları oluşturulmuştur. Biyolojik etki çalışmaları kapsamında *in vitro* antioksidan, antimikrobiyal ve nöroprotektif etkileri araştırılmıştır. Ekstrelerin BV-2 hücre hattı üzerinde MTT yöntemi ile sitotoksite çalışması yapılmıştır. Mikrodistilasyon yöntemiyle çiçeklerden elde edilen uçucu bileşenler GC ve GC/MS sistemiyle analiz edilmiştir. Bitkilerin ana ekstreleri UPLC/Q-TOF-MS yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca *S. iberica* üzerinden izolasyon ve saflaştırma çalışmaları gerçekleştirilmiştir. *N*-butanol ekstresinden dekussatin bileşiği izole edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Swertia*, Morfoloji, Anatomi, Moleküler, Palinoloji, Biyolojik Aktivite, Fitokimya.

ABSTRACT

TAXONOMICAL AND PHYTOCHEMICAL STUDIES ON SWERTIA SPECIES GROWING IN TURKIYE

Fatmanur TUNÇ

Department of Pharmaceutical Botany

Programme in Master

Graduate School, Anadolu University, June 2025

Supervisor: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

Co-Supervisor: Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN

Morphological, micromorphological, anatomical, palynological, molecular, phytochemical, and biological activity studies were carried out on *Swertia longifolia* Boiss. and *Swertia iberica* Fischer. Ex C. A. Mey. species from Türkiye.

Morphological characteristics of the species were examined comparatively with morphological characters in the Flora of Turkey. Micromorphological surface features of seed, stigma, stoma, pollen, nectary, sepal, petal and capsule were visualized by scanning electron microscope (SEM). Within the scope of anatomical study, cross-sections of root, stem and leaf were specified. Palynological studies illustrated that pollen of the were tricolporate. Closely related species were determined by Blast program using DNA sequences and tree dendrograms were created. Within the scope of biological effect studies *in vitro* antioxidant, antimicrobial and neuroprotective effects were evaluated. Cytotoxicity study of the extracts was performed on BV-2 cell line using the MTT method. Essential oils from flowers were obtained by microdistillation and analysed by GC and GC/MS. Plant extracts were compared by UPLC/Q-TOF-MS according their polarity. In addition, isolation and purification studies were carried out on *S. iberica* extract. Decusatin compound was isolated from *n*-butanol extract. The structure of the compound was elucidated by MS, ¹H, and ¹³C NMR.

Keywords: *Swertia*, Morphology, Anatomy, Molecular, Palynology, Biological Activity, Phytochemistry.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

Fatmanur TUNÇ

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis/dissertation is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “Scientific Plagiarism Detection Program” used by Anadolu University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

.....

Fatmanur TUNÇ

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında değerli bilgi ve tecrübelerini benim ile paylaşan, bana yol gösterici olan, bilgi ve deneyimleriyle beni aydınlatan, özverisi ve anlayışıyla bana her türlü desteği sağlayan çok değerli danışman hocalarım sayın Prof. Dr. Yavuz Bülent Köse'ye ve Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Başarabilmem için motivasyon sağlayıp, bilimsel ve manevi tüm bilgi birikimiyle beni destekleyen, çok değerli Hocalarım Dr. Öğr. Gör. Nagehan SALTAN, Doç. Dr. İlham ERÖZ POYRAZ'a ve Araş. Gör. Zeynep GÜLCAN'a,

Antimikrobiyal deneylerimde yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Gökâl İŞCAN'a ve öğrencisi Araş. Gör. Bilge Nur Mutlu'ya,

Tez bitkimin uçucu yağ içeriğinin aydınlatılmasında yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU'na,

Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) analizlerinde yardımcı olan sayın Arzu İŞCAN'a,

Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde Mikrodistilasyon analizinde yardımcı olan sayın Şenay ESER'e,

NMR çekimlerim için yardımcı olan Doç. Dr. Serkan LEVENT'e,

UPLC/ Q-TOF-MS analizler çalışmalarında yardımcı olan değerli hocam Araş. Gör. Dr. Ozan KAPLAN'a,

Hücre kültürü çalışmalarında desteğini esirgemeyen sevgili hocam Araş. Gör. Dr. Kübra UZUN'a,

Van'dan bitkilerimin toplanmasında destek olan hocam Doç. Dr. Hüseyin EROĞLU'a,

Anatomik çalışmalarına yardımcı olan değerli hocam Arş. Gör. Esengül ÖZKAYMAKOĞLU'a,

Tez çalışmamızı maddi olarak destekleyen Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na,

Beni her zaman koşulsuz destekleyen ve bu zorlu süreçte yanımda olan aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında, yürütülmesinde, verilerin analizinde Etik Kurul İzni'ne gerek yoktur.



ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken ChatGPT üretken yapay zekâ programından destek aldığımı beyan ederim. Tezin hazırlığı aşamasında üretken yapay zekâ programlarından çeviri desteği aldım. Üretken yapay zekâ programlarından aldığım bilgilerin doğruluğunu kontrol ettiğimi bildiririm.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....
Fatmanur TUNÇ

DECLARATION OF GENERATIVE ARTIFICIAL INTELLIGENCE USAGE

I declare that I received support from generative artificial intelligence programs (for example ChatGPT) while preparing this thesis/dissertation. I have received support from generative artificial intelligence programs (for example language translation) during the preparation of the thesis/dissertation. I declare that I have checked the accuracy of the information I received from generative artificial intelligence programs.

I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

.....
Fatmanur TUNÇ

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	iii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES.....	vi
TEŞEKKÜR	vii
ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ.....	viii
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI.....	ix
DECLARATION OF GENERATIVE ARTIFICIAL INTELLIGENCE USAGE...x	
İÇİNDEKİLER	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xviii
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xx
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxiv
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2 KAYNAK BİLGİSİ.....	3
2.1 <i>Gentianaceae</i> Familyası	3
2.2 <i>Swertia</i> L. Cins Özellikleri	6
2.3 <i>S. iberica</i> Fischer ex C. A. Mey. (Safraca) Tür Özellikleri.....	8
2.4 <i>S. longifolia</i> Boiss. (Uzun Safraca) Tür Özellikleri.....	9
2.5 <i>Swertia</i> Cinsinin Geleneksel Kullanımı.....	11
2.6 <i>Swertia</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar.....	13
3 MATERYAL VE METOT	25
3.1 Kullanılan Kimyasal.....	25

3.2 Kullanılan Cihazlar.....	25
3.3 Bitkisel Materyaller.....	26
3.4 Morfolojik Çalışmalar.....	32
3.5 Mikromorfolojik Çalışmalar.....	32
3.6 Anatomik Çalışmalar.....	33
3.7 Palinolojik Çalışmalar.....	34
3.8 Moleküler Çalışmalar.....	35
3.9 Uçucu Yağ Eldesi.....	35
3.10 Uçucu Yağ Analizi.....	35
3.11 Ekstrelerin Elde Edilmesi.....	36
3.12 Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	36
3.12.1 Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	36
3.12.1.1 DPPH• serbest radikalini süpürücü etki.....	36
3.12.1.2 Toplam fenol miktar tayini (Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR)Yöntemi).....	37
3.12.2 Antimikrobiyal Aktivitenin İncelenmesi.....	37
3.12.2.1 Antibakteriyel aktivite testi.....	37
3.12.2.2 Antikandidal aktivite testi.....	39
3.12.3 Nöroprotektif Aktivitenin İncelenmesi.....	40
3.13 Fitokimyasal Çalışmalar.....	44
3.13.1 Kromatografik Yöntemler.....	44
3.13.2 Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları.....	46
3.13.3 Ekstrelerin Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi (UPLC)/Quadrupole-Time of Flight (Q-TOF) Kütle Spektrometresi ile Analizler.....	51
4 BULGULAR.....	53
4.1 Morfolojik Bulgular.....	53

4.1.1 <i>S. iberica</i> Fischer ex C. A. Mey.	53
4.1.2 <i>S. longifolia</i> Boiss.	56
4.2 Mikromorfolojik Bulgular.....	57
4.2.1 <i>S. iberica</i> ait Mikromorfolojik Bulgular.....	57
4.2.1.1 Tohum.....	58
4.2.1.2 Stigma.....	59
4.2.1.3 Stoma.....	60
4.2.1.4 Polen.....	60
4.2.1.5 Nektaryum.....	61
4.2.1.6 Sepal.....	61
4.2.1.7 Petal	62
4.2.1.8 Kapsül.....	62
4.2.2 <i>S. longifolia</i> ait Mikromorfolojik Bulgular.....	63
4.2.2.1 Tohum.....	63
4.2.2.2 Stigma.....	65
4.2.2.3 Stoma.....	65
4.2.2.4 Polen.....	66
4.2.2.5 Nektaryum.....	67
4.2.2.6 Sepal.....	67
4.2.2.7 Petal	68
4.2.2.8 Kapsül.....	68
4.3 Anatmik Bulgular.....	69
4.3.1 <i>S. iberica</i>	69
4.3.1.1 Kök.....	69
4.3.1.2 Gövde.....	70
4.3.1.3 Yaprak.....	71

4.3.2 <i>S. longifolia</i>	73
4.3.2.1 Kök.....	73
4.3.2.2 Gövde.....	74
4.3.2.3 Yaprak.....	76
4.4 Palinolojik Çalışmalar.....	79
4.4.1 <i>S. iberica</i> Türüne Ait Palinolojik Bulgular.....	79
4.4.2 <i>S. longifolia</i> Türüne Ait Palinolojik Bulgular.....	80
4.5 Moleküler Bulgular.....	80
4.6 Uçucu Yağ Analiz Bulguları.....	84
4.7 Ekstrelerin Özellikleri ve Verimleri.....	85
4.8 Biyolojik Aktivite Bulguları.....	86
4.8.1 Antioksidan Aktivite Çalışmaları Sonuçları.....	86
4.8.1.1 DPPH• serbest radikalini süpürücü etki değerleri.....	86
4.8.1.2 Toplam fenol miktar tayini (Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) Yöntemi).89	
4.8.2 Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları.....	92
4.8.2.1 Antibakteriyel aktivite sonuçları.....	92
4.8.2.2. Antikandidal aktivite sonuçları.....	95
4.8.3 Nöroprotektif Aktivite Sonuçları.....	98
4.9 Fitokimyasal Çalışma Bulguları.....	104
5 SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	110
5.1 Morfolojik Sonuç, Tartışma ve Öneriler.....	110
5.2 Mikromorfolojik Sonuç, Tartışma ve Öneriler.....	115
5.3 Anatomik Sonuç, Tartışma ve Öneriler.....	117
5.4 Palinolojik Sonuç, Tartışma ve Öneriler.....	121
5.5 Moleküler Sonuç, Tartışma ve Öneriler.....	123
5.6 Uçucu Yağ Analiz Sonuçları, Tartışma ve Öneri.....	126

5.7 Biyolojik Aktivite Sonuçları, Tartışma ve Öneri.....	127
5.7.1 Antioksidan Aktivite Sonuçları, Tartışma ve Öneri.....	127
5.7.1.1 Serbest radikal süpürücü etki (DPPH• testi) değerleri.....	127
5.7.1.2 Toplam Fenol Miktar Tayini	128
5.7.2 Antimikrobiyal Sonuçlar, Tartışma ve Öneri	129
5.7.2.1 Antibakteriyel aktivite sonuçları, tartışma ve öneri	129
5.7.2.2. Antikandidal aktivite sonuçları, tartışma ve öneri.....	131
5.7.3 Nöroprotektif Aktivite Sonuç, Tartışma ve Öneriler.....	132
5.8 Fitokimyasal Çalışma Sonuçları, Tartışma ve Öneri.....	134
KAYNAKÇA.....	
EKLER	
ÖZ GEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1 <i>Swertia</i> Türlerinin Geleneksel Kullanımı.....	11
Tablo 2.1 <i>S. iberica</i> ve <i>S. longifolia</i> Türlerine Ait İzole Edilen Bileşikler.....	13
Tablo 3.1 Sekoiridoit Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı.....	14
Tablo 3.2 Bazı <i>Swertia</i> Türlerinden Elde Edilen Sekoiridoit Bileşikleri.....	15
Tablo 3.3 Ksanton Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı.....	18
Tablo 3.4 Bazı <i>Swertia</i> Türlerinden Elde Edilen Ksanton Bileşikleri.....	19
Tablo 3.5 Flavon C- Glikozitleri Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı.....	22
Tablo 3.6 Bazı <i>Swertia</i> Türlerinden Elde Edilen Flavon C- Glikozitleri Bileşikleri....	22
Tablo 4.1 Kullanılan Kimyasallar.....	24
Tablo 4.2 Kullanılan Cihazlar.....	24
Tablo 5.1 Tez Materyallerinin Lokalite Bilgileri.....	25
Tablo 6.1 Anatomik Kesitlerde Uygulanan Protokol.....	32
Tablo 6.2 Anatomik Kesitlerde Uygulanan Boyama Protokol.....	33
Tablo 7.1 <i>S. iberica</i> 'dan Elde Edilen Dizilerin Gen Bankası'ndaki En Yakın Temsilcileri ve Benzerlik Oranlar.....	82
Tablo 7.2 <i>S. longifolia</i> 'dan Elde Edilen Dizilerin Gen Bankası'ndaki En Yakın Temsilcileri ve Benzerlik Oranlar.....	83
Tablo 8.1 <i>Swertia</i> Türlerine Ait Uçucu Yağ Bileşenleri.....	84
Tablo 9.1 Ekstre Verimleri.....	85
Tablo 10.1 <i>S. iberica</i> Ait DPPH Test IC ₅₀ (mg/mL)	86

Tablo 10.2 <i>S. longifolia</i> Ait DPPH Test IC ₅₀ (mg/mL)	86
Tablo 10.3 <i>S. iberica</i> Ait FCR Test (mg GAE/g Ekstre)	89
Tablo 10.4 <i>S. longifolia</i> Ait FCR Test (mg GAE/g Ekstre)	89
Tablo 11.1 Antibakteriyal Kuyu Difüzyon Verileri.....	93
Tablo 11.2 Ekstrelerin Antibakteriyel Etki Sonuçları (µg/mL)	94
Tablo 11.3 Antikandidal Etki Kuyu Difüzyon Yöntemine Ait Veriler.....	96
Tablo 11.4 Ekstrelerin Antikandidal Etki Sonuçları (µg/mL)	98
Tablo 12.1 <i>S. iberica</i> Ekstre ve Fraksiyonlarının BV-2 Hücre Hattında Hesaplanan IC ₅₀ Değerleri.....	99
Tablo 12.2 Dekussatin'in ¹ H NMR spektral değerleri (DMSO-d ₆ , ¹ H: 300 MHz) ve Literatürdeki Spektral Verisi ¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , ¹ H:400 MHz)	106
Tablo 13.1 <i>S. iberica</i> 'nın Morfolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.....	112
Tablo 13.2 <i>S. longifolia</i> Türünün Morfolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.....	113
Tablo 13.3 <i>S. iberica</i> ve <i>S. longifolia</i> Ait Özelliklerin Nitel Olarak Karşılaştırılması.....	113
Tablo 13.4 <i>S. iberica</i> 'nın USSR ve Türkiye Florası'ndaki Özellikleri.....	115
Tablo 14.1 SEM ile İncelenen Morfolojik Karakterler	119
Tablo 15.1 <i>S. iberica</i> ve <i>S. longifolia</i> 'nın Anatomik Özelliklerinin Karşılaştırılması.....	119
Tablo 16.1 Karşılaştırmalı Nitel Polen Morfolojisi.....	123

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 Nöroprotektif Etki Çalışması	43
Şekil 2.1 <i>S. iberica</i> Ait Ekstraksiyon Şeması.....	46
Şekil 2.2 <i>S. iberica</i> <i>n</i> -Butanol Ekstresinde PK-1 Fr. 3-5 Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları.....	49
Şekil 2.3 <i>S. iberica</i> <i>n</i> -Butanol Ekstresinde PK-1 Fr. 8-12 Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları.....	50
Şekil 2.4 <i>S. iberica</i> <i>n</i> -Butanol Ekstresinde PK-1 Fr. 15-17 Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları.....	51
Şekil 2.5 Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi.....	90
Şekil 2.6 <i>S. iberica</i> Ekstre ve Fraksiyonlarının BV-2 Hücre Hattındaki Sitotoksik Aktiviteleri.....	99
Şekil 2.7 <i>S. iberica</i> Ekstrelerinin BV-2 Hücre Hattındaki Nöroprotektif Etkileri.....	100
Şekil 2.8 <i>S. iberica</i> Ait Ekstrelerin BV-2 Hücre Hattında 24 Saat İnkübasyon Süresi Sonrası Konsantrasyona Karşı Hücre Canlılığı (n=6).....	101
Şekil 2.9 <i>S. iberica</i> Ekstrelerinin BV-2 Hücre Hattındaki Nöroprotektif Etkileri.....	102
Şekil 2.10 <i>S. longifolia</i> Ait Ekstrelerin BV-2 Hücre Hattında 24 Saat İnkübasyon Süresi Sonrası Konsantrasyona Karşı Hücre Canlılığı (n=6).....	103
Şekil 2.11 <i>S. longifolia</i> Ekstrelerinin BV-2 Hücre Hattındaki Nöroprotektif Etkileri...	104
Şekil 3.1 Dekussatin Bileşiğinin Kimyasal Yapısı.....	105

Şekil 3.2 Dekussatin (S-19)'in ^1H -NMR spektrumu (DMSO- d_6 , ^1H : 300 MHz)	107
Şekil 3.3 Dekussatin (S-19)'in ^1H -NMR Spektrumunda (DMSO- d_6 , ^1H : 300 MHz) Aromatik Bölgedeki Piklere Ait İntegrasyonlar	108
Şekil 3.4 Dekussatin (S-19)'in ^1H -NMR Spektrumunda (DMSO- d_6 , ^1H : 300 MHz) Metoksil Gruplarına Ait Piklerin İntegrasyonları	109
Şekil 3.5 <i>S. iberica</i> Metanol Ekstresi LC/MS Temel Pik Kromatogramı	110
Şekil 3.6 <i>S. longifolia</i> Metanol Ekstresi LC/MS Temel Pik Kromatogramı	110
Şekil 3.7 İki türün Metanol Ekstresinin Kromatogramları Çakıştırılmış	111
Şekil 4.1 <i>S. iberica</i> -Taksonların ITS Baz Dizilimlerine Göre Oluşturulan Filogenetik Ağaç (Dendrogram)	125
Şekil 4.2 <i>S. longifolia</i> -ITS Baz Dizilimlerine Göre Oluşturulan Filogenetik Ağaç (Dendrogram)	126

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 1.1 <i>Gentianaceae</i> Familyasının Dünyada Dağılımı.....	3
Görsel 1.2 <i>Gentianaceae</i> Familyasının Türkiye’de Dağılımı.....	4
Görsel 1.3 <i>Gentianaceae</i> Familyasının Morfolojik Özelliklerinin Modellenmesi	5
Görsel 2.1 <i>Swertia</i> Cinsinin Dünyada Dağılımı	7
Görsel 2.2 <i>Swertia</i> Cinsinin Türkiye’de Dağılımı	7
Görsel 2.3 <i>S. iberica</i> ’nın Türkiye’de Yayılış Gösterdiği Kareler: A7, A8, A9, B7.....	9
Görsel 2.4 <i>S. longifolia</i> ’nın Türkiye’de Yayılış Gösterdiği Kareler: B6, B7, B8, B9, B10, C9, C10	10
Görsel 3.1 <i>S. iberica</i> Herbaryum Örneği.....	26
Görsel 3.2 <i>S. longifolia</i> Herbaryum Örneği.....	27
Görsel 3.3 <i>S. iberica</i> ANK Herbaryum Örneği.....	28
Görsel 3.4 <i>S. iberica</i> HUB Herbaryum Örnekleri.....	28
Görsel 3.5 <i>S. iberica</i> GAZI Herbaryum Örnekleri.....	29
Görsel 3.6 <i>S. longifolia</i> ANK Herbaryum Örnekleri.....	29
Görsel 3.7 <i>S. longifolia</i> GAZI Herbaryum Örnekleri.....	30
Görsel 3.8 <i>S. perennis</i> GAZI Herbaryum Örnekleri.....	30
Görsel 3.9 <i>S. caerulea</i> ANK Herbaryum Örneği.....	31
Görsel 4.1 <i>S. iberica</i> Örneğinin Doğal Yayılış Alanı ve Genel Görünüşü	54
Görsel 4.2 <i>S. iberica</i> Örneğinin Çiçek Durumu ve Çiçek Halkası.....	55

Görsel 4.3 <i>S. iberica</i> 'nın Çiçeğinin Stereo Mikroskopta Görünümü.....	55
Görsel 4.4 <i>S. longifolia</i> Genel Görünüş, Çiçek Durumu, Çiçek Halkası.....	57
Görsel 4.5 <i>S. longifolia</i> 'nın Çiçeğinin Stereo Mikroskopta Görünümü.....	57
Görsel 5.1 <i>S. iberica</i> Tohum SEM Görüntüleri	58
Görsel 5.2 <i>S. iberica</i> Stigma SEM Görüntüsü.....	59
Görsel 5.3 <i>S. iberica</i> Ait Yapraktaki Stomaların SEM Görüntüsü.....	60
Görsel 5.4 <i>S. iberica</i> 'nın Anter Üzerindeki Polenleri.....	60
Görsel 5.5 <i>S. iberica</i> Nektaryumları.....	61
Görsel 5.6 <i>S. iberica</i> Sepal SEM Görüntüsü.....	61
Görsel 5.7 <i>S. iberica</i> Petal SEM Görüntüsü.....	62
Görsel 5.8 <i>S. iberica</i> Kapsül Yüzeyi SEM Görüntüsü.....	63
Görsel 6.1 <i>S. longifolia</i> Tohum SEM Görüntüleri.....	64
Görsel 6.2 <i>S. longifolia</i> Stigma SEM Görüntüsü.....	65
Görsel 6.3 <i>S. longifolia</i> Yaprakta Yer Alan Stoma.....	65
Görsel 6.4 <i>S. longifolia</i> Sepalinde Görülen Stomalar.....	66
Görsel 6.5 <i>S. longifolia</i> Ait Polen.....	66
Görsel 6.6 <i>S. longifolia</i> Nektaryumu SEM Görüntüsü.....	67
Görsel 6.7 <i>S. longifolia</i> Sepal SEM Görüntüsü.....	67
Görsel 6.8 <i>S. longifolia</i> Petal Yüzeyi SEM Görüntüsü.....	68
Görsel 6.9 <i>S. longifolia</i> Kapsül Yüzeyi SEM Görüntüsü.....	68
Görsel 7.1 <i>S. iberica</i> Kök Enine Kesiti.....	69

Görsel 7.2 <i>S. iberica</i> Gövde Enine Kesiti.....	70
Görsel 7.3 <i>S. iberica</i> Gövde Enine Kesit-Sartur.....	71
Görsel 7.4 <i>S. iberica</i> Gövde Yaprak Enine Kesiti.....	72
Görsel 7.5 <i>S. iberica</i> Yaprak Alt Yüzeyinden Alınan Yüzeysel Kesitte Anizositik Stoma.....	72
Görsel 7.6 <i>S. iberica</i> Yaprak Üst Yüzeyinden Alınan Yüzeysel Kesitte Epidermis Hücreleri.....	73
Görsel 7.7 <i>S. longifolia</i> Kök Enine Kesiti.....	74
Görsel 7.8 <i>S. longifolia</i> Gövde Enine Kesiti.....	75
Görsel 7.9 <i>S. longifolia</i> Gövde-Kloralhidrat.....	76
Görsel 7.10 <i>S. longifolia</i> Gövde Yaprak Enine Kesiti.....	77
Görsel 7.11 <i>S. longifolia</i> Yaprak Alt Yüzeyinden Alınan Yüzeysel Kesitte Stomalar-Anizositik Stoma.....	78
Görsel 7.12 <i>S. longifolia</i> Yaprak Üst Yüzeyinden Alınan Yüzeysel Kesitte Stomalar-Anizositik Stoma.....	78
Görsel 8.1 <i>S. iberica</i> Polenine Ait Işık Mikroskobu Görüntüsü.....	79
Görsel 8.2 <i>S. longifolia</i> Polenine Ait Işık Mikroskobu Görüntüsü.....	80
Görsel 9.1 Sırasıyla VE, VM, VEA, GA, M Ait DPPH Deney Görseli.....	87
Görsel 9.2 Sırasıyla VH, Vİ, Rİ, GA, M Ait DPPH Deney Görseli.....	87
Görsel 9.3 Sırasıyla RE, RM, REA, GA, M Ait DPPH Deney Görseli.....	88
Görsel 9.4 Sırasıyla RH, GA, M Ait DPPH Deney Görseli.....	88
Görsel 10.1 VE, VM, VEA, VH, Vİ Ekstrelerine Ait Toplam Fenol Miktar Tayini Sonucu.....	90

Görsel 10.2 RE, RM, REA, RH, Rİ Ekstrelerine Ait Toplam Fenol Miktar Tayini Sonucu.....	91
Görsel 11.1 Biyootografi Dot-Blot Yöntemi.....	92
Görsel 11.2 Kuyu Difüzyon Yöntem Sonuçları.....	92
Görsel 11.3 <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 (B7) Suşuna Ait Sonuç.....	94
Görsel 11.4 Kuyu Difüzyon Yöntemi Deney Sonuçları.....	96
Görsel 11.5 <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019 Suşuna Ait Sonuç.....	97
Görsel 11.6 <i>Candida utilis</i> NRRL Y-900 Suşuna Ait Sonuç.....	98

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm : Santimetre

d : Doublet

dk : Dakika

DMSO : Dimetil sülfoksit

EtOH : Etil alkol

FCR : Folin-Ciocalteu Reaktifi

GC-GC/MS : Gaz Kromatografisi- Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi

GIS : Gastrointestinal sistem

IC₅₀ : %50 İnhibisyon Konsantrasyonu

ITS : Dahili transkripsiyonlu aralayıcı

İTK : İnce Tabaka Kromatografisi

KK: Kolon Kromatografisi

KOB : Koloni Oluşturan Birim

m/z : Kütle/yük oranı

mg : Miligram

MHB : Mueller Hinton Broth

mL : Mililitre

MPLC : Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi

MS : Kütle spektrometresi

MTT : [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür]

NCBI : National Center for Biotechnology Information (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi)

nm : Nanometre

NMR : Nükleer Manyetik Rezonans

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ppm : Parts per million (Milyonda bir birim)

Prep : Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Rpm : Dakikadaki Devir Sayısı

Rt : Retention Time

s : Singlet

Syn : Sinonim

USSR (SSCB) : Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği (SSCB)

UV : Ultraviyole

w:w : Ağırlık/ağırlık

δ : Kimyasal kayma

μg : Mikrogram

μL : Mikrolitre

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Tarihsel süreç incelendiğinde, bitkilerin hastalıkların tedavisinde başvurulan ilk doğal kaynaklar arasında yer aldığı görülmektedir. İlk çağlardan itibaren bitkiler yalnızca tıbbi amaçlarla değil; beslenme, baharat üretimi, kozmetik ve parfüm endüstrisi, tekstil üretimi ve barınma gibi çeşitli ihtiyaçların karşılanmasında da kullanıldığı görülmektedir.

Şu anda bilinen, tanımlanmış ve kabul edilmiş bitki türlerinin sayısı yaklaşık 374.000 olarak tespit edilmiştir. Her yılda yaklaşık 2000 bitki türü yeniden tespit ediliyor (1). Tıbbi bitkiler ve bitki kaynaklı ilaçlar, tüm dünyada geleneksel kültürlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tüm damarlı bitkilerin yüzde onu tıbbi bitki olarak kullanıldığı bildirilmiştir (2). Dünya Sağlık Örgütü tarafında yapılan bir çalışmada dünyada tıbbi bitki olarak kullanılan bitkiler ve kullanıldığı ülke bilgilerinin yer aldığı listede 20.000'den fazla tür dahil edilmiştir. Çin Halk Cumhuriyeti'nde yetişen 35.000 bitki türünden 5.000'inin Çin Geleneksel Tıbbi'nde ilaç olarak kullanıldığı bilinmektedir. NAPRALERT (Natural Products Alert) veritabanında yer alan 33.000 bitki türlerinin 9.200'nin sadece etnomedikal olarak kullanıldığı bildirilmiştir (3,4). Doğal ilaçların ticarileşmesiyle birlikte, bitkiler ve bitkisel ürünler üzerine yapılan bilimsel araştırmaların sayısı giderek artmaktadır.

Dünyada *Gentianaceae* familyası 289 cins, 6410 tür, 8822 takson ile temsil edilmektedir. Bu familyaya ait *Swertia* L. cinsi de 172 takson ile temsil edilen büyük bir gruptur (5). Türkiye de ise bu familyaya ait 8 cins, 29 tür, 44 takson ile temsil edilir; *Swertia* cinsine ait ise 2 tür bulunmaktadır: *S. iberica* ve *S. longifolia* (6).

Familyada yer alan türler, süs bitkisi olarak yetiştirilmelerinin yanı sıra, dünya genelinde farklı geleneksel tedavilerde yaygın şekilde kullanılan bitkiler arasında yer almaktadır. Bu özellikleri nedeniyle, *Gentianaceae* familyası hem ticari hem de tıbbi açıdan önemli bir yere sahiptir (7).

Swertia L. cinsinin doğal yayılış alanı Asya, Afrika, Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya kıtalarıdır. Dünya genelinde geniş yayılım gösteren kozmopolit bir cinstir (5). Bu cinse ait pek çok tür geleneksel ve modern tıpta çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Özellikle Asya ülkelerinde çeşitli hastalıkların tedavisinde çok sık kullanılmaktadır. Çok fazla *Swertia* türünün farklı farmakopelerde yer aldığı bilinmektedir. *S. mileensis* T.N.Ho & W.L.Shih, 1985'ten beri Çin Farmakopesinde kayıtlı olmasıyla beraber Çin geleneksel tıbbında, *Swertia* cinsinin yaklaşık 20 türü çeşitli

rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır (8-10). *S. chirata* (Roxb.) H. Karst. Hint Farmakope'sinde yer alır (11,12). Ayrıca pek çok tür Hint geleneksel tıp sistemlerinden olan Ayurveda, Siddha ve Unnani tıbbında da kullanılır (13). *S. japonica* (Schult.) Makino Japon Farmakope'sinde yer alır. Japon Farmakope'sinde çeşitli hastalıkların tedavisinde tentür olarak hazırlanarak reçete edildiği görülmektedir (14). Bununla beraber İngiliz ve Amerikan Farmakopesi'nde de infüzyon ve dekoksasyon yöntemi kullanılarak hazırlanan çeşitli formülasyon ve reçeteler yer alır (13).

Bu tezin amacı ülkemizde *Gentianaceae* familyasında yer alan *Swertia* cinsini temsil eden *S. iberica* ve *S. longifolia* türleri üzerinde morfolojik, mikromorfolojik, anatomik, palinolojik ve moleküler çalışmalar yürüterek iki türün Farmasötik Botanik yönden detaylı şekilde incelenerek literatürdeki kısıtlı çalışmalara katkı sağlamaktır. *S. iberica* ve *S. longifolia* bitkilerinin uçucu yağ bileşenleri belirlenip, ekstreleri hazırlanıp in vitro antioksidan ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. *S. iberica* türü üzerinde kromatografik çalışmalar yürüterek izole edilen bileşiklerin ve ekstrelerinin nöroprotektif etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2 KAYNAK BİLGİSİ

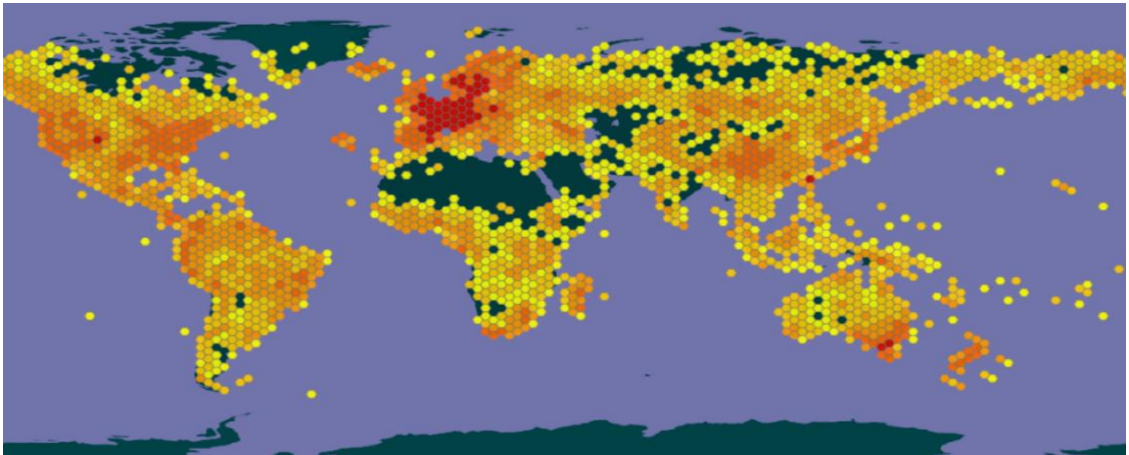
2.1 *Gentianaceae* Familyası

Gentianaceae Juss. familyası dünyada 289 cins, 6410 tür, 8822 takson ile temsil edilir (5). Gentianales ordosunun tip familyasıdır. Bu familyada yer alan bitkilerin çoğunluğu monokarpik ve çok yıllık otsu bitkiler olmakla beraber, çalı, ağaç, liana ve epifitik örnekleri de bulunmaktadır (15). Dünya genelinde geniş bir dağılıma sahip olan kozmopolit bir familyadır (Görsel 1.1). Ilıman ve tropikal bölgelerde fazla çeşitlilik göstermektedir. Bununla beraber arktik ve subtropikal bölgeler, savan, çayırılık ve sulak alanlarda yetişmektedir. Dünya genelinde sadece Antartika kıtasında yer almamaktadır (15-19). Familyaya ait en büyük 3 cins olan; 357 tür ile *Gentiana*, Ilıman Asya kıtasında özellikle Çin'de yüksek rakımlı dağlarda; 316 tür ile temsil edilen *Gentianella* Ilıman Güney Amerika kıtasında özellikle And Dağlarında; 172 tür ile temsil edilen *Swertia* cinsi ise daha çok Asya kıtasında dağılım göstermektedir (5, 15, 19, 20). Familyada yer alan türler süs bitkisi olarak yetiştirilmekle beraber halk arasında yaygın kullanım olan tıbbi bitkilerde yer almaktadır. Bu nedenle ticari ve tıbbi önemi olan bir familyadır (7).

Türkiye'de ise bu familya 8 cins, üçü endemik olmak üzere 29 tür, 44 takson ile temsil edilmektedir (6,21). Türkiye de yer alan taksonların Karadeniz, Ege ve Akdeniz bölgesinde yoğunlaşmıştır (Görsel 1.2).

Görsel 1.1

Gentianaceae Familyasının Dünyada Dağılımı (22)



Kaynak: GBİF- <https://www.gbif.org/species/2503>. Erişim tarihi: 21.01.2025.

Görsel 1.2

Türkiye’de Gentianaceae Familyasının Dağılımı (22)



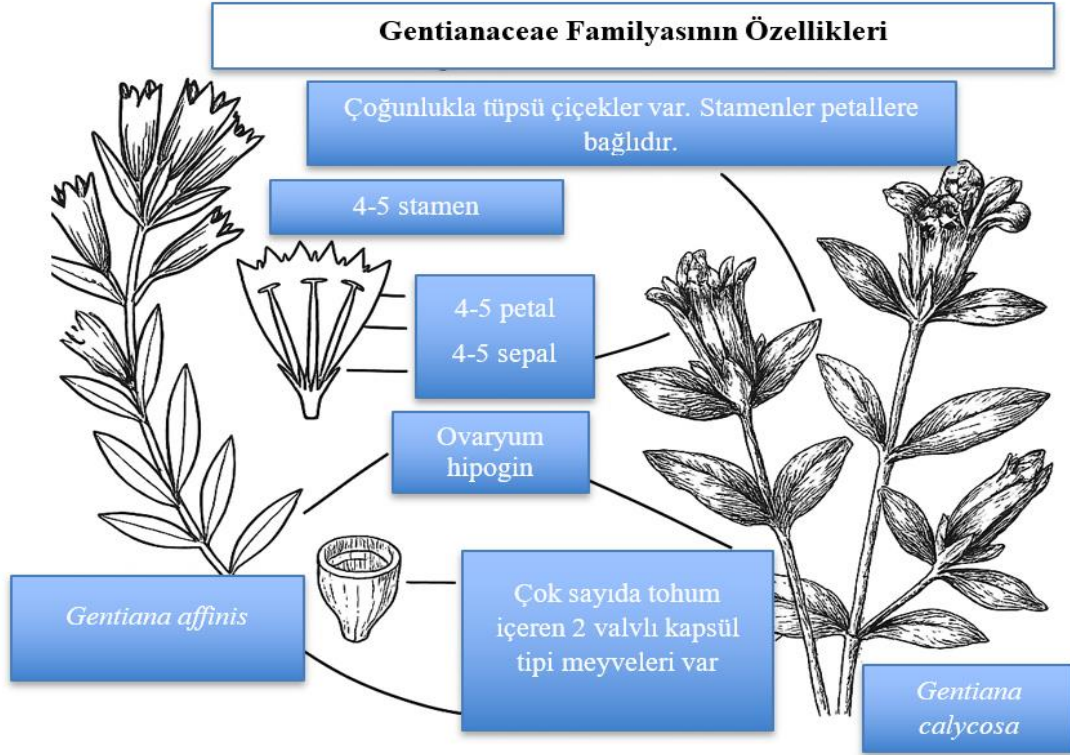
Kaynak: GBİF- <https://www.gbif.org/species/2503>. Erişim tarihi: 21.01.2025.

Gentianales ordosunda 5 familya yer almaktadır: *Apocynaceae* (992 cins), *Gelsemiaceae* (9 cins), *Gentianaceae* (289 cins), *Loganiaceae* (59 cins), *Rubiaceae* (1383 cins) (5, 23). *Gentianaceae* familyası ilk kez Fransız botanikçi Antoine Laurent de Jussieu tarafından 1789 yılında tanımlanmıştır (5,16). Bu familya ismini tip cinsi olan *Gentiana*’dan almaktadır (23). “Flora of Turkey and the East Aegean Islands” kitabında 6. Ciltte yer alan botanik tanımlamalar şu şekildedir:

“Tek, iki ve çok yıllık otsu bitki. **Yapraklar** glabrus (tüysüz), düz, genellikle tabanda rozet yapraklar, gövde yapraklar genellikle opposit (karşılıklı) ve sesil (sapsız), sıklıkla tabanda gövdeye bitişik. **Çiçekler** 4-8 parçalı, aktinomorfik. **Kaliks** derince parçalanmış. **Korolla** lopları tomurcuk şeklinde kıvrılmış, genellikle glabrus (tüysüz). **Stamenler** korolla tübünün içinde; (stamenler epipetaldir yani stamenler petallere bağlı) anterler tabanda hafifçe kordat (kalpsi), bazifiks (tabandan bağlı) veya nadiren versatil (hareketli). Ovaryum üst durumlu (hipogin), tek gözlü (unilokular), iki parietal plasentalı (çevresel plasentalanma), çok ovüllü. Meyve 2 valv (kapak, açıklık, göz) ile açılan kapsül (21).”

Görsel 1.3

Gentianaceae Familyasının Morfolojik Özelliklerinin Modellenmesi (24)



Kaynak: F. Mirzaee et. al., Journal of Traditional and Complementary Medicine 7 (2017) 400–408.

Türkiye Florası 6. cildinde *Gentianaceae* familyası 7 cins ile temsil edilmektedir: *Gicendia* (*Cicendia*) Adanson, *Blackstonia* Hudson, *Centaurium* Hill, *Gentiana* L., *Gentianella* Moench, *Lomatogonium* A.Br., *Swertia* L. Güncel verilere göre Türkiye’de bu familyaya ait *Schenkia* cinsinde tek tür olan *Schenkia spicata* (L.) G. Mans. ile temsil edilmektedir. *Centaurium spicatum* türü *Schenkia* cinsine aktarılarak *Schenkia spicata* olarak adlandırılmıştır (5,6,16,25).

Cins Tayin Anahtarı

1. Korolla $\pm$ rotat, tüp loblardan çok daha kısadır.

2. Çiçekler 6-8 parçalı; korolla loblarında nektaryum yok

2. *Blackstonia*

2. Çiçekler 4-5 parçalı; korolla loblarında 1-2 fimbriatlı nektaryumlar var

3. 10 cm'ye kadar, ince, bir yıllık

6. *Lomatogonium*

3. 90 cm'ye kadar, kalın, çok yıllık

7. *Swertia*

1. Korolla infundibular-hipokrateriform (korolla yayık laminalı boru şeklinde), tüpsü, loblar eşit veya daha uzundur.

4. Stilus ince, belirgin

5. Stilus tam, stigma peltat; kaliks yaklaşık 1/3'e kadar bölünmüş; anterler açıldıktan sonra dönmez

1. *Gicendia*

5. Stilus bifid, stigma 2; kaliks neredeyse tabana kadar bölünmüş, anterler açıldıktan sonra spiral olarak döner

3. *Centaurium*

4. Ovaryum tepede kısa, sert stilusa daralır veya stigma sesil

6. Korolla lobları tüysüz, genellikle ana loblar arasında ikincil loblar (plicae, kıvrım) bulunur

4. *Gentiana*

6. Korolla lobları genellikle silli, ikincil loblar eksik

5. *Gentianella*

2.2 *Swertia* L. Cins Özellikleri

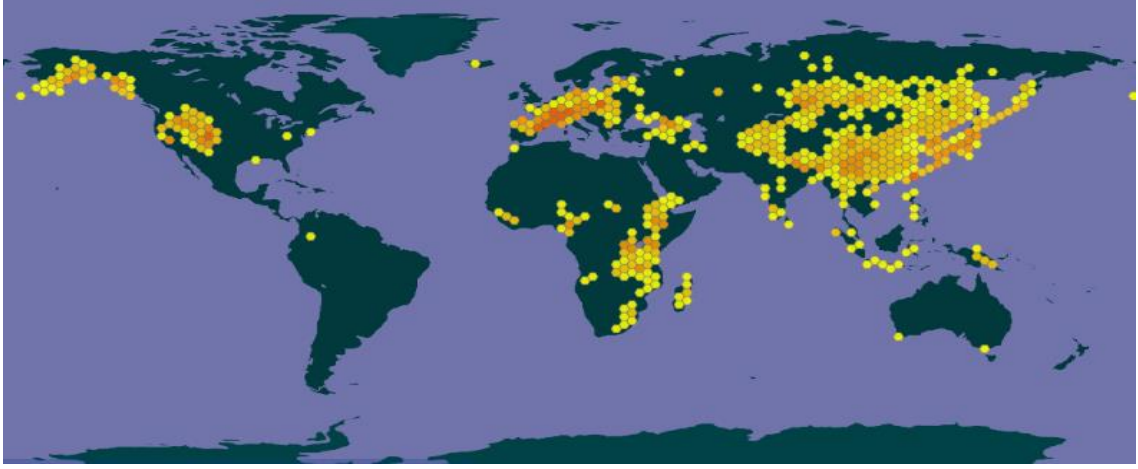
Swertia cinsi ismini bu grupta yer alan bitkilerin resimlerinin editörü ve cins yazarı olan Hollandalı bahçıvan Emanuel Swert'den dolayı bu ismi almıştır (26). *Gentianaceae* familyasının 3. büyük cinsi olan bu cins Türkiye'de 2 tür ile temsil edilmektedir: *S. iberica* ve *S. longifolia*. (6,16)

Bu cins, dünya genelinde geniş bir yayılıma sahip olup Afrika, Avrupa, Asya, Kuzey Amerika ve Avustralya kıtalarında doğal olarak dağılmaktadır (Görsel 2.1). Türkiye'de ise Kuzeydoğu ve Doğu Anadolu bölgelerinde yetişmektedir (Görsel 2.2) (5,27). Cinsin geniş bir coğrafi dağılıma sahip olması, morfolojik karakterler arasında belirgin farklılıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Türkiye Florasında bu cinse ait morfolojik karakter şu şekilde tanımlanır:

“Kalın çok yıllık otsu. **Gövde** basit, dik, 90 cm. **Çiçek durumu** dar piramidal, rasemiform simöz dallı. **Çiçekler** 4-5 parçalı. **Kaliks** tabana kadar bölünmüş; loblar linear-lanseolat. **Korolla** rotat, sarımsı, mavimsi veya morumsu, daha koyu çizgili veya damarlı; loblar eliptik, akut, her lobda tabana yakın 1 veya 2 fimbriatlı, nektaryum bulunur. **Anterler** bazifiks, sagitat. Stigma sesil, 2 loblu, ovaryuma bağlı değil. **Kapsül** 2 kapaklı, tek loküllü.”

Görsel 2.1

Swertia Cinsinin Dünyada Dağılımı (22)



Kaynak: GBİF- <https://www.gbif.org/species/2503>. Erişim tarihi: 21.01.2025.

Görsel 2.2

Swertia Cinsinin Türkiye’de Dağılımı (22)



Kaynak: GBİF- <https://www.gbif.org/species/2503>. Erişim tarihi: 21.01.2025.

Swertia cinsine ait türlerin tayin anahtarı (Flora of Turkey) (21)

1. Gövde yaprakları alternan; bazal yaprakları±hızlıca petiole doğru attenuat; nektaryumlar her bir korolla lobunda çift **1. *S. iberica***

1. Gövde yaprakları opposit; bazal yaprakları±yavaşça petiole doğru attenuat; her korolla lobunda tek nektaryum **2. *S. longifolia***

2.3 *S. iberica* Fischer ex C. A. Mey. (Safraca) tür özellikleri (Flora of Turkey, 6. Cilt)

S. iberica Fischer ex C.A.Meyer, Beitr. Pfl Russ. Reichs 6:61 (1849).

Sinonim: *S. stigmantha* C. Koch in Linnaea 23:586 (1850); *S. balansae* Boiss., Fl. Or. 4: 78 (1875); *S. punctata* sensu Boiss., loc. cit. (1875) non Baumg. (1816); *S. caerulea* Hausskn., ms. (1890) non Royle (1836); *S. haussknechtii* Gilg ex Pissjauk. in Not. Syst. (Leningrad) 1964:276 (1964)! Map 18, p. 191.

Gövde 65-90 cm, sıklıkla morumsu renkte. Taban yaprakları 10-25x4-11 cm, geniş eliptik-dar ovat, $\pm$ hızlıca daralmış, petiyol 15 cm; gövde yaprakları çoğunlukla alternan, nadiren subopposit, dar, alt yaprak saplı, üst yaprak sesil. **Çiçek durumu** spikat, kesintisiz, simöz daralmış. **Çiçekler** çoğunlukla 5 parçalı. **Kaliks** $\pm$ tabana kadar bölünmüş, loblar linear-lanseolat, 5-8 mm. **Korolla** lobları 11-15 mm, beyazımsı, soluk mürekkep mavisi veya kırmızımsı mor, genellikle daha koyu mavi veya mor çizgili veya damarlı; tabana yakın, çift, fimbriatlı nektaryumlu. **Kapsül** yaklaşık 10 mm, dar eliptik. **Çiçeklenme zamanı** 7-8. **Habitat** *Picea* ve *Alnus* ormanlarının üst kesimlerindeki dere kenarları. *Rhododendron* çalılıkları, alpin çayırları ve bataklıkları, 1600-2700 m. Karadeniz (Dağ)(Euxine) elementi. Avrupa *S. perennis* L. türüyle benzerlik göstermektedir.

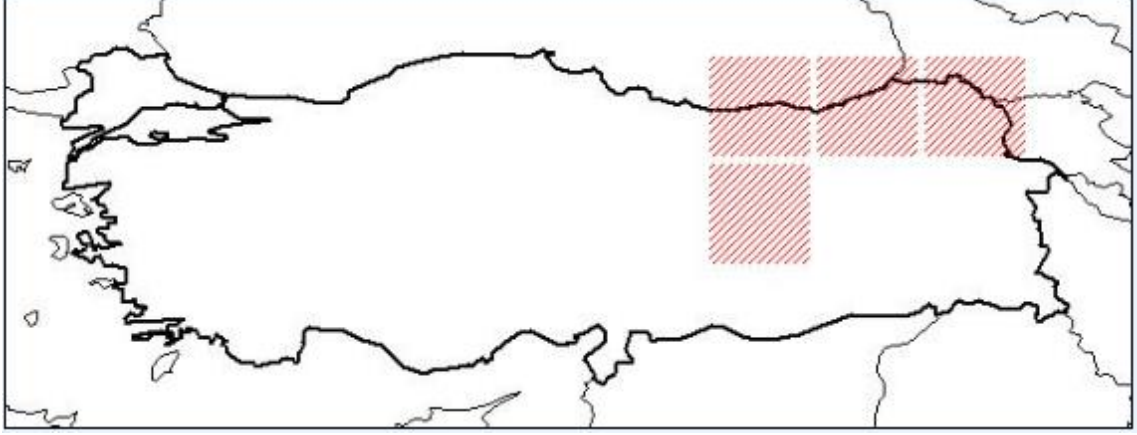
Lektotip örneği: [USSR] prope pagum Kobi, 1000 hexaped. fc. 2000 m], 4 ix 1843, Kolenati 1181 (LE).

Yayılış: Başlıca Kuzeydoğu Anadolu. A7 Giresun: Yavuzkema1 yakınında, 1600 m, D. 20738! Trabzon: Taşlı Ova, 2285 m, Balls 560! A8 Trabzon: Soğanlı Dağı'nın kuzey yakası Çaykara üstü, 2000-2200 m, D. 32145! Rize: İkizdere, Baltaş Tepesinden Haros'a Dağları, 2700 m, D. 20958! Çoruh: Murgul üzeri Şevval Tepe, 1600 m, D. 32246! A9 Çoruh: Ardanuç, Kutul Yaylası., 2200 m, 5.8.1966, Steinerl B7 Erzincan: Sipikör Da., Sint. 1890:3175 (*S. haussknechtii* tipi).

Türkiye'de Artvin, Erzincan, Giresun, Rize, Trabzon şehirlerinde dağılım göstermektedir (Görsel 2.3).

Görsel 2.3

S. iberica'nın Türkiye'de Yayılış Gösterdiği Kareler: A7, A8, A9, B7 (27)



Kaynak: Tübives. <http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php>. Erişim tarihi: 19.05.2025.

Swertia iberica Fischer ex C. A. Mey. türünün sistematikteki yeri

Alem: Plantae

Şube: Streptophyta

Sınıf: Equisetopsida

Altsınıf: Magnoliidae

Takım: Gentianales

Family: Gentianaceae

Cins: *Swertia*

Tür: *Swertia iberica* Fischer ex. C. A. Mey.

2.4 *S. longifolia* Boiss. (Uzun Safraca) tür özellikleri (Flora of Turkey, 6. Cilt)

S. longifolia Boiss., Diagn. ser. 1(5):90 (1844).

Sinonim: *S. auclwri* Boiss., loc. cit. (1844); *S. persica* Griseb. in DC, Prodr. 9: 132 (1845). Ic: Jaubert & Spach. III. PL Or. 3: t. 235 (1848). Map 18, p. 191.

S. iberica'ya benzeyen ancak **bazal yaprakları** 30x4-5 cm, daha uzun ve dar, dar spatulat, eliptik-spatulat, yavaşça petiyole doğru attenuat, gövde **yaprakları** opposit, sesil, tabanda yaklaşık 2 mm birleşmiş, farklı seviyelerde gruplanmış, 4 parçalı **çiçek**, kesintisiz çiçek durumu ve soluk sarıdan sarımsı beyaz **korolla**, her bir lob fimbriatlı tek nektaryumlu.

Çiçeklenme zamanı 7-9. **Habitat** dere kenarları, sulak alanlar, 1750-3290 m. Hirkan-

Karadeniz (Dağ)(Hyrcano-Euxine) elementi. Afganistan ve Pamir-Alai'den *S. lactea* Bunge türü ile benzerlik gösterir.

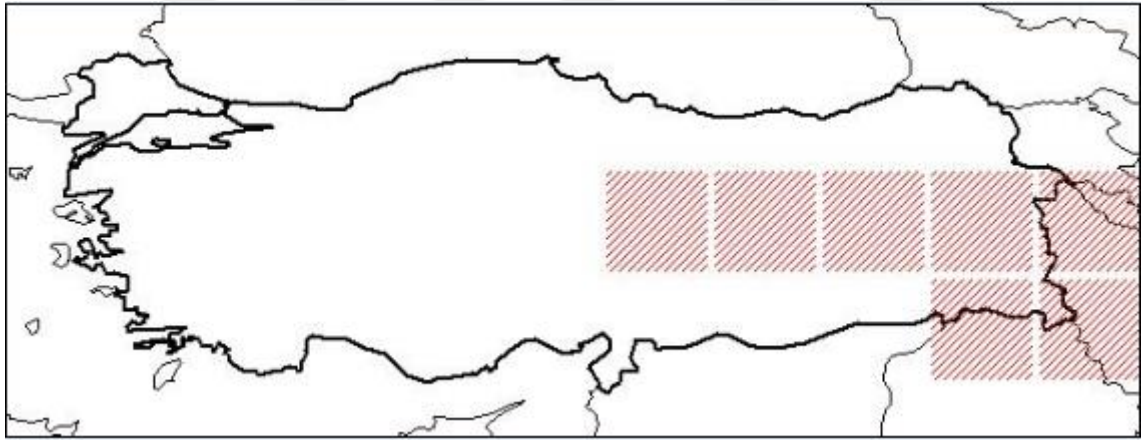
Tip örneği: [N. İran] in Persiae alpihus Elamout (Alamut), Aucher 4960 (holo. G, iso. W).

Yayılış Doğu Anadolu. B6 Maraş: Binboğa Dağı, Işık Dağı üzerinde, Karlı Yaylası üstü, 2200 m, D. 20011! B7 Erzincan: Erzincan'ın Refahiye yönüne doğru 52 km'yi geçtikten sonra, 2000 m, Rech. 15183! B8 Gümüşane: Aşkale- Bayburt, Kop Dağı kuzey tarafı, 2250 m. Hub.-Mor. 15630. Erzurum: Kop Dağının doğu tarafı geçtikten sonra, 2300 m, Buttler 14302! B9 Van: Hoşap, Kepir Dağı, 2900 m, D. 23330! B10 Kars: Iğdır (Grossheim 7: map 231). C9 Hakkâri: Kara Dağ, 3290 m, D. 24441! C10 Hakkâri: Ciilo Dağı, Reşko vadisi, 2000 m, Graham (Buncan &Tait 238)!

Türkiye'de Iğdır, Hakkâri, Erzincan, Erzurum, Kahramanmaraş, Van, Bayburt şehirlerinde dağılım göstermektedir (Görsel 2.4).

Görsel 2.4

S. longifolia 'nın Türkiye'de Yayılış Gösterdiği Kareler: B6, B7, B8, B9, B10, C9, C10 (27)



Kaynak: Tübives. <http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php>. Erişim tarihi: 19.05.2025.

Swertia longifolia Boiss. türünün sistematikteki yeri

Alem: Plantae

Şube: Streptophyta

Sınıf: Equisetopsida

Altsınıf: Magnoliidae

Takım: Gentianales

Family: *Gentianaceae*

Cins: *Swertia*

Tür: *Swertia longifolia* Boiss.

2.5 *Swertia* Cinsinin Geleneksel Kullanımı

Dünya genelinde kozmopolit bir yayılış gösteren *Swertia* cinsi özellikle Hindistan ve Çin geleneksel tıbbında geniş bir kullanımı olan bitkiler içermektedir. İngiliz, Amerikan, Çin, Japonya ve Hindistan Farmakope'lerinde tentür, infüzyon ve dekoksasyonları hazırlanarak kullanılan önemli tıbbi bitkiler olarak tanınmıştır. Ayurveda, Siddha ve Unani gibi Hint geleneksel tıbbi sistemlerinde ve Tibet tıbbın da belgelenmiştir. *Swertia* türlerinin geleneksel kullanılışları Tablo 1.1'de özetlenmiştir. Türkiye'de dağılım gösteren 2 tür için geleneksel kullanıma dair bilgiye rastlanmamıştır.

Tablo 1.1

Swertia Türlerinin Geleneksel Kullanımı

Bitki türü	Kullanılan Kısım	Kullanım Şekli	Kullanılan Hastalık/Durum	Ülke	Ref *
<i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.)	Tüm bitki, kök, tohum, toprak üstü kısmı	Maserasyon, dekoksasyon, macun, kök suyu, ekstre	Sıtma, öksürük, soğuk algınlığı, baş ağrısı, ateş, karaciğer rahatsızlıkları, diyabet, eklem ağrıları, uyuz, çıban, GIS rahatsızlıklarında, anemi, bronşiyal astım, cilt hastalıkları, kurt, epilepsi, ülser, idrar yetersizliği, hipertansiyon, safra salgılanması, kanın temizlenmesinde, mide rahatsızlıklarında tonik olarak kullanılır.	Nepal, Hindistan, Çin	28, 29, 31, 32, 36, 44
<i>S. cordata</i> (Wall. ex G. Don) C.B. Clarke	Yaprak, çiçek, toprak üstü kısmı	Dekoksasyon, infüzyon	GIS ve karaciğer rahatsızlıkları, ateş, antihelmentik olarak kullanılır.	Hindistan	37
<i>S. angustifolia</i> Buch.-Ham. ex D. Don	Tüm bitki, kök	Dekoksasyon, kök suyu	Sıtma, öksürük, soğuk algınlığı, GIS ve safra rahatsızlıklarında kullanılır.	Nepal, Hindistan	28, 39, 45
<i>S. ciliata</i> (D. Don ex G. Don) B.L. Burtt	Tüm bitki	Dekoksasyon	Öksürük, soğuk algınlığı, ateşte kullanılır.	Nepal	28, 44

Tablo 1.1*(Devam) Swertia Türlerinin Geleneksel Kullanımı*

Bitki türü	Kullanılan Kısım	Kullanım Şekli	Kullanılan Hastalık/Durum	Ülke	Ref *
<i>S. deltata var pilosa</i> C.B. Clarke	Tüm bitki	Macun, ekstre, infüzyon	Eklem ağrıları, uyuz, ateş, baş ağrısında kullanılır.	Nepal	28
<i>S. multicaulis</i> D. Don	Tüm bitki, toprak üstü kısmı, kök, yaprak	Macun, dekoksion	Yara iyileştirici, ateş, öksürük, soğuk algınlığı ve anthelmintik olarak kullanılır.	Nepal, Çin, Hindistan	28, 33, 44, 45
<i>S. nervosa</i> (Wall. ex G. Don) C.B. Clarke	Tüm bitki, kök	Ekstre, dekoksion, macun	GIS rahatsızlıkları, cilt hastalıkları, sıtmada kullanılır.	Nepal	28, 46
<i>S. paniculata</i> Wall.	Tüm bitki, yaprak, kök	Dekoksion	Tonik olarak, ateş, sıtma, karaciğer rahatsızlıkları, diyabette kullanılır.	Nepal	28, 40
<i>S. pedicellata</i> Banerji	Tüm bitki	Macun	Baş ağrısı	Nepal	28
<i>S. racemosa</i> (Wall. ex Griseb.) C.B. Clarke	Tüm bitki, yaprak, gövde	Dekoksion, macun	Tonik olarak, ateş, öksürük, egzama, sivilce, sarılıkta kullanılır.	Nepal	28, 42, 43
<i>S. mussotii</i> Franch.	Toprak üstü kısmı	-	Hepatit, kolesistit, safra kesesi hastalıklarında kullanılır.	Çin	29, 35
<i>S. japonica</i> Makino	Toprak üstü kısmı	Ekstre, bitki çayı, dekoksion	GIS bozuklarında, diyabet tedavisinde kullanılır.	Japonya	31, 34
<i>S. alata</i> C.B. Clarke	Tüm bitki	-	Tonik ve ateş düşürücü olarak ve diyabet tedavisinde kullanılır.	Hindistan	11, 41
<i>S. densifolia</i> (Griseb.) Kashyapa.	Kök	Kök suyu	Cüzzamda kullanılır.	Hindistan	38
<i>S. hookerii</i> C.B. Clarke	Kök	-	Sarılıkta kullanılır.	Hindistan	44
<i>S. corymbosa</i> (Griseb.) Wight ex. C.B. Clarke	Tüm bitki	-	İshal, ateş, sarılık, diyabet, iltihaplanma ve sinir bozukluklarının tedavisinde kullanılmıştır.	Hindistan	47, 48

*Ref: Referans

2.6 *Swertia* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Gentianaceae familyası kimyasal içerik olarak başlıca iriditleri içerir ve bu bileşiklerden kaynaklı olarak bitkilerin tatları acıdır (49). Bu familyada yer alan *Swertia* cinsinden ise şimdiye kadar izole edilen bileşik sınıfları iriditler, sekoiriditler, ksantonlar, lignanlar, alkaloidler, flavonoidler ve triterpenoidlerdir. Pant ve arkadaşları (2000) tarafından yapılan bir derleme çalışmasında 41 farklı *Swertia* türlerinden 164 bileşik izole edildiği tespit edilmiştir (50). *Swertia* türlerine ait yapılmış izolasyon çalışmaları, maddelerin kimyasal yapılarına göre gruplandırılmıştır ve Tablo 2.1 ile Tablo 3.6 aralığında verilmiştir. Fitokimyasal çalışma sonuçlarına göre en çok rastlanan madde grubu ksantonlar, sekoiriditler ve flavon C-glikozitleri olduğu görülmüştür. *Swertia*'dan izole edilen başlıca ksanton bileşikleri bellidifolin, mangiferin, dekussatin, swerchirin ve swertianin; sekoiridit bileşikleri swertiamarin, swerosit, amarogentin, amaroswerin ve gentiopikrozit; flavon C-glikozitleri ise izoorientin ve izoviteksindir. Bu bileşikler, *Swertia* türlerinin farmakolojik özelliklerinin araştırmasında çok fazla incelenmiştir.

Tablo 2.1

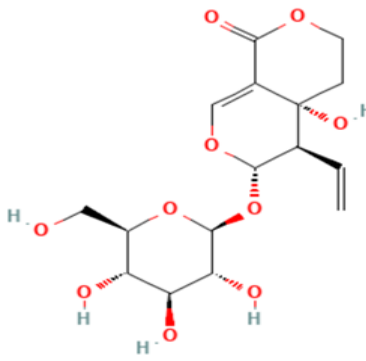
S. iberica ve *S. longifolia* Türlerine Ait İzole Edilen Bileşikler

Bitki	Bileşik sınıfı	Bileşik	Referanslar
<i>S. iberica</i> Fischer ex. C. A. Mey.	Ksanton	Swertiaperenin Dekussatin Gentiakochianin Norswertinin İzogentiakochianin Swertiaiberin Mangiferin 1-0-B-D-Glukopiranosil-3,7,8- trihidroksiksanton 1-0-B-Primeverosil-3,7,8- trimetoksiksanton 1-0-Primeverosil-3,7,8- trihidroksiksanton Bellidifolin	50-56
<i>S. longifolia</i> Boiss.	Sekoiridit	Swertiamarin Gentiopikrozit	51-57

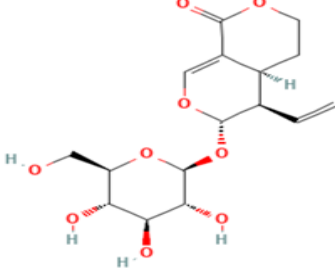
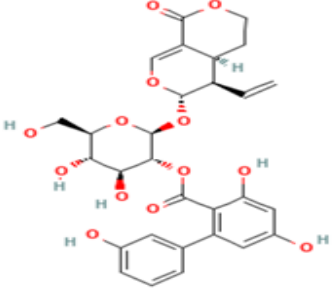
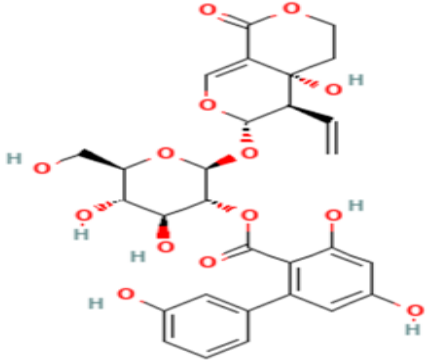
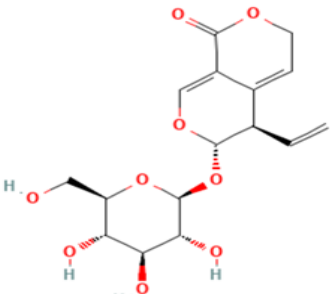
Tablo 2.1*(Devam) S. iberica ve S. longifolia Türlerine Ait İzole Edilen Bileşikler*

Bitki	Bileşik sınıfı	Bileşik	Referanslar
	Ksanton	1,5-Dihidroksi-3-metoksi-6-O primeverosil ksanton 8-Hidroksi-3,5-dimetoksi-1-O primeverosil ksanton İzobellidifolin Bellidin Gentisein Gentiakaulein Swerschirin Swertiaperenine	52,53

2.6.1 Swertia Türlerinden Elde Edilen Major Bileşik Grupları**2.6.1.1 Sekoiridoitler****Tablo 3.1***Sekoiridoit Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı*

Bileşikler	Yapı* (58)
Swertiamarin	

Tablo 3.1*Sekoiridoit Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı*

Bileşikler	Yapı* (58)
Swerosit	
Amarogentin	
Amaroswerin	
Gentiopikrozit	

Kaynak: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Tablo 3.2*Bazı Swertia Türlerinden Elde Edilen Sekoiridoit Bileşikleri*

Bileşikler	Bitkiler	Referans
Swertiamarin	<i>S. longifolia</i> Boiss. <i>S. angustifolia</i> Buch.-Ham. ex D. Don <i>S. angustifolia</i> var. <i>pulchella</i> (D. Don) Burkill. <i>S. bifolia</i> Franch. <i>S. bimaculata</i> (Siebold & Zucc.) C. B. Clarke <i>S. binchuanensis</i> T.N. Ho & S.W. Liu <i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.) <i>S. ciliata</i> (D. Don ex G. Don) B.L. Burtt <i>S. cincta</i> Burkill. <i>S. cordata</i> Wall. ex G. Don <i>S. corymbosa</i> (Griseb.) Wight ex. C.B. Clarke. <i>S. davidi</i> Franch. <i>S. decora</i> Franch. <i>S. delavayi</i> Franch. <i>S. densifolia</i> (Griseb.) Kashyapa. <i>S. dilatata</i> C. B. Clarke. <i>S. diluta</i> (Turcz.) Benth. & Hook.f. <i>S. erythrosticta</i> Maxim. <i>S. franchetiana</i> Harry Sm. <i>S. japonica</i> Makino <i>S. kouichensis</i> Franch. <i>S. lawii</i> Burkill. <i>S. macrosperma</i> C. B. Clarke. <i>S. mileensis</i> T.N. Ho & W.L. Shih <i>S. minor</i> (Griseb.) knobl. <i>S. mussotii</i> Franch. <i>S. nervosa</i> (G. Don) C. B. Clarke.	51,59-72

Tablo 3.2*(Devam) Bazı Swertia Türlerinden Elde Edilen Sekoiridoit Bileşikleri*

Bileşikler	Bitkiler	Referans
Swerosit	<i>S. angustifolia</i> Buch.-Ham. ex D. Don <i>S. bimaculata</i> (Siebold & Zucc.) C. B. Clarke <i>S. calycina</i> Franch. <i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.) <i>S. ciliata</i> (D.Don ex G.Don)B.L.Burt <i>S. cincta</i> Burkill. <i>S. fasciculata</i> T.N. Ho & S.W. Liu <i>S. franchetiana</i> Harry Sm. <i>S. japonica</i> Makino <i>S. macrosperma</i> C. B. Clarke. <i>S. mileensis</i> T.N. Ho & W.L. Shih <i>S. nervosa</i> G. Don) C. B. Clarke. <i>S. paniculata</i> Wall. <i>S. pseudochinensis</i> H. Hara. <i>S. pubescens</i> Franch.	65,70-75
Amarogentin	<i>S. angustifolia</i> Buch.-Ham. ex D. Don <i>S. binchuanensis</i> T.N. Ho& S.W. Liu <i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.) <i>S. cordata</i> Wall. ex G. Don <i>S. japonica</i> Makino <i>S. mileensis</i> T.N. Ho & W.L. Shih <i>S. pseudochinensis</i> H. Hara. <i>S. punicea</i> Hemsl. <i>S. nervosa</i> (G. Don) C. B. Clarke. <i>S. paniculata</i> Wall.	63,71,76-78

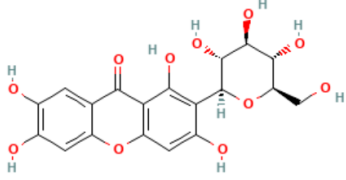
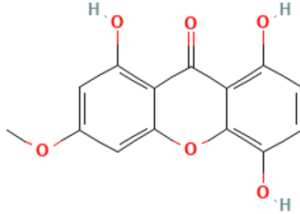
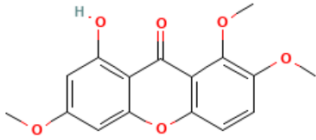
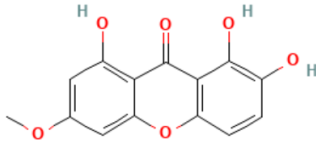
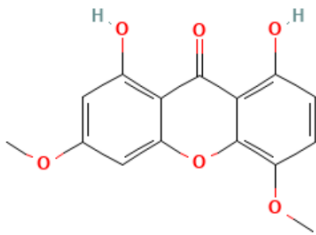
Tablo 3.2*(Devam) Bazı Swertia Türlerinden Elde Edilen Sekoiridoit Bileşikleri*

Bileşikler	Bitkiler	Referans
Amaroswerin	<i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.) <i>S. japonica</i> Makino <i>S. pseudochinensis</i> H. Hara. <i>S. punicea</i> Hemsl.	63,71,78
Gentiopikrozit/Gentiopikrin	<i>S. bimaculata</i> (Siebold & Zucc.) C. B. Clarke <i>S. binchuanensis</i> T.N. Ho & S.W. Liu <i>S. calycina</i> Franch. <i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.) <i>S. cincta</i> Burkill. <i>S. ciliata</i> (D. Don ex G. Don) B.L. Burtt <i>S. fasciculata</i> T.N. Ho & S.W. Liu <i>S. franchetiana</i> Harry Sm. <i>S. japonica</i> Makino <i>S. macrosperma</i> C. B. Clarke. <i>S. mileensis</i> T.N. Ho & W.L. Shih <i>S. mussotii</i> Franch. <i>S. nervosa</i> (G. Don) C. B. Clarke. <i>S. pseudochinensis</i> H. Hara. <i>S. pubescens</i> Franch.	64,65,70,72,74,75,79-81

2.6.1.2 Ksantonlar

Tablo 3.3

Ksanton Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı

Bileşikler	Yapı* (58)
Mangiferin (2-C-β-D-glukopiranosil-1,3,6,7-tetrahidroksikanton)	
Bellidifolin (Desmetilbellidifolin)	
Dekussatin (1-hidroksi-3,7,8- trimetoksi ksanton)	
Swertianin (1,2,8-trihidroksi-6-metoksikanton) (gentiakoianin)	
Swerschirin (Metilbellidifolin)	

Kaynak: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Tablo 3.4*Bazı Swertia Türlerinden Elde Edilen Ksanton Bileşikleri*

Bileşikler	Bitkiler	Referans
Mangiferin (2-C-β-D-glukopiranosil-1,3,6,7-tetrahidroksiksanton)	<i>S. angustifolia</i> <i>var. pulchella</i> (D. Don) Burkill. <i>S. bifolia</i> Batalin. <i>S. bimaculata</i> (Siebold & Zucc.) C. B. Clarke <i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.) <i>S. corymbosa</i> (Griseb.) Wight ex. C.B. Clarke. <i>S. ciliate</i> (D. Don ex G. Don) B.L.Burt <i>S. cincta</i> Burkill. <i>S. cordata</i> Wall. ex G. Don <i>S. davidi</i> Franch. <i>S. delavayi</i> Franch. <i>S. densifolia</i> (Griseb.) Kashyapa. <i>S. dilatata</i> C. B. Clarke. <i>S. erythrosticta</i> Maxim. <i>S. franchetiana</i> Harry Sm. <i>S. kouichensis</i> Franch. <i>S. lawii</i> Burkill. <i>S. macrosperma</i> C. B. Clarke. <i>S. minör</i> (Griseb.) knobl. <i>S. mussotii</i> Franch. <i>S. nervosa</i> (G. Don) C. B. Clarke. <i>S. paniculata</i> Wall. <i>S. pubescens</i> Franch. <i>S. punctata</i> Baumg.	54,61,65,71,72,76,82-85

Tablo 3.4*(Devam) Bazı Swertia Türlerinden Elde Edilen Ksanton Bileşikleri*

Bileşikler	Bitkiler	Referans
Bellidifolin (Desmetilbelliddifolin)	<i>S. binchuanensis</i> T.N.Ho&S.W. Liu <i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.) <i>S. ciliata</i> (D.Don ex G.Don)B.L.Burt <i>S. corymbosa</i> (Griseb.) Wight ex. C.B. Clarke. <i>S. davidi</i> Franch. <i>S. franchetiana</i> Harry Sm. <i>S. japonica</i> Makino <i>S. macrosperma</i> C. B. Clarke <i>S. mussotii</i> Franch. <i>S. pseudochinensis</i> H. Hara. <i>S. pubescens</i> Franch. <i>S. punctata</i> Baumg. <i>S. punicea</i> Hemsl. <i>S. speciosa</i> Wall. <i>S. alata</i> C.B. Clarke.	35,54,63,67,86-91
Dekussatin	<i>S. alata</i> C.B. Clarke <i>S. bifolia</i> Batalin. <i>S. decora</i> Franch. <i>S. franchetiana</i> Harry Sm. <i>S. macrosperma</i> C. B. Clarke <i>S. nervosa</i> (G. Don) C. B. Clarke <i>S. punicea</i> Hemsl. <i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.) <i>S. iberica</i> Fischer ex. C. A. Mey.	92-98

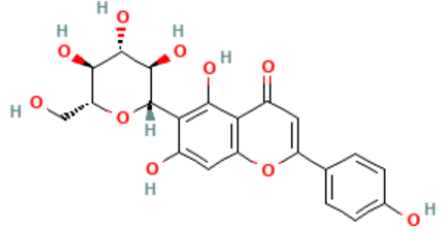
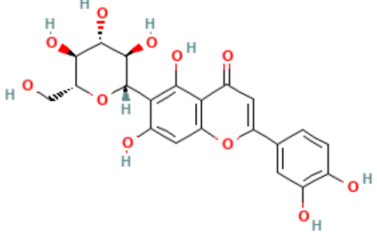
Tablo 3.4*(Devam) Bazı Swertia Türlerinden Elde Edilen Ksanton Bileşikleri*

Bileşikler	Bitkiler	Referans
Swertianin (1,2,8-trihidroksi-6-metoksiksanton) (gentiakochianin)	<i>S. decora</i> Franch. <i>S. delavayi</i> Franch. <i>S. punicea</i> Hemsl. <i>S. yunnanensis</i> Burkill. <i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.) <i>S. densifolia</i> (Griseb.) Kashyapa. <i>S. dilata</i> C. B. Clarke <i>S. japonica</i> Makino <i>S. corymbosa</i> (Griseb.) Wight ex. C.B. Clarke.	94,99-104
Swerschirin (Metilbellidifolin)	<i>S. chirayita</i> (Roxb.) H. Karst. (Syn: <i>S. chirata</i> Buch.-Ham. ex Wall.) <i>S. calycina</i> Franch. <i>S. longifolia</i> Boiss. <i>S. paniculata</i> Wall. <i>S. speciosa</i> Wall. <i>S. bifolia</i> Batalin. <i>S. macrosperma</i> C. B. Clarke <i>S. musotii</i> Franch. <i>S. pseudochinensis</i> H. Hara. <i>S. punctata</i> Baumg. <i>S. yunnanensis</i> Burkill.	35,52,54,78,87,93,96,101,105

2.6.1.3 Flavon C-glikozitler

Tablo 3.5

Flavon C- Glikozitleri Bileşiklerinin Kimyasal Yapısı

Bileşikler	Yapı* (58)
İzoviteksin	
İzoorientin	

Kaynak: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Tablo 3.6

Bazı Swertia Türlerinden Elde Edilen Flavon C- Glikozitleri Bileşikleri

Bileşikler	Bitkiler	Referans
İzoviteksin	<i>S. bimaculata</i> (Siebold & Zucc.) C. B. Clarke <i>S. diluta</i> (Turcz.) Benth. & Hook.f. <i>S. swertopsis</i> Makino <i>S. pseudochinensis</i> H. Hara. <i>S. japonica</i> Makino. <i>S. randaiensis</i> Franch. <i>S. perennis</i> L. <i>S. delavayi</i> Franch. <i>S. corymbosa</i> (Griseb.) Wight ex. C.B. Clarke <i>S. punctata</i> Baumg.	52,29,53,54,55,56

Tablo 3.6*(Devam) Bazı Swertia Türlerinden Elde Edilen Flavon C- Glikozitleri Bileşikleri*

Bileşikler	Bitkiler	Referans
İzoorientin	<i>S. japonica</i> Makino. <i>S. perennis</i> L. <i>S. swertopsis</i> Makino <i>S. delavayi</i> Franch. <i>S. pubescens</i> Franch. <i>S. punctata</i> Baumg.	29,56, 58,59,60

3 MATERYAL VE METOT

3.1 Kullanılan Kimyasallar

Tablo 4.1

Kullanılan Kimyasallar

Kimyasal Madde	Marka
Solvanlar: <i>n</i> -Butanol, <i>n</i> -Hekzan, Diklorometan, Etilasetat, Kloroform, Metanol, Etanol.	Merck, Sigma, Carlo Erba
ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı	Applied Biosystems, Foster City, CA
Cycle Dizileme Kiti	BigDye Terminator v3.1, (Applied Biosystems, Foster City, CA.)
Saflaştırma kiti (PCR)	MAGBIO "HighPrep™ PCR Clean-up System" (AC-60005)
3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyum bromür (MTT)	Sigma-Aldrich
Folin-Ciocalteu reaktifi	Merck
Gallik asit	Sigma
1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH')	TCI
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Applied Chem.
Tripsin-EDTA %0.25	Capricorn Scientific
DNA izolasyon kiti	EurX GeneMATRIX Plant & Fungi DNA izolasyon kiti (Polonya)
Polymerase Taq polimeraz enzimi	Solis Biodyne (Estonya) FIREPol® DNA

3.2 Kullanılan Cihazlar

Tablo 4.2

Kullanılan Cihazlar

Cihaz	Marka
Işık mikroskobu ve görüntüleme sistemi	Olympus SZX12 ve Kameram
Binoküler mikroskop	Nikon SMZ645

Tablo 4.2*(Devam) Kullanılan Cihazlar*

Cihaz	Marka
GC/MS Sistem (Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi)	(Agilent 5975 GC MSD)
Ultra Plus Fesem taramalı elektron mikroskobu (SEM)	Zeiss
Liyofilizatör	Labconco
Rotavapor	Heidolph, BUCHI-R210
ELISA Okuyucu	ELx808 IU
Vortex	Heidolph
Çalkalayıcı	Orbital
Hassas terazi	Radwag, Denver instrument-SI-234
Distile su cihazı	GFL-2004
Ultrasonik banyo	ELMA S100H (Elmasonic)
Etüv	Electro mag-M5040
Plak ısıtıcı	CAMAG-022.3306
Uv Kabini	CAMAG-022.9120
Spektrofotometre	Thermo Scientific Nanodrop 2000 (USA)

3.3 Bitkisel Materyaller

Tez materyali olan *S. iberica* türü Rize'den, *S. longifolia* türü ise Van'dan toplanmıştır. "Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Davis, 1982)" cilt 6'dan yararlanılarak teşhis edilmiştir. Örnekler herbaryum materyali haline getirilerek Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda (ESSE 16199, 15924, 15925) saklanmaktadır. Bu çalışmada kullanılan türlerin lokalite bilgileri Tablo 5.1' de verilmiştir.

Tablo 5.1*Tez Materyallerinin Lokalite Bilgileri*

Tür Adı	Lokalite	GSP Kaydı	Toplanma Tarihi	ESSE No
<i>S. longifolia</i>	B9, Van:Gürpınar, Yoldüştü, 2690m	38° 07'32" K 43° 36'18" D	30.07.2023	16199
<i>S. iberica</i>	A8, Rize:Çamlıhemşin, Yukarı Çeymakçur Yaylası, 2800m	40° 54' 55" K 41° 9' 50" D	15.08.2023	15924
<i>S. iberica</i>	A8, Rize:Çamlıhemşin, Yukarı Çeymakçur Yaylası, 2800m	40° 55' 13" K 41° 9' 50" D	15.08.2023	15925

Görsel 3.1*S. iberica* Herbaryum Örneği

Görsel 3.2

S. longifolia Herbarium Örneği



Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu (ANK), Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu (GAZİ), Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu (HUB) ziyaret edilmiş ve İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariumu (ISTE), Kew Herbariumuna ait örnekler dijital olarak erişim sağlanarak *Swertia* cinsine ait örnekler incelenmiştir. Cinse ait herbarium örnekleri Görsel 3.3 ile Görsel 3.9 aralığında verilmiştir.

Görsel 3.3

S. iberica ANK Herbarium Örneği



Görsel 3.4

S. iberica HUB Herbarium Örnekleri



Görsel 3.5

S. iberica GAZI Herbarium Örnekleri



Görsel 3.6

S. longifolia ANK Herbarium Örnekleri



Görsel 3.7

S. longifolia GAZI herbaryum örnekleri



Görsel 3.8

S. perennis GAZI herbaryum örnekleri



Görsel 3.9

S. caerulea ANK herbaryum örneği



3.4 Morfolojik Çalışmalar

Bitki örnekleri çiçeklenme zamanında doğal yayılış alanlarından toplanmış ve toplanan örneklerden 20 birey seçilmiştir. Seçilen bu örneklerin bitki boyu, bazal yaprak eni-boyu, petiyol, kaliks, korolla ve kapsül boyu milimetrik kâğıt ile binoküler stereo mikroskop (Nikon SMZ645) altında ve cetvel kullanılarak ölçüm yapılmıştır. Flora of the Turkey and the East Aegean Islands 6. cildinden (Davis, 1982) yararlanılarak morfolojik karakterlerin karşılaştırılması yapılmıştır (21). Türlerin morfolojik terminolojileri yazılırken, Prof. Dr Asuman Baytop' un botanik kılavuzundan faydalanılmıştır (112).

3.5 Mikromorfolojik Çalışmalar

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Tez materyallerine ait tohum, stigma, stoma, polen, nektaryum, sepal, petal ve kapsül mikromorfolojik yüzey özelliklerinin analizi Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezinde yer alan taramalı elektron mikroskobunda (SEM- Hitachi TM3030 Plus Tabletop Microscope) görüntülenmiştir. Bitki kısımları stap yapıştırılmış ve yüzey ornemantasyonlarının belirlenmesi için fotoğraflanmıştır.

3.6 Anatomik Çalışmalar

Arazi çalışması sırasında, anatomik incelemeler için %70 etil alkol (EtOH) içeren cam kavanozlara tüm bitki örnekleri alınmıştır. Anatomik çalışmalarda, Metcalfe ve Chalk (1950) tarafından geliştirilen modifiye edilmiş standart yöntemler uygulanmıştır (113).

Aynı zamanda bitki örneklerinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından jilet yardımı ile enine ve yüzeysel kesitler alınıp kloralhidrat ile saydamlaştırılmıştır. Gövde ve yaprak kısmı sartur, floroglusin ve %25'lik HCl reaktifleri ile boyanmıştır. Müsilaj varlığını kontrol etmek için kesitler çini mürekkebi ile muamele edilmiştir. Alınan kesitler, trinokuler mikroskop (Olympus BX51T) ile fotoğraflanmıştır.

%70'lik EtOH çözeltisinde bulunan örneklerin çalışılacak olan organlarından 5-10 mm kalınlığında kesitler olabildiğince dik alınır. Daha sonra farklı konsantrasyonlarda etanol (EtOH) ve ksilol serileri kullanılmıştır. Her bir seri için belirlenen inkübasyon süreleri aşağıda detaylandırılmıştır:

Tablo 6.1

Anatomik Kesitlerde Uygulanan Protokol

Seriler	Bekleme süresi
% 85'lik EtOH	1 saat
% 95'lik EtOH	1 saat
% 100 EtOH	1 saat
2 EtOH + 1 ksilol	30 dakika
1 EtOH + 1 ksilol	30 dakika
1 EtOH + 2 ksilol	30 dakika
%100'lük ksilol	1 saat

%100 ksilol içinde 1 saat bekledikten sonra, 18-23 adet parafin boncuğu eklenir ve 1 gün boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu sürenin ardından, üzerine tekrardan parafin boncuğu eklenmiş ve 60°C'deki etüvde, ksilol kokusu uzaklaşana kadar beklenmiştir. Ksilol kokusu çıktıktan sonra, kesit alma işlemi için örnekler parafinle kasetlere gömülmüştür. Kesit alma sırasında, parafinle doymun hale gelen bitki örnekleri, bloklar şeklinde düzenlenip, Leica RM2125RT rotary mikrotom ile 5-10 µm kalınlığında enine

kesitler alınmıştır. Alınan kesitler, 1 gün süreyle 60°C etüvde tutulmuştur. Ardından, boyama işlemine geçilmiştir. Boyama için safranin-fast green protokolü kullanılmıştır (Tablo 6.2). Boyama işlemi sonrasında preparatlar entellan ile kapatılmıştır.

Tablo 6.2

Anatomik Kesitlerde Uygulanan Boyama Protokol

Seriler	Bekleme süresi
%100 'luk Ksilol	15-30 dakika
2 Ksilol+1 EtOH	2 dakika
1 Ksilol+1 EtOH	2 dakika
1 Ksilol+2 EtOH	2 dakika
(%100, %96, %90, %80, %70) EtOH	10 dakika
Safranin	4-5 dakika
Saf Su	5 dakika
%100 'luk Ksilol	15 dakika
1 Ksilol+1 EtOH	4-5 dakika
(%100, %96) EtOH	8-10 dakika
Fast Green	1-2 dakika
(%100, %96, %90, %70, %50) EtOH	25 dakika

3.7 Palinolojik Çalışmalar

Herbaryum örneği haline getirilmiş bitkilerin kapalı çiçeklerinden polen örnekleri alınmıştır. Polen preparatları, Wodehouse yöntemine göre hazırlanmıştır. Polenlerin morfolojik incelemesi, ışık mikroskobu (Olympus BX51T) ile yapılmıştır. Polen yüzeyindeki ornemantasyon detayları için taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile fotoğraflar çekilmiştir. "Illustrated Polen Terminology" kitabı ve " Illustrated Pollen Terms " terminoloji kılavuzu kullanılmıştır (114,115).

Wodehouse Metodu

Polenler, anterlerden alınarak lam üzerine yerleştirilmiştir. Anterlerin reçine ve yağlardan arındırılması için %96'lık alkolden 1-2 damla damlatılmış ve alkolün buharlaşması sağlanana kadar ısıtıcıda bekletilmiştir. Safraninli gliserin jelatinden bir miktar alınıp,

polenlerin üzerine koyulup erimesi sağlanmıştır. Polenlerin dağılması için temiz bir iğne ile karıştırılmış ve üzerine lamel kapatılmıştır. Polenlerin tek bir düzlemde gözlemlenebilmesi için preparatlar ters çevrilip oda sıcaklığında bir gün bekletilmiştir.

3.8 Moleküler Çalışmalar

Türlerin moleküler özelliklerini belirlemek için, ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')-ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATA TGC-3') gen bölgeleri kullanılarak DNA dizi analizi yapılmıştır. ITS1-ITS4 evrensel primerleri (White ve ark., 1990), nükleer ribozomal DNA'nın dahili transkripsiyonlu aralayıcı (ITS) bölgelerini çoğaltmak için kullanılmıştır (116). PCR koşulları şu şekildedir: İlk denatürasyon 95°C'de 5 dakika 40 döngü: Denatürasyon 95°C'de 45 saniye, Yapışma (annealing) 57°C'de 45 saniye, Uzatma 72°C'de 60 saniye, Son uzatma 72°C'de 5 dakika, Hol: 4°C. PCR ürünleri, downstream uygulamalarından önce doğrulama için agar jel elektroforezi ile incelendi. Dizi analizi için BM Labosis firmasından hizmet alımı yapıldı ve yakın akraba türler <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> adresindeki dizileri kullanılarak BLAST programı ile bulunmuş ve ilişkileri belirlenerek bir ağaç dendrogramı oluşturulmuştur (National Library of Medicine n.d). Ağaç dendrogramları hızlı minimum evaluation yöntemi kullanılarak çizilmiştir.

3.9 Uçucu Yağ Eldesi

Mikrodistilasyon Metodu

S. iberica ve *S. longifolia* ait çiçeklerden 1'er gram tartılarak Anadolu Üniversitesi BİBAM'da (Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi) bulunan Mikrodistilasyon cihazı ile uçucu bileşenler elde edilmiştir (117).

3.10 Uçucu Yağ Analizi

Mikrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağların GC (Gaz Kromatografisi) ve GC/MS (Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrometrisi) analizleri yapılmıştır. Gaz Kromatografisi (Agilent 6890N GC); Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (Agilent 5975 GC-MSD) sistemleri kullanılmıştır. BAŞER Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi, Wiley ve Adams-LIBR (TP) Kütüphane tarama Yazılımları kullanılarak bileşenler belirlenmiştir.

GC/MS sistemi üzerinde kolon olarak HP-Innowax Silika kapiler (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 mm film kalınlığı) kullanılmıştır.

Sıcaklık programı 60°C de 10 dakika, dakikada 4°C artışla 220°C ye, 220°C de 10 dak,

dakikada 1°C artışla 240°C'ye, 240°C'de 20 dakika ve enjektör sıcaklığı 250°C'ye ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum (0.8 ml/dak) kullanılmıştır.

Split oranı 40:1, elektron enerjisi 70 eV, kütle aralığı m/z 35-450 olarak ayarlanmıştır.

GC analiz koşulları; eş zamanlı olarak GC/MS sistemindeki madde çıkış zamanları ile aynı olacak şekilde ayarlanmıştır (FID 300°C).

3.11 Ekstrelerin Elde Edilmesi

Türlerin *n*-hekzan, etil asetat, metanol ve %70'lik etil alkollü ekstresi hazırlanmıştır. Gölgede kurutulmuş bitkilerin çiçekli toprak üstü kısımları parçalanarak 30 'ar gram tartıldı. 300 mL çözücü eklenerek 150 rpm'de 24 saat çalkalayıcıda (Orbital) maserasyona bırakılmıştır. Bu işlem 3 tekrarlı şekilde yapılmıştır. Maseratlar süzgeç kağıdı yardımıyla süzildükten sonra süzüntü rotavapor ile düşük basınç altında ve 38°C sıcaklıkta çözücüsünden uzaklaştırılmıştır. Örnekler liyofilize edilerek kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

Kuru bitki örneklerinden 5'er gram tartılarak üzerine 80°C sıcaklıkta 100 mL distile su eklenerek %5 lik infüzyon hazırlanmıştır. Hazırlanan infüzyon örnekleri liyofilize edilerek kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

3.12 Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.12.1 Antioksidan aktivite çalışmaları

3.12.1.1 DPPH• serbest radikalini süpürücü etki

DPPH radikal süpürücü etki tayini için Kumarasamy ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem kullanılmıştır (118). DPPH stok çözeltisi son konsantrasyonu 80 µg. mL⁻¹ olacak şekilde hazırlanmıştır. İlk satıra 200'er µl ekstre, diğer satırlara ise 100'er µL metanol (MeOH) eklenmiştir. Platede yukarıdan aşağıya doğru seri seyreltme yapılmıştır. 100 µL DPPH• çözeltisi eklenmiştir. Plate 30 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. Pozitif kontrol olarak gallik asit, negatif kontrol olarak çözücü (MeOH) kullanılmıştır. Plate, 517 nm spektrofotometrede okunmuştur. Gen5 Data Analysis programı (BioTek) kullanılmıştır ve sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Deney 3 tekrarlı yapılmıştır. % inhibisyon aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(Abs \text{ kontrol} - Abs \text{ örnek}) / Abs \text{ kontrol}] \times 100$$

Abs: Absorbsiyon

IC₅₀ değerleri Nonlinear regresyon eğrileri yardımıyla (Sigma 12.0) belirlenmiştir.

3.12.1.2 Toplam fenol miktar tayini (Folin-Ciocalteu Reaktifı (FCR) Yöntemi)

Bu çalışmada, örneklerin toplam fenolik madde içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden tespit edilmiştir (119). Analiz için ekstrelerden metanol (MeOH) kullanılarak 10 mg/mL konsantrasyonda çözelti hazırlanmıştır. Ardından, derin mikropate kuyucuklarına her bir örnekten 20 µL alınarak transfer edilmiş ve üzerine 1560 µL distile su ile 100 µL Folin-Ciocalteu reaktifı eklenmiştir. 3-5 dakika bekletildikten sonra, 300 µL %20'lik sodyum karbonat (Na₂CO₃) özeltisi ilave edilmiştir. Reaksiyonun tamamlanması için örnekler oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında, her bir kuyucuktan 200 µL alınarak mikropate aktarılmış ve 760 nm dalga boyunda absorbans değerleri spektrofotometrik olarak ölçölmüştür. Tüm analizler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması ve hesaplamalar:

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde, standart gallik asit çözelti (1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.06 ve 0.03 mg/mL) kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Örneklerdeki fenolik bileşiklerin konsantrasyonu, bu kalibrasyon eğrisinin denklemine dayanarak hesaplanmış ve sonuçlar "mg GAE/g ekstre" (gram ekstre başına miligram gallik asit eşdeğeri) cinsinden ifade edilmiştir.

3.12.2 Antimikrobiyal aktivitenin incelenmesi

3.12.2.1 Antibakteriyel aktivite testi

Biyootografi Dot-Blot Yöntemi

Staphylococcus aureus (B2) ATCC 6538 suşuna karşı ekstrelerin antibakteriyel aktiviteleri, biyotografi dot-blot yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Deneylerde, 13 cm çapındaki steril petri kaplarına 20 mL Mueller Hinton agar (MHA) besiyeri eklenmiştir. Analiz öncesinde metanol ile yıkanarak kurutulan ve 7x7 cm boyutunda kesilen silikajel GF254 plaklara, 10 mg/mL konsantrasyonda hazırlanan örneklerden Drummond mikro pipetler yardımıyla 5 µL uygulanmıştır. Kromatografik yürütme işlemi gerçekleştirilmeden, örnekler steril pensetler kullanılarak doğrudan petri kaplarına transfer edilmiştir.

Test mikroorganizması, bir gün önceden MHA besiyerinde aktive edilmiş ve %0.085 NaCl solüsyonunda McFarland 0.5 standartına göre ayarlanmıştır. Ardından, 9 mL'lik Molten agar (%1.5 agar) steril tüplere dağıtılmış ve uygun sıcaklığa ulaştığında, hazırlanan bakteri süspansiyonundan 1 mL eklenerek homojen bir karışım elde edilmiştir. Besiyerinin polimerizasyonu gerçekleşmeden önce, ince tabaka kromatografi (İTK) plaklarının yerleştirildiği petrilere dökülmüş ve oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılmıştır. 37°C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından, %0.25'lik tetrazolium tuzu çözeltisi (distile su bazlı) plaklara püskürtülmüş ve inhibisyon zonlarının belirginleşmesi amacıyla ek 3 saatlik inkübasyon süreci uygulanmıştır. Sonuç olarak, bakteri üremesinin gerçekleştiği bölgeler, silikajel plak üzerinde karakteristik kırmızı renkli zonlar şeklinde gözlemlenmiştir (120).

Kuyu Difüzyon Protokolü

Antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi amacıyla *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Escherichia coli* NRRL B-3008 suşu kullanılarak kuyu difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Deneylerde, 9 cm çapındaki steril petri kaplarına 25 mL Mueller Hinton Agar (MHA) besiyeri homojen şekilde dağıtılmıştır. Mikrobiyal süspansiyon, %0.85 steril salin solüsyonunda McFarland 0.5 standartına göre ayarlanmış ve besiyeri yüzeyine 200 µL hacminde eklenerek Drigalski yardımıyla eşit şekilde yayılmıştır. Besiyerinin yüzey kuruluğunu sağlamak amacıyla 20 dakika beklenmiş ve ardından steril delici yardımıyla 6 mm çapında kuyular açılmıştır. Test edilen ekstreler, 16 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış ve her bir kuyuya 30 µL olacak şekilde dikkatlice eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak Kloramfenikol (128 µg/mL) kullanılmıştır. Petri kapları, 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrasında inhibisyon zonları, milimetrik cetvel kullanılarak değerlendirilmiştir.

Mikrodilüsyon

Protokolü

Çalışmada antimikrobiyal aktivite testleri, klinik laboratuvar standartlarına uygun olarak kısmen modifiye edilmiş CLSI (NCCLS) M7-A7 protokolü temel alınarak gerçekleştirilmiştir (121). Test mikroorganizmaları olarak *Escherichia coli* NRRL B-3008, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Serratia marcescens* NRRL B-2544 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 suşları kullanılmış

olup, bu suşlar -85°C'de %50'lik steril gliserol solüsyonu içerisinde saklanmıştır. Tüm deneyler steril şartlar altında ve üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. Deney öncesinde, Mueller Hinton Agar (MHA) plaklarında 24 saat inkübe edilen bakteri kültürleri, McFarland 0.5 bulanıklık standardına (BIOSAN marka bulanıklık ölçer kullanılarak) ayarlanmıştır. Ayarlanan süspansiyonlar, son konsantrasyon 1×10^6 KOB/mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Test edilecek ekstreler, 16 mg tartılarak 1 mL steril %100 dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözündürülmüştür. *S. iberica* ve *S. longifolia* türlerine ait %70 etanol, metanol, etil asetat, hekzan ve infüzyon ekstreleri test edilmiştir.

Steril U tabanlı 96 kuyucuklu mikropatelere, 100 µL Muller Hinton Broth (MHB) besiyeri eklenmiştir. Test örnekleri soldan sağa doğru seri dilüsyonları yapılarak her bir kuyuya 100 µL eklenmiştir. Kontroller kapsamında:

- DMSO çözücü kontrolü
- Besiyeri sterilite kontrolü
- Kloramfenikol (Sigma) pozitif kontrol çalışmaya dahil edilmiştir.
- Daha önceden McFarland 0.5 bulanıklık standardına göre ayarlanan mikroorganizma kültürleri son konsantrasyon 1×10^6 KOB/mL olacak şekilde multikanal otomatik pipet yardımıyla her bir sütuna 20'şer µL eklenmiştir. Plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda resazurin boyama yöntemi uygulanarak Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir. Standart antibakteriyel ajan olarak kloramfenikol kullanılmıştır.

3.12.2.2 Antikandidal aktivite testi

Kuyu Difüzyon Protokolü

Antikandidal aktivitenin belirlenmesi *Candida utilis* NRRL-Y-900 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşlarına karşı kuyu difüzyon yöntemi uygulanmıştır. 9 cm'lik petrilere Sabouraud Dekstroz agar (SDA) 25 mL porsiyonlanır. %0.085 steril salin solüsyonunda Mcfarland 0.5'e göre ayarlanan kültürlerden 200 µL eklenerek Drigalski yardımıyla petrinin yüzeyine eşit şekilde yayılır. Besiyerlerinin kuruması için 20 dakika beklenir. 6 mm çapında kuyular açılır. 16 mg/mL dozunda tartılan ekstreler 30 µL olacak şekilde kuyulara yavaşça eklenir. 24 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon süresinin sonunda

zone çapları mm cinsinden ölçülür. Mayalar için Ketokonazol 160 g/mL dozda kullanılmıştır.

Mikrodilüsyon

Protokolü

Antifungal aktivite testleri, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından yayınlanan M27-A2 protokolü temel alınarak kısmen modifiye edilmiş şekilde uygulanmıştır (122). Çalışmada *Candida albicans* ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 90028, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258 ve *C. utilis* NRRL Y-900 suşları kullanılmış olup, tüm suşlar -85°C'de %50 steril gliserol solüsyonu içerisinde saklanmıştır. Tüm deneyler steril şartlar altında ve üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. Test mikroorganizmaları, deney öncesinde Patates Dekstroz Agar (PDA) besiyerinde 24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrasında, steril %0.85'lik salin solüsyonu içerisinde McFarland 0.5 standardına (BIOSAN bulanıklık ölçer kullanılarak) ayarlanmıştır. Test edilecek ekstreler, 16 mg olarak hassas şekilde tartılmış ve 1 mL steril %100 dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözündürülmüştür. Steril U tabanlı 96 kuyucuklu mikropelatelere, 100 L RPMI 1640 besiyeri eklenmiştir. Test rnekleri vortekslenerek homojenize edildikten sonra kuyucuklara pipetlenmiş ve soldan sağa doğru seri dilüsyonları yapılmıştır. Hazırlanan *Candida* süspansiyonları 1:1000 oranında seyreltilerek multikanal otomatik pipet yardımıyla her bir kuyuya eklenmiştir. Çalışmada aşağıdaki kontroller uygulanmıştır:

- DMSO zc kontrolü
 - Besiyeri sterilite kontrolü
 - Standart antifungal ajan olarak ketokonazol (Sigma)
- Plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda her bir kuyuya mavi renkli resazurin boyası eklenmiş ve tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Canlı hücrelerde enzimatik reaksiyonlar sonucu resazurinin resorufine indirgenmesiyle pembe renk oluşumu gözlenirken, inhibisyonun gerçekleştiği kuyularda mavi rengin korunduğu tespit edilmiştir. MİK değeri, mavi rengin korunduğu son kuyucuk olarak belirlenmiştir.

3.12.3 Nöroprotektif aktivitenin incelenmesi

Hücrelerin oğaltılması

BV-2 (Murin mikrogliya hücreleri) hücre hattına ait hücreler daha önceki çalışmalarımızda dondurulup -80 C'de saklanmakta olan stok hücrelerden çoğaltılmıştır. Bunun için -

80°C’de muhafaza edilen hücelere ait krio vialler 37°C’deki su banyosunda çözündürölüp daha önceden hazır edilen laminar kabin içerisinde 9 mL tamamlanmış besi yeri (%10 Fetal sığır serumu + %1 Penisilin-Sterptomisin içeren L-Glutaminli RPMI-1640 besiyeri) içerisinde ilave edilerek 15 mL’lik steril santrifüj tüpünde 1000 rpm’de 5 dk süre ile santrifüj edilmiştir. İşlem sonunda hücelere ait pellet üzerindeki süpernatant uzaklaştırılmıştır ve 10 mL taze tamamlanmış besi yeri ilave edilerek pelletin dağıtılması ve homojen bir hücre süspansiyonunun oluşturulması sağlanmıştır. Elde edilen hücre süspansiyonu steril 75 cm²’lik filtre kapaklı flasklara alınmıştır. Mikroskop yardımı ile hücrelerinin durumu kontrol edilen flasklar 37°C’deki %5 CO₂ içeren inkübatöre yerleştirilmiştir. Hücrelerin flask yüzeyine tutunması ve çoğalması her gün mikroskop yardımıyla kontrol edilmiştir. Gün aşırı besiyeri değişimi yapılmıştır. Hücre yoğunluğu %70-80 oranına ulaştığında ise hücreler pasajlanmıştır.

Hücrelerin pasajlanması

Flask içerisindeki besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra 6 mL PBS (Phosphate buffer saline; fosfat tampon çözeltisi) ile yıkanmıştır. Flask içerisine 3 mL Tripsin-EDTA çözeltisi ilave edilerek yaklaşık 2 dk süre ile inkübatörde bekletilmiştir. 2 dakikanın sonunda mekanik darbe uygulanarak hücrelerin tutundukları yüzeyden kalkmaları sağlanmıştır. 7 mL taze besiyeri ilave edilen hücreler steril santrifüj tüpüne alınıp 5 dk süre ile 1000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Ardından elde edilen hücre pelleti üzerindeki süpernatant uzaklaştırılıp taze besiyeri ilave edilip hücrelerin homojen olarak dağılması sağlanmıştır. Hücre sayısı hemositometre lamından sayılıp gerekli hesaplamalar yapıldıktan sonra yeni pasajlar için her bir flaska yaklaşık 1×10^6 hücre toplamda 10 mL besiyeri içinde ekilmiştir. Flasklardaki hücrelerin çoğalması amacıyla 37°C sıcaklıktaki %5 CO₂ içeren inkübatöre yerleştirilmiştir.

Hücrelerin 96 kuyucuklu plakalara ekimi

Hücrelerin pasajlanması kısmında detaylı şekilde anlatıldığı gibi flasklardaki hücreler kaldırılıp santrifüj edilip taze besiyerinde süspande edilmiştir. Daha sonra hücreler hemositometre lamında sayılmıştır. Sayılan hücrelerden besiyeri ile gerekli seyreltmeleri yapılarak 100000 hücre/mL konsantrasyonunda 11 mL hücre süspansiyonu hazırlanıp her bir kuyucuğa 100’er µL hücre süspansiyonu olacak şekilde çok kanallı pipet yardımıyla 96 kuyucuklu plakalara hücre ekimi yapılmıştır. Ekim sonrası kapağı kapatılan plakalar 37°C sıcaklıktaki %5 CO₂ içeren inkübatöre yerleştirilmiştir.

Hücrelerin dondurulması

Hücrelerin pasajlanması kısmında detaylı şekilde anlatıldığı gibi flasklardaki hücreler kaldırılıp santrifüj edilip taze besiyerinde süspande edildikten sonra hemositometre lamında sayılmıştır. 1 mL dondurma besiyerinde (%10 dimetil sülfoksit içeren fetal sıgır serumu) 1×10^6 hücre olacak şekilde konsantrasyonlarda hazırlanan hücre süspansiyonları kriyo viallere dağıtılmıştır. Her bir kriyo vial üzerine tarih, dondurma işlemini yapan kişinin adı, hücre hattının adı ve pasaj numarası yazılmıştır. Önce -20°C 2 saat tutulan kriyo vialler daha sonra -80°C 'de saklanmıştır.

Ekstrelerin ve pozitif kontrolün hücrelere uygulanması

Ekstrelere ait stok çözeltiler $100\ \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda DMSO içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır. 96 kuyucuklu plakalara ekimi yapılan hücrelerin kontrolleri ekimin ertesi günü yapılmıştır. Hücrelerin uygun olduğu mikroskop kontrolü aracılığıyla belirlendikten sonra 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25 ve $3,125\ \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda besiyeri ile seyreltilen ekstreler ait stok çözeltiler besiyeri dikkatlice uzaklaştırılan kuyucuklara 100'er μL hacimde eklenmiştir. Negatif kontrol olarak ise ekstre içermeyen taşıyıcı kullanılmıştır. İşlem tamamlandığında kapağı kapatılan plakalar 37°C sıcaklıktaki %5 CO_2 içeren inkübatörde 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Çalışmada deneysel hataları en aza indirebilmek için her test edilecek numuneye ait deneyler en az 3 kuyucukta ve en az 3 bağımsız deneyle tekrar edilerek gerçekleştirilmiştir.

MTT Sitotoksite Testi

1983'te Mossman ve arkadaşları tarafından geliştirilen MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür] yönteminin modifiye edilmiş versiyonu kullanılmıştır (123,124). Bu yöntem canlı hücreler tarafından ortama verilen sarı renkli MTT maddesinin mitokondriyal redüktaz aktivitesiyle mor renkli formazon kristallerine dönüştürülmesi ve oluşan formazon kristallerinin çözündürülmesi ile elde edilen farklı renk şiddetlerindeki çözeltilerin absorbanslarının kolorimetrik olarak $570\ \text{nm}$ 'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır (123). İnkübasyon süresi sonunda her bir kuyucuktaki besiyeri dikkatle uzaklaştırıldıktan sonra %10 oranında MTT çözeltisi ($5\ \text{mg/mL}$; steril PBS içerisinde) içeren besiyeri 100'er μL hacminde kuyucuklara dağıtılmıştır. 4 saat inkübe edilen plakalardaki besiyerleri MTT kristallerine zarar verilmeden dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Her bir kuyucuğa 100'er μL hacminde DMSO eklenip çalkalayıcıda 5

dk süre ile çalkalanarak MTT kristallerinin çözündürülmesi sağlanmıştır. Ardından mikropate okuyucuda 570 nm’de absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir. Negatif kontrol grubundaki canlılık %100 olarak kabul edilerek her bir ekstreye ait her bir konsantrasyonun % canlılığı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

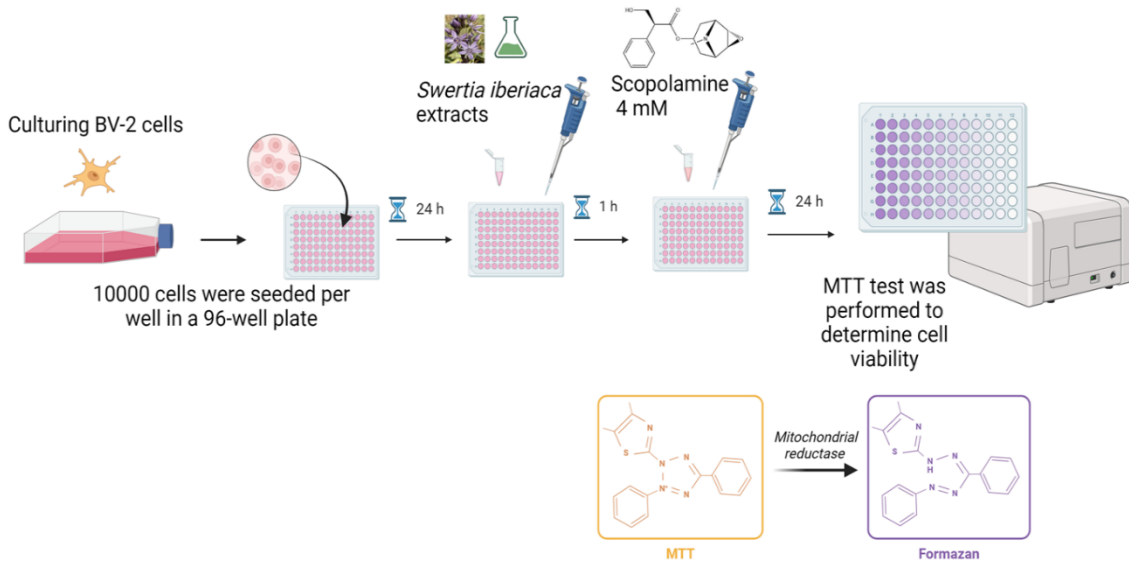
$$\% \text{ Canlılık} = \text{Absorbans numune} / \text{Absorbans negatif kontrol} \times 100$$

Nöroprotektif etki çalışmaları

96 kuyucuklu plakalara 10000 hücre/kuyucuk oranında ekilen hücreler tutunmaları için 1 gün 37°C, %5 CO₂ içeren ortamda inkübe edilmiştir. Ertesi gün ekstre ve fraksiyonlar 50, 25, 12,5 ve 6,25 µg/mL içeren konsantrasyonlarda hücrelere uygulanıp 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin sonunda her bir kuyucuğa son konsantrasyonu 4 mM olacak şekilde skopolamine hidroklorür içeren besiyeri eklenmiş ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Pozitif kontrol olarak 12,5 µg/mL konsantrasyonda sodyum valproat kullanılmıştır. Sürenin sonunda MTT sitotoksosite testi uygulanmıştır (Şekil 1.1).

Şekil 1.1

Nöroprotektif Etki Çalışması (Şekil BioRender.com ile tasarlanmıştır)



İstatistiksel analizler

Tüm deneyler en az üç kez, 3 tekrarlı olarak yapılmıştır ve sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Bağımsız deneylerin Varyans homojenliğini değerlendirmek için Levene testi kullanılmıştır. İki den fazla grup arasındaki karşılaştırmalarda tek yönlü

varyans analizi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için post hoc Tukey testi kullanılmıştır. Veriler GraphPad Prism 8.0.1 yazılım paketi ile değerlendirilmiştir. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir. IC_{50} değerleri aynı yazılımla doğrusal olmayan regresyon analizinden hesaplanmıştır ($n=9$).

3.13 Fitokimyasal Çalışmalar

3.13.1 Kromatografik Yöntemler

Bu çalışmada, *S. iberica* bitkisinin metanol ekstresinin biyoaktif bileşiklerin izolasyonu ve saflaştırılması amacıyla çeşitli kromatografik teknikler sistematik olarak uygulanmıştır. Poliamit kolon kromatografisi ile polar fenolik bileşiklerin ön ayırımı gerçekleştirilmiştir. Silika jel kolon kromatografisi kullanılarak orta polariteye sahip bileşikler fraksiyonlanmıştır. Sephadex LH-20 jel filtrasyon kromatografisi ile molekül ağırlığına göre ayırım yapılmıştır. Ters faz silika jel kolon kromatografisi yöntemiyle apolar bileşiklerin saflaştırılması sağlanmıştır. Elde edilen tüm fraksiyonlar ve saflaştırılan bileşikler, normal faz silika jel ince tabaka kromatografisi (TLC) ile analiz edilmiştir. UV lamba altında 366 ve 254 nm’de floresans özellikleri değerlendirilmiştir. Vanilin sülfürik asit püskürtülen plaklar 100°C’de 1-2 dakika ısıtılarak lekeler belirlenmiştir.

Kolon Hazırlanması: Her kolon kromatografisi yöntemine uygun olarak seçilmiş gerekli miktar adsorban (poliamit, sephadex, silika jel, LiChroprep RP-18) yeterli miktarda mobil faz ile karışım oluşturulur. Uygun boyutlarda cam bir kolon seçilerek, kolonun alt kısmı pamuk ile kapatılır. Hazırlanan karışım kolona aktarılır. Kolondan yeterli miktarda mobil faz geçirilerek kolon şartlanır. Adsorbanın iyice yerleşmesinden sonra numune tatbiki yapılır.

Kolona numune tatbiki: Numune mümkün olan en düşük miktarda uygun çözücünde çözülerek cam pipet yardımıyla adsorbanın yüzeyi bozulmadan kolona tatbik edilmiştir. Kolon musluğu açılarak numune çözeltisinin adsorbana geçmesi sağlanmış, daha sonra adsorban yüzeyine pamuk yerleştirilerek elüsyona başlanmıştır.

Poliamit Kolon Kromatografisi (Poliamit KK)

Poliamit (Polyamide 6, Fluka, 50-160 μ m) adsorbanı kullanılarak hazırlanan kolonun, H₂O: MeOH (100:0→0:100) mobil fazı ile kolon takibi yapılmıştır.

Silika Jel Kolon Kromatografisi (Silika jel KK)

Silika jel (Kieselgel 60, 70-230 mesh, 0.063-0.2 mm, Merc 7734) adsorbanı kullanılarak hazırlanan kolonun, CHCl_3 : MeOH (100:0, 95:5, 90:10), CHCl_3 : MeOH: H_2O (90:10:1, 85:15:1.5, 80:20:2, 75:25:2.5, 70:30:3, 65:35:3.5, 60:40:4, 55:45:4.5, 50:50:5, 0:100:0) mobil fazı ile kolon takibi yapılmıştır.

Sefadeks Kolon Kromatografisi (Jel Filtrasyon) (Sefadeks KK)

Sephadex LH-20 adsorbanı kullanılarak hazırlanan kolonun, MeOH (%100) mobil fazı ile kolon takibi yapılmıştır.

Vakumlu Sıvı Kromatografisi (VSK)

LiChroprep C18 (40-63 mm, Merck) adsorbanı kullanılarak hazırlanan kolonun, H_2O : MeOH (100:0→0:100) mobil fazı ile kolon takibi yapılmıştır.

Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (OBSK, MPLC)

LiChroprep C18 (40-63 μm , Büchi) adsorbanının olduğu hazır kolonun, H_2O : MeOH (100:0→0:100) mobil fazı ile kolon takibi yapılmıştır. Dionex P680 HPLC Pumps marka pompa ve Rheodyne (Loop 2 ml) enjektöre sahip cihazla, akış hızı 15 mL/dk, basınç 5 – 15 bar ayarlanarak 75-80 mL hacminde 100 ml'lik tüplerde fraksiyonlar toplanmıştır.

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Silika jel (Alüminyum tabanlı hazır plak, Kieselgel 60 F254, 0,20mm, Merck, Art. 5554), adsorbanına sahip hazır plaklar, numune tatbiğinden sonra CHCl_3 : MeOH: H_2O (61:32:7, 80:20:2, 90:10:1), CHCl_3 (%100) solvan sistemlerine sahip tanklarda yürütülmüştür. Numune tatbiği; cam kılcal pipet yardımı ile plağın alt ucundan 1 cm yukarısına ve tatbik noktaları arasında en fazla 1 cm olacak şekilde bant veya nokta şeklinde uygulanmıştır. 7-10 cm süreklendirilmiştir.

Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi (Prep-İTK)

Silika jel (60 F254, 0.2 mm) kaplı plaklara, CHCl_3 (%100), MeOH (%100) ile çözünmüş numuneler mikropipet yardımıyla plağın (20×20 cm) alt kenarının 2,5 cm yukarısına plak kenarlarından 1 cm kalacak şekilde ince bant şeklinde uygulanmıştır. Solvan sistemi 100 mL olacak şekilde kromatografi tanklarına konulmuştur. 17-20 cm sürüklemesi sağlanmıştır. UV lambası altında istenen maddeye ait lekeler işaretlendikten sonra maddeye ait plak kısmı küçük parçalar halinde kesilerek ve uygun çözücü içerisinde

çözöldükten sonra süzülmüştür. Bu işlem 3 kere tekrarlanmış ve silikajel tamamen uzaklaştırılmıştır. Süzöüntöler birleştirilip çözücü rotavaporda uzaklaştırılmıştır.

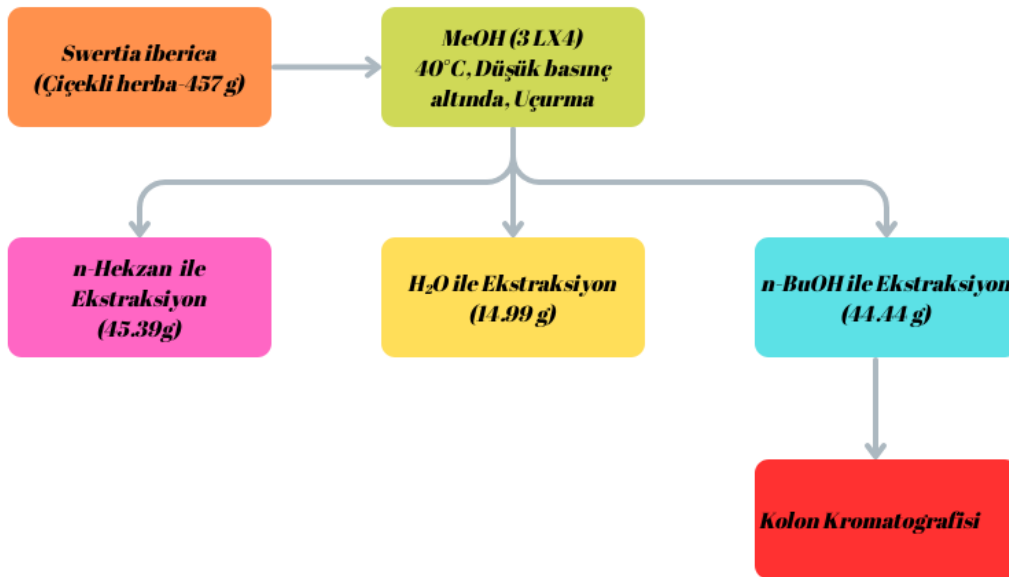
3.13.2 Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları

Saf bileşik izolasyonu için ekstrelerin hazırlanması

S. iberica bitkisinin kurutulmuş toprak üstü kısımları 457 g tartılmış ve 3 L MeOH ile 40 °C sıcaklıktaki su banyosunda; geri çeviren soğutucu eşliğinde ekstre edilmiştir ve bu işlem toplam 4 kez tekrarlanmıştır. Birleştirilen ekstreler rotavaporda düşük sıcaklıkta yoğunlaştırılıp liyofilize edilerek 162.81 g (verim %29.7 g/g) MeOH ekstresi elde edilmiştir. *S. iberica* bitkisinin liyofilize metanol ekstresi 220 mL H₂O ile çözüölüp, 220 mL *n*-hekzan ve *n*-butanol ile ayırma hunisinde sıvı-sıvı ekstraksiyonuna tabi tutulmuş ve ayrılan *n*-BuOH ekstresi (44.44 g), H₂O ekstresi (45.39 g) ve *n*-hekzan ekstresi (14.99 g) uçurularak kromatografik çalışmalara hazır hale gelmiştir (Şekil 2.1).

Şekil 2.1

S. iberica Ait Ekstraksiyon Şeması



S. iberica bitkisinin *n*-BuOH ekstresi üzerindeki izolasyon çalışmaları

39.98 g *S. iberica* *n*-BuOH ekstresi poliamit kolona (250 g) uygulanarak H₂O: MeOH (100:0 → 0:100) solvan sistemi ile fraksiyonlanmış ve 33 ana fraksiyon (Fr. 1- Fr. 33) toplanmıştır. Bu fraksiyonlar üzerinde sürdürölen kromatografik çalışmalar aşağıda ve Şekil 2.2, Şekil 2.3 ve Şekil 2.4’te özetlenmiştir:

PK-1 Fr. 3-5 (10.44 g): Fraksiyon 3-5, VSK (LiChroprep C18, 1000 g) sistemine uygulanmış ve H₂O: MeOH (100:0→0:100) solvan sistemi ile 26 fraksiyon toplanmıştır (Fr. 1-Fr. 26).

VSK-11 Fr. 3-4 (8.06 mg), tekrardan VSK (LiChroprep C18, 800 mg) sistemine uygulanmış ve H₂O: MeOH (100:0→0:100) solvan sistemi ile 155 (25 mL'lik tüpte) ve 35 (erlende) fraksiyon toplanmıştır (Fr. 1-Fr. 155 ve E. 1-E. 35). VSK-53 Fr. 10-17 (1.65 g) ve VSK-69 E. 3 (337 mg) fraksiyonları benzer profillere sahip oldukları için birleştirilip CHCl₃: MeOH: H₂O (100:0:0→50:50:0) solvan sistemi ile şartlanmış silikajel kolona (200 g) uygulanıp toplamda 152 fraksiyon toplanmıştır. Birleştirilen fraksiyonlardan SK-79 Fr. 84-90 (10 mg), Fr. 101-111(10 mg), Fr. 112-118 (10 mg) saf olarak elde edilmiştir.

SK-79 Fr. 65-67 (10 mg), Sephadex LH-20 (1 g) kolonda MeOH ile fraksiyonlanmış ve 16 fraksiyon (Fr. 1-Fr. 16) elde edilmiştir. SPH-101 Fr. 6 (0.5 mg) saf olarak elde edilmiştir.

SK-79 Fr. 142-143 (16 mg), Sephadex LH-20 (1.6 g) kolonda MeOH ile fraksiyonlanmış ve 17 fraksiyon (Fr. 1-Fr. 17) elde edilmiştir. SPH-105 Fr. 11 (3.3 mg) saf olarak elde edilmiştir.

VSK-53 Fr. 22-31 (160 mg) ve VSK-69 E. 6-9 (61 mg) fraksiyonları benzer profillere sahip oldukları için birleştirilip CHCl₃: MeOH: H₂O (95:5:0.5→50:50:0) solvan sistemi ile şartlanmış silikajel kolona (0.22 g) uygulanıp toplamda 77 fraksiyon toplanmıştır. Birleştirilen fraksiyonlardan SK-77 Fr. 24-27 (5.90 mg), Fr. 33-34 (4 mg), Fr. 37-39 (15 mg) saf olarak elde edilmiştir.

VSK-11 Fr. 6-11 (180.5 mg), CHCl₃: MeOH: H₂O (100:0:0→60:40:4) solvan sistemi ile şartlanmış silikajel kolona (18 g) uygulanmış toplamda 117 fraksiyon elde edilmiştir. SK-111 Fr. 37-43 (11 mg) Sephadex LH-20 (1.1 g) kolonda MeOH ile fraksiyonlanmış ve 8 fraksiyon (Fr. 1-Fr. 8) elde edilmiştir. Bu kolondan alınan SPH-142 Fr. 5-8 (9.1 mg) fraksiyonuna preparatif İTK yöntemi uygulanmış ve Per-6 Fr. 4 (1.5 mg) bileşiği saf olarak elde edilmiştir (Şekil 2.2.).

PK-1 Fr. 8-12 (923.1 mg): Silikajel kolonda (92 g), CH₂Cl₂: MeOH: H₂O (100:0:0→70:30:3) solvan sistemi ile 20 fraksiyon (Fr. 1-Fr. 20) elde edilmiştir. SK-25 Fr. 6-7 (88 mg), silikajel kolonda (8.8 g), CH₃Cl: MeOH (95:5→0:100) solvan sistemi ile

17 fraksiyon (Fr. 1-Fr. 17) elde edilmiştir. SK-33 Fr. 8-9 (10 mg), Sephadex LH-20 (1 g) kolonda MeOH ile fraksiyonlanmış ve 24 fraksiyon (Fr. 1-Fr. 24) elde edilmiştir. Bu kolondan alınan tüm fraksiyonlara preparatif İTK yöntemi uygulanmış ve Prep-1 Fr. 2 (1.4 mg) bileşiği saf olarak elde edilmiştir (Şekil 2.3).

PK-1 Fr. 15-17 (1552 mg): OBSK (MPLC) (LiChroprep C18, 155 g) sistemine uygulanarak H₂O: MeOH (100:0→0:100) solvan sistemi ile fraksiyonlanmış 179 fraksiyon elde edilmiştir. MPLC-1 Fr. 23-25 (11.9 mg) Sephadex LH-20 (11.9 g) kolonda MeOH ile fraksiyonlanmış ve 14 fraksiyon (Fr. 1-Fr. 14) elde edilmiştir. Bu kolondan alınan tüm fraksiyonlara preparatif İTK yöntemi uygulanmış ve Prep-7 Fr. 3 (1.9 mg) ve Prep-7 Fr. 7 (2 mg) bileşiği saf olarak elde edilmiştir.

MPLC-1 Fr. 62-71 (90 mg) fraksiyonu preparatif İTK plağına tatbik edilmiş Prep-3 Fr. 1 (1.9 mg), Prep-3 Fr. 2 (9.3 mg), Prep-3 Fr. 3 (2.5 mg), Prep-3 Fr. 4 (1.4 mg) bileşikleri saf olarak elde edilmiştir.

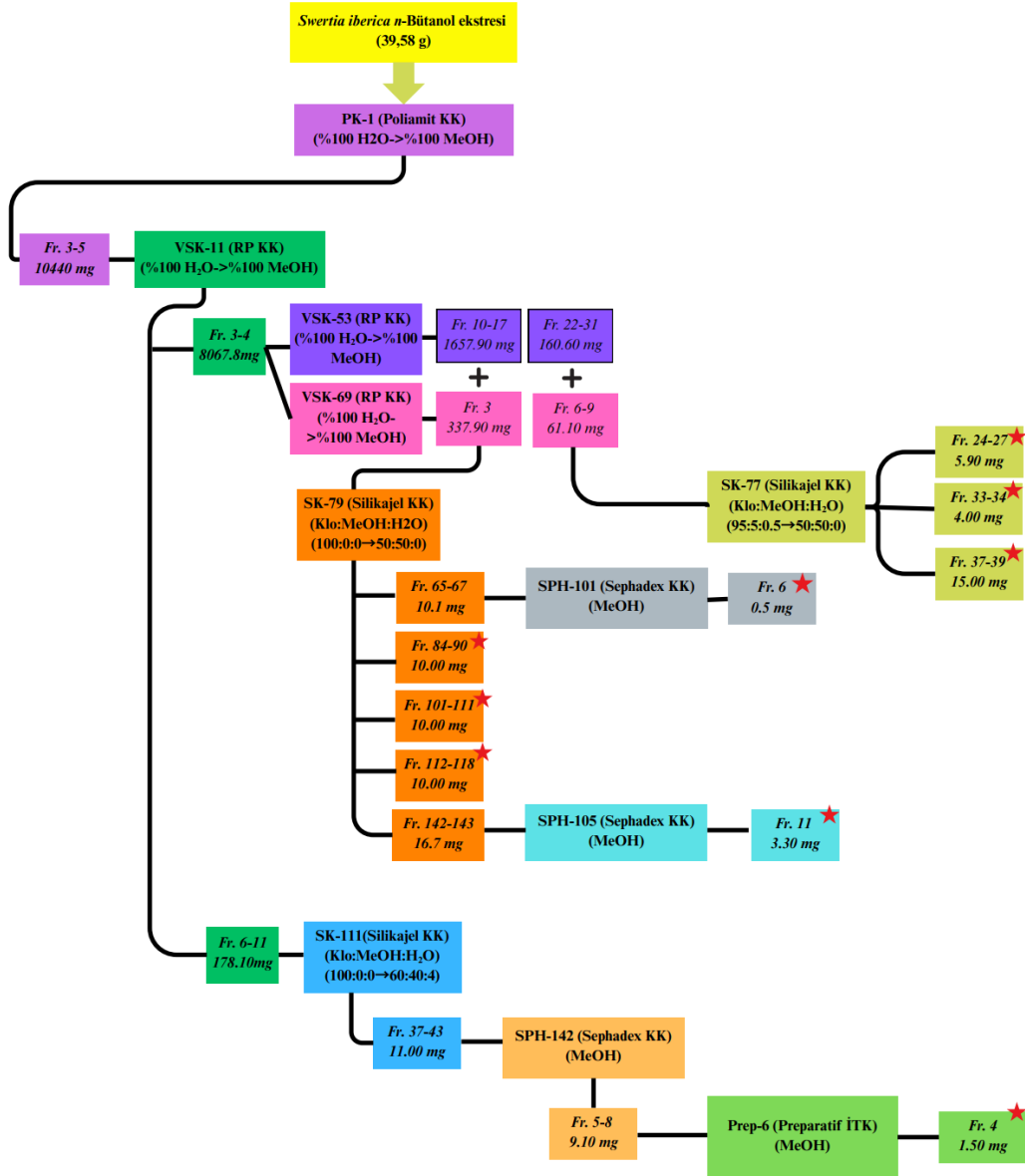
MPLC-1 Fr. 72-73 (20.3 mg) fraksiyonu preparatif İTK plağına tatbik edilmiş Prep-4 Fr. 1 (1.1 mg), Prep-4 Fr. 2 (1.7 mg), Prep-4 Fr. 3 (1.4 mg), Prep-4 Fr. 4 (1.9 mg) bileşikleri saf olarak elde edilmiştir.

MPLC-1 Fr. 81-83 (24.2 mg) fraksiyonu preparatif İTK plağına tatbik edilmiş Prep-5 Fr. 2 (1.3 mg), Prep-5 Fr. 3 (1.8 mg), Prep-5 Fr. 4 (2.5 mg) bileşikleri saf olarak elde edilmiştir (Şekil 2.4).

Şekil 2.2

S. iberica n-Butanol Ekstresinde PK-1 Fr. 3-5 Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

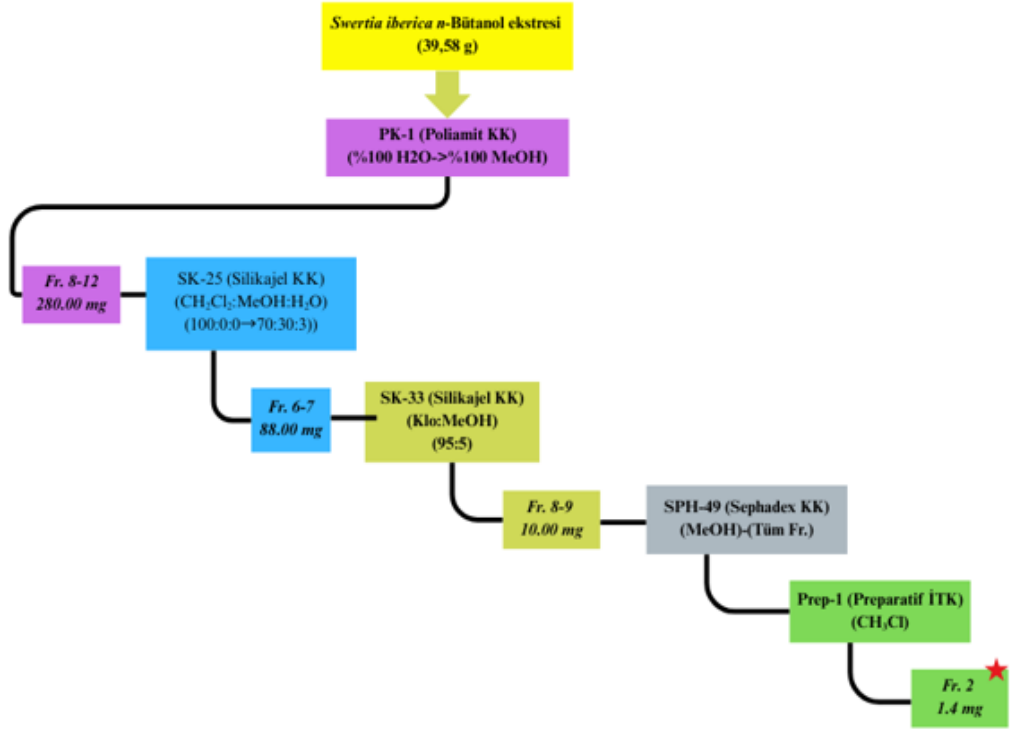
*İzolasyon şemasının okunabilirliği açısından, madde izolasyonu ile sonuçlanmayan fraksiyonlar şemaya dahil edilmemiştir.



Şekil 2.3

S. iberica n-Butanol Ekstresinde PK-1 Fr. 8-12 Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

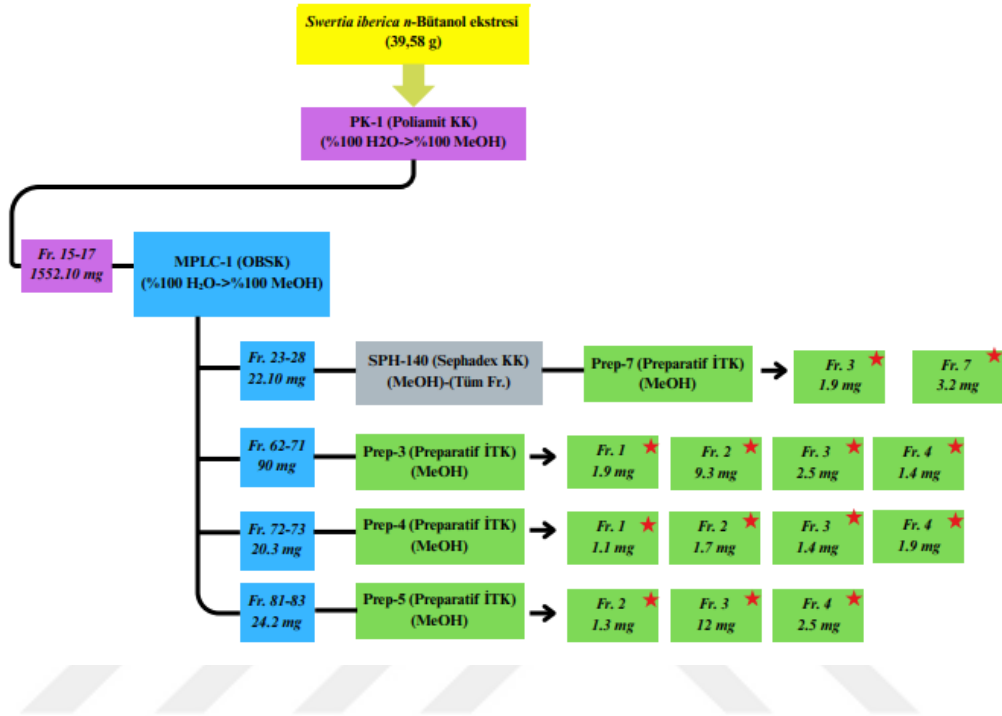
*İzolasyon şemasının okunabilirliği açısından, madde izolasyonu ile sonuçlanmayan fraksiyonlar şemaya dahil edilmemiştir.



Şekil 2.4

S. iberica n-Butanol Ekstresinde PK-1 Fr. 15-17 Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

*İzolasyon şemasının okunabilirliği açısından, madde izolasyonu ile sonuçlanmayan fraksiyonlar şemaya dahil edilmemiştir.



3.13.3 Ekstrelerin Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi (UPLC)/Quadrupole-Time of Flight (Q-TOF) Kütle Spektrometresi ile Analizler

Bitki örneklerinden elde edilen ekstraller, son konsantrasyonu 10 µg/mL olacak şekilde hazırlanmış ve %50 su – %50 metanol (v/v) karışımı içerisinde çözülerek analiz vial'lerine aktarılmıştır. Tüm çözücü ve çözeltiler, LC/MS-grade kalitesinde veya daha yüksek saflıkta seçilmiştir. Analizlerde enjeksiyon hacmi 2 µL olarak belirlenmiştir.

Kromatografik ayırım, Agilent 1260 serisi Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi (UPLC) sistemi ile gerçekleştirilmiş; dedeksiyon ise Agilent 6530 Quadrupole-Time of Flight (Q-TOF) kütle spektrometresi kullanılarak yapılmıştır. Ayırma işlemleri, 10 cm uzunluk, 1.7 mm iç çap ve 2.5 µm partikül boyutuna sahip ters faz C18 kolonu (Waters Co.) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak %0.1 formik asit içeren ultra saf su (faz A) ve %0.1 formik asit içeren LC/MS-grade asetronitril (faz B) kullanılmıştır. Akış hızı 0.3 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Kütle spektrometresi, MS1 tarama modunda, 100–1200 m/z aralığında ve negatif iyonizasyon modunda çalıştırılmıştır.

Gradient elüsyon programı aşağıdaki şekilde uygulanmıştır:

- 0–1 dakika: %5 B (başlangıç dengeleme)
- 1–10 dakika: %5’ten %95 B’ye lineer artış
- 10–11 dakika: %95 B (kolon yıkama)
- 11–11.5 dakika: %5 B’ye hızlı dönüş
- 11.5–14 dakika: %5 B (yeniden dengeleme)

Cihazdan elde edilen ham veriler “.d” formatında kaydedilmiş ve istatistiksel analizlerde kullanılmak üzere “ProteoWizard” yazılımı ile “.mzXML” formatına dönüştürülmüştür. Pik tespiti, hizalama ve karşılaştırma işlemleri “MZmine 2.54” yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Rastgele teknik varyasyonlardan kaynaklanabilecek hataların etkisini azaltmak amacıyla, düşük güvenilirlikteki pikler filtrelenmiş ve tüm örneklerdeki sinyal alanları toplam sinyal yoğunluğuna göre normalize edilmiştir. Pik tanımlama ve metabolit anotasyonu işlemleri “MetaboAnalyst 5.0” platformu üzerinden yürütülmüş; bu platform aynı zamanda istatistiksel analizler ve biyolojik yolak değerlendirmelerinde kullanılmıştır.

4 BULGULAR

4.1 Morfolojik Bulgular

4.1.1 *S. iberica* Fischer ex C. A. Mey.

Beitr. Pfl Russ. Reichs 6:61 (1849).

Sinonim: *S. stigmantha* C. Koch in Linnaea 23:586 (1850); *S. balansae* Boiss., Fl. Or. 4: 78 (1875); *S. punctata* sensu Boiss., loc. cit. (1875) non Baumg. (1816); *S. caerulea* Hausskn., ms. (1890) non Royle (1836); *S. haussknechtii* Gilg ex Pissjauk. In Not. Syst. (Leningrad) 1964:276 (1964)! Map 18, p. 191.

Çok yıllık, otsu. Bitki boyu 32-99 cm aralığındadır. **Gövde** sert, kalın, basit, dik. Bazı örneklerde koyu mor renklenme ve belirgin çizgiler yer almaktadır. **Rozet yapraklar** 4-20 x 2.5-11.5 cm, eliptik-ovat, lamina kenarı düz, lamina tepesi mukronat (aniden daralan küçük çıkıntılı), lamina tabanı aniden daralan akut . Petiyol (yaprak sapı) 2-16 cm. Yaprak alt ve üst yüzeyinde orta damara yakın yerde çok seyrek basit, beyaz örtü tüyleri vardır. **Gövde yaprakları** eliptik, lamina tepesi mukronat-akut, kenarı düz, tabanı akut. Gövdenin alt kısmındaki yapraklar petiyole sahipken üstte kalan yaprakların sesil (sapsız) ve gövdeye dekurvent olarak bağlandığı gözlenir. Yapraklar genellikle alternan (almaşık) nadiren opposit (karşılıklı). Yaprakların alt ve üst yüzeyinde çok seyrek basit, beyaz örtü tüyleri mevcuttur. **İnfloresans (Çiçek durumu)** rasemus. Ana gövde büyümeye devam eder, gövde tepesinde pediselli (çiçek sapı) çiçek bulunmaktadır. Lateral (yan) eksenler alternan dizilmiştir. Bu eksenlerdeki çiçekler opposit olarak dizilmiştir. Tepe noktalarında siyah mukrolar olan sesil brakte ve brakteoller mevcuttur. Brakteler gövde yaprağına benzer, brakteol lanseolat şeklindedir. **Çiçekler** çoğunlukla 5 parçalı, nadiren 4 parçalı. Çiçekler mavi-mor. **Korolla** loplari tabana kadar parçalanmış 5 petalli. Petal tabanında, çok sayıda fimbriat taşıyan (saçak) 2 nektaryum var. Petal yüzeyinde koyu mavi-mor renkte belirgin veinler (damar, çizgi) mevcuttur. Petaller; 9-14 mm, eliptik-ovat, uçları akut kıvrılmış. **Kaliks** tabana kadar parçalanmış, serbet 5 sepalli. Sepaller; 4-8 mm, linear-lanseolat. 5 **stamene** sahip türün anterleri sagitat ve anterler bazifiks (filament anterin tabanından bağlanmıştır). **Stigma** 2 loplu, sesil. **Kapsül** 2 valvli (kapaklı), septisit kapsül, tek lokullü (unilocular-tek gözlü) eliptik. Çok sayıda, küçük, farklı şekillerde tohumlar içerir. Tohum renginin kahverengi, kahverengi-siyah olduğu görülmüştür.

Çiçeklenme zamanı temmuz-ağustos. **Habitat** ormanlık alanda-*Alnus glutinosa*, *Picea orientalis* ağaç altlarında-*Rhododendron* altlarında, sulak, nemli alanlarda, dere kenarlarında ve kayalık diplerinde yetişir. 1600-2700 m de subalpin kuşakta yayılış gösterir (Görsel 4.1).

Görsel 4.1

S. iberica Örneğinin Doğal Yayılış Alanı ve Genel Görünüşü



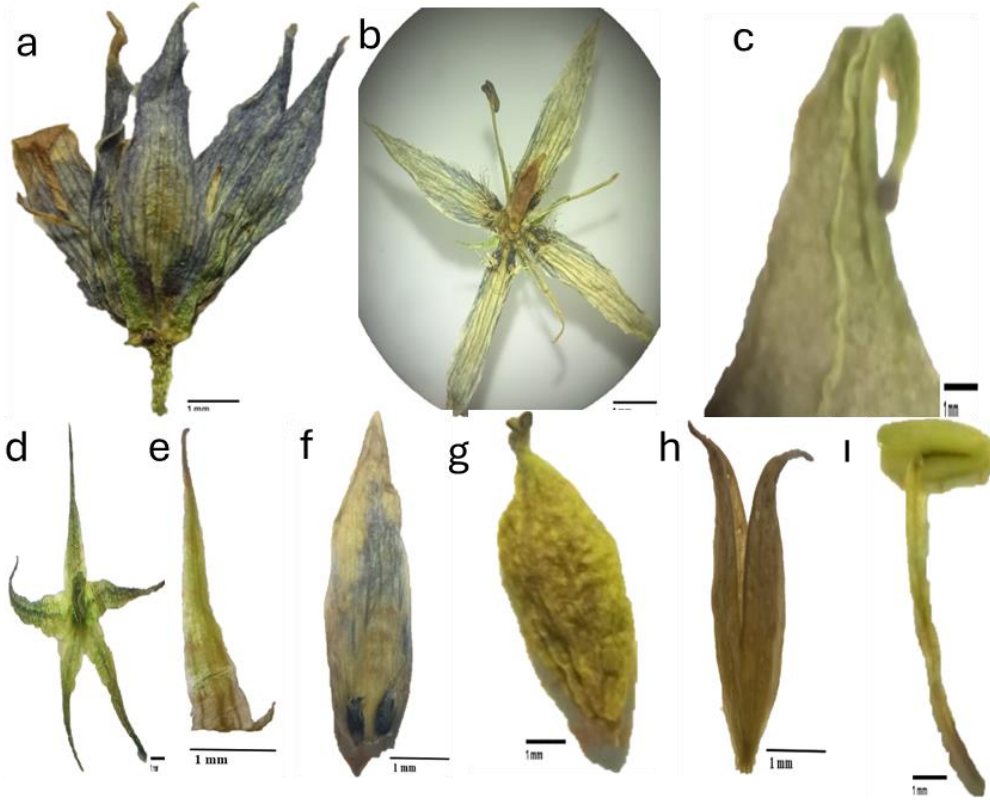
Görsel 4.2

S. iberica Örneğinin Çiçek Durumu ve Tek Çiçeği



Görsel 4.3

S. iberica’nın Çiçeğinin Stereo Mikroskopta Görünümü



*a:5 parçalı çiçek, b: 4 parçalı çiçek c: brakte d: kaliks, e: sepal, f: petal g: stigma, h: kapsül, i: stamen

4.1.2 *S. longifolia* Boiss.

S. longifolia Boiss., Diagn. ser. 1(5):90 (1844).

Sinonim: *S. auclwri* Boiss., loc. cit. (1844); *S. persica* Griseb. in DC, Prodr. 9: 132 (1845). Ic: Jaubert & Spach. III. PL Or. 3: t. 235 (1848). Map 18, p. 191.

Çok yıllık, otsu. Bitki boyu 31-76 cm arasındadır. **Gövde** sert, kalın, basit, dik. Gövde ve taban yaprakları mevcuttur. **Rozet yapraklar** 5.5-14 x 1-2.5 cm, oblanceolat-spatulat, lamina tepesi akut, kenarı düz, tabanı petiyole doğru daralan atenuat. Petiyol 4-9 cm. **Gövde yaprakları** linear-eliptik, kenarları düz, tepesi akut, tabanı akut, opposit, sesil, dekurrent. **İnfloresans** rasemus. Çiçekler farklı nodlarda kümelenmiş şekilde bulunur. Sesil brakte ve brakreolli vardır. Brakte ve brakreolli gövde yaprağına benzer. **Çiçekler** 4 parçalı, beyazımsı-sarı renkte. **Korolla** lopları tabana kadar parçalanmış 4 petalli. Petal tabanına yakın, çok sayıda fimbriatlara sahip 1 nektaryum vardır. Petal yüzeyinde belirgin saydam renkli çizgiler vardır. Petaller 9-14 mm, eliptik-ovat, uçları akut, kıvrılmış. **Kaliks** tabana kadar parçalanmış, serbest, 4 sepalli. Sepal 5-10 mm, lanseolat. **Stigma** 2 loblu, sesil. **Stamenler** sagitlat, anterler bazifiks. 4 stamen mevcuttur. **Kapsül** 2 valvli, tek lokullü, eliptik. Çok sayıda, küçük, farklı şekillerde tohumlar içerir. Tohum renginin kahverengi, kahverengi-siyah.

Çiçeklenme zamanı temmuz-eylül. **Habitat** kayalık dipleri, dere kenarları, sulak çayırarda, 1750-32907 m yayılış gösterir.

Görsel 4.4

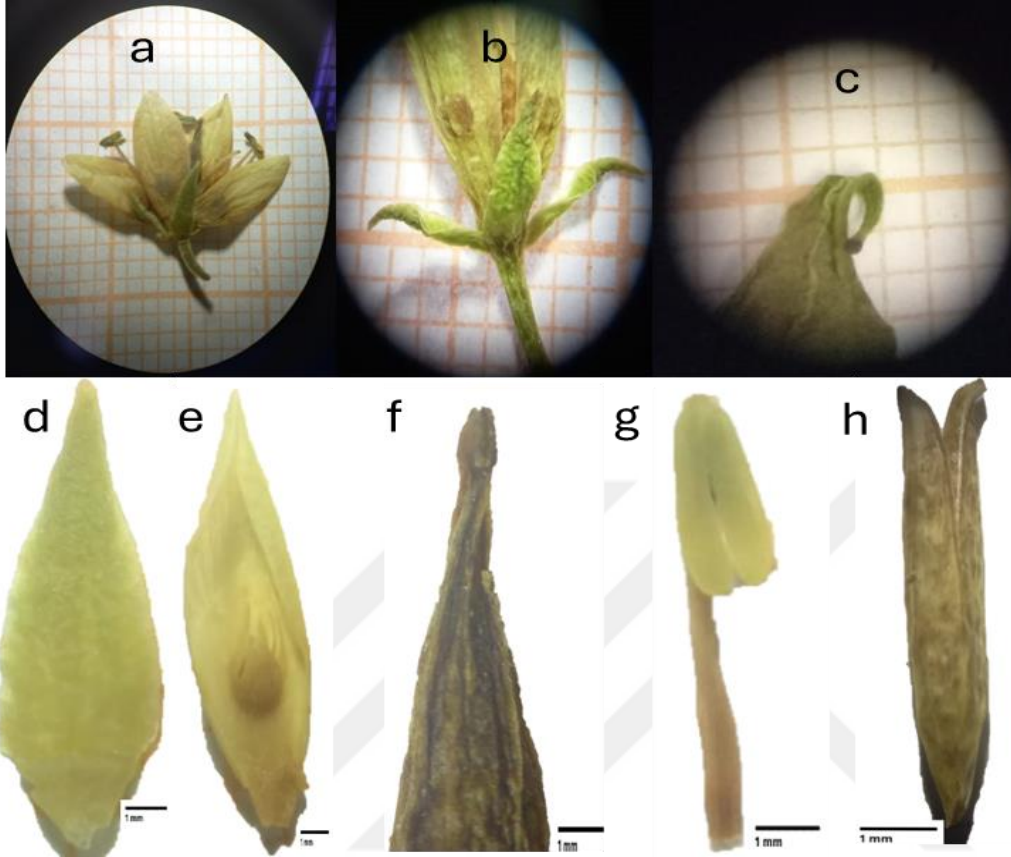
S. longifolia Örneğinin Doğal Yayılış Alanı ve Genel Görünüşü *



*a: Genel Görünüş, b: Çiçek Durumu, c: Çiçek Halkası

Görsel 4.5

S. longifolia'nın Çiçeğinin Stereo Mikroskopta Görünümü



*a: 4 parçalı çiçek, b: kaliks, c: brakte, d: sepal, e: petal, f: stigma, g: stamen, h: kapsül

4.2 Mikromorfolojik Bulgular

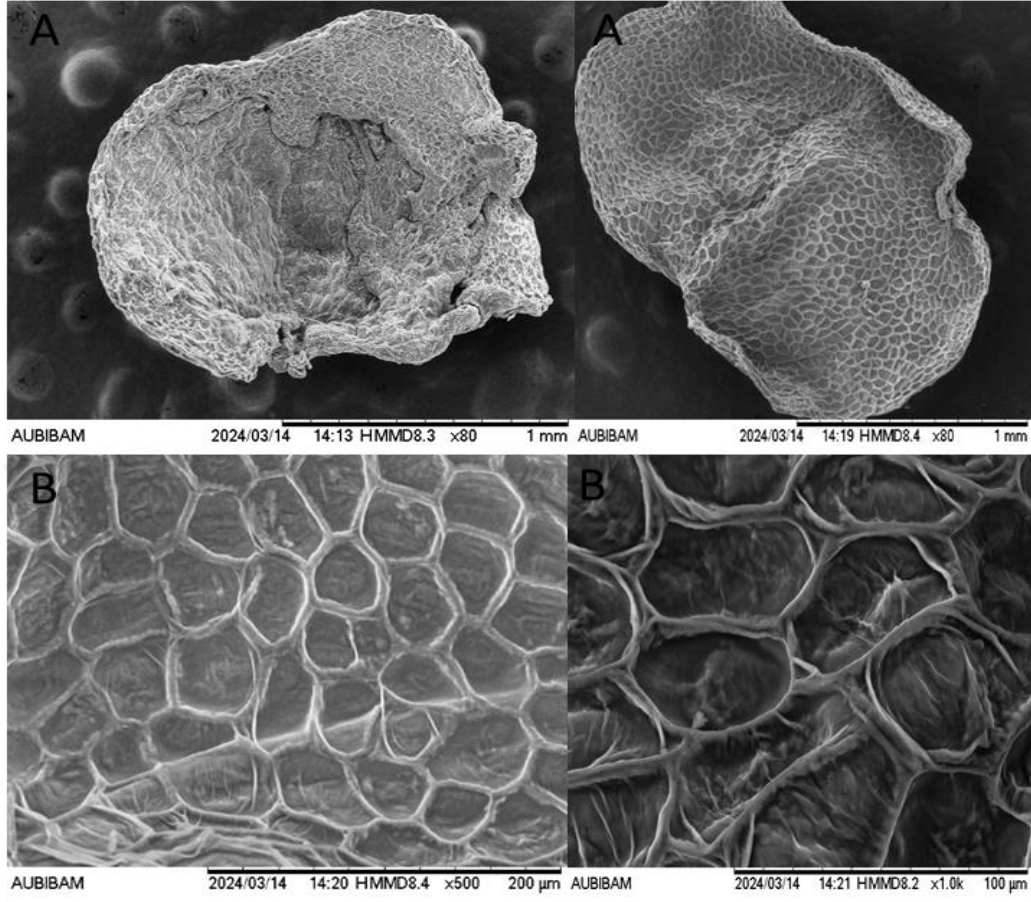
4.2.1 *S. iberica* ait Mikromorfolojik Bulgular:

4.2.1.1 Tohum

Tohum yüzey ornamentasyonları retikulat (ağsı)-alveolat. (Alveolat, petek gibi çukurlu; foveolata benzer, ancak çukurluklar yuvarlak olmaktan ziyade açılıdır) *S. iberica* tohumları şekil ve boyut olarak geniş çeşitlilik gösterir. Tohumların şekilleri küresel, elipsoidal, dikdörtgensel ve yanal olarak genişlemiş olarak çeşitlilik gösterdiği gözlenmiştir (Görsel 5.1).

Görsel 5.1

S. iberica Tohum SEM Görüntüleri



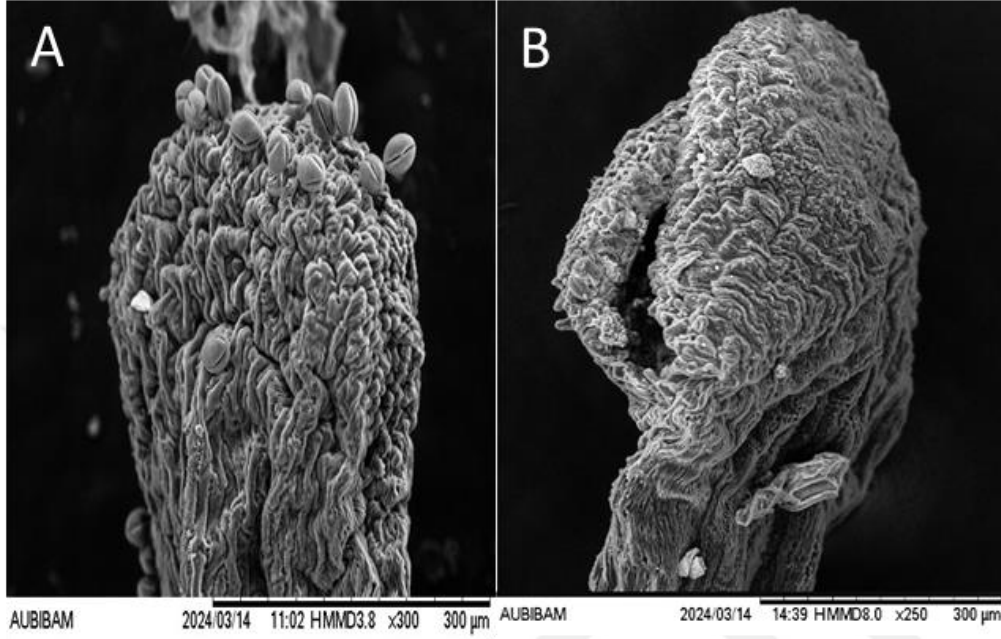
*A: Genel görünüm B: Tohum yüzey ornamentasyonu

4.2.1.2 Stigma

Stigma 2 loplu, sessildir.

Görsel 5.2

S. iberica Stigma SEM Görüntüsü



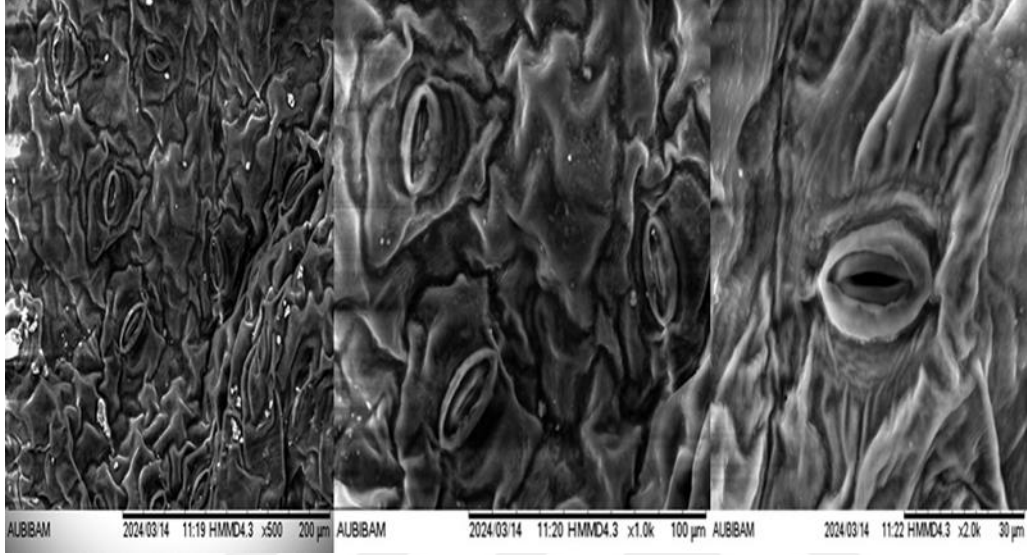
* A: Stigma yüzeyinde bulunan polenler ile genel görünüm B:2 loplu stigma görüntüsü

4.2.1.3 Stoma

Stoma anizositik tipte görülmektedir.

Görsel 5.3

S. iberica Ait Yapraktaki Stomaların SEM Görüntüsü

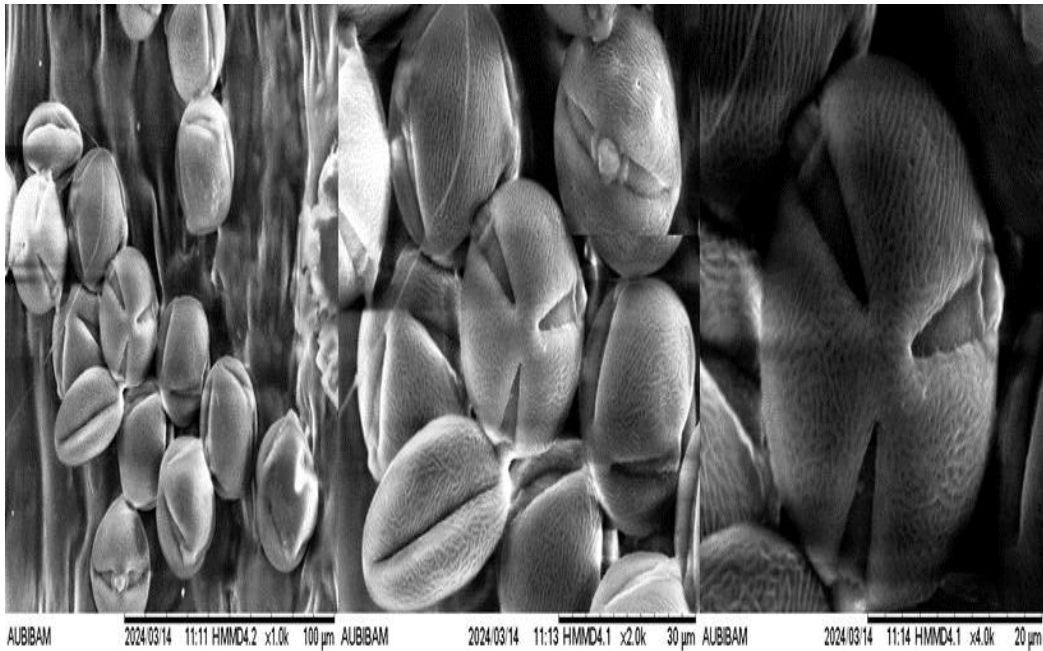


4.2.1.4 Polen

Polen monad (polenler tek tek yayılır) ve trikolporattır. Polen yüzey ornamentasyonu (striat) çizgili, (retikulat) ağsıdır.

Görsel 5.4

S. iberica 'nın Anter Üzerindeki Polenleri

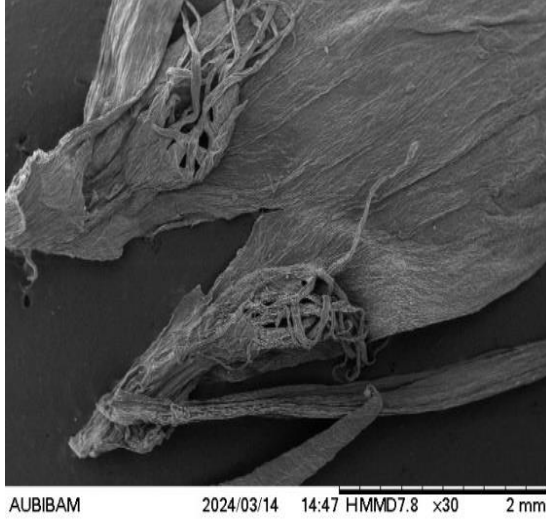


4.2.1.5 Nektaryum

Nektaryum petal tabanında, fimbriatlı ve 2 adettir.

Görsel 5.5

S. iberica Nektaryumları

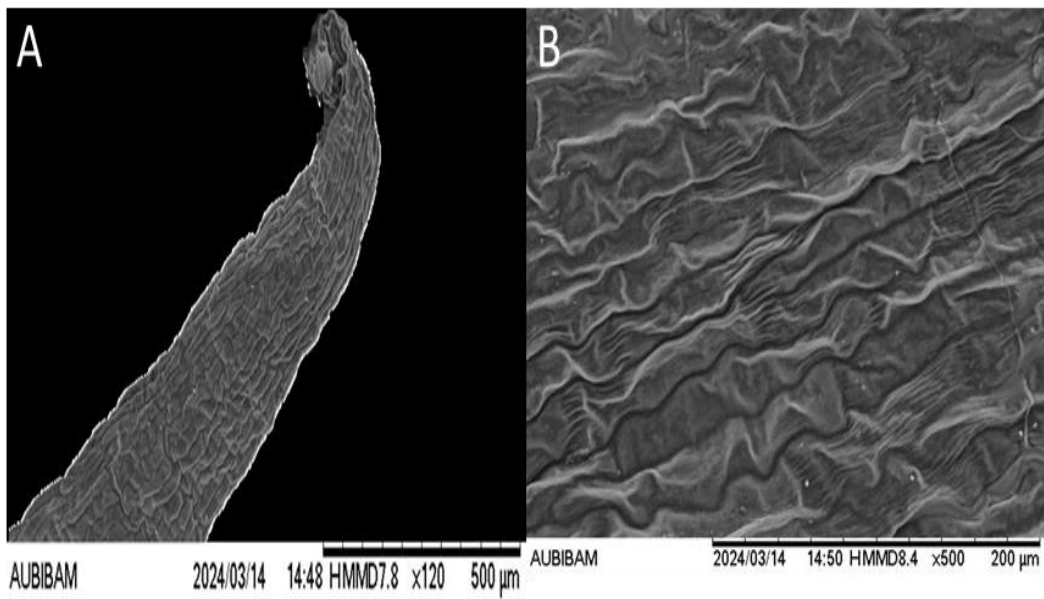


4.2.1.6 Sepal

Sepal 4-8 mm, linear-lanseolat şekildedir.

Görsel 5.6

S. iberica Sepal SEM Görüntüsü



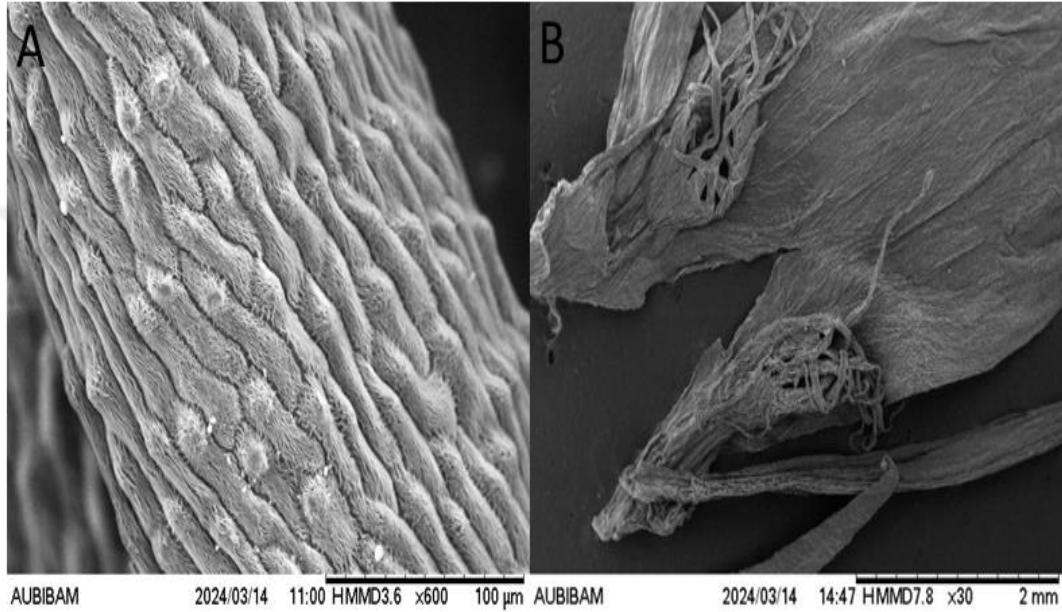
*A: Sepal B: Sepal yüzeyi

4.2.1.7 Petal

Petal tabanında, çok sayıda fimbriat taşıyan (saçak) 2 nektaryum vardır. Petal yüzeyinde koyu mavi-mor renkte belirgin veinler (damar, çizgi) mevcuttur. 9-14 mm, eliptik-ovat, uçları akut kıvrılmış şekildedir.

Görsel 5.7

S. iberica Petal SEM Görüntüsü



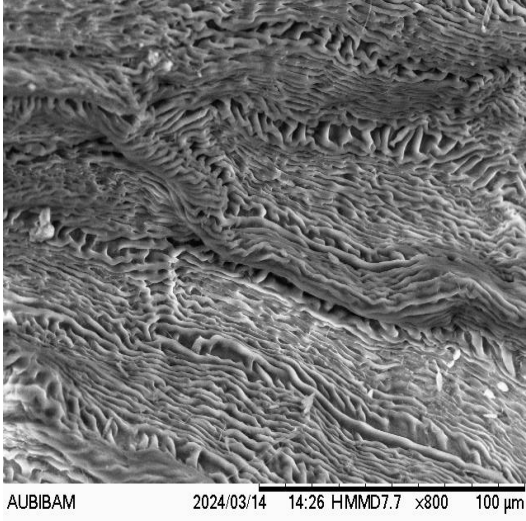
*A: Petal yüzeyi B: Petal tabanındaki nektaryumlar

4.2.1.8 Kapsül

Kapsül eliptik, 7-13 mm, 2 valvli (kapaklı), septisit kapsül, tek lokullü (unilokuler-tek gözlü). Çok sayıda, küçük, farklı şekillerde tohumlar içerir. Kapsül yüzey ornamentasyonu retikulat-striattır.

Görsel 5.8

S. iberica Kapsül Yüzeyi Sem Görüntüsü



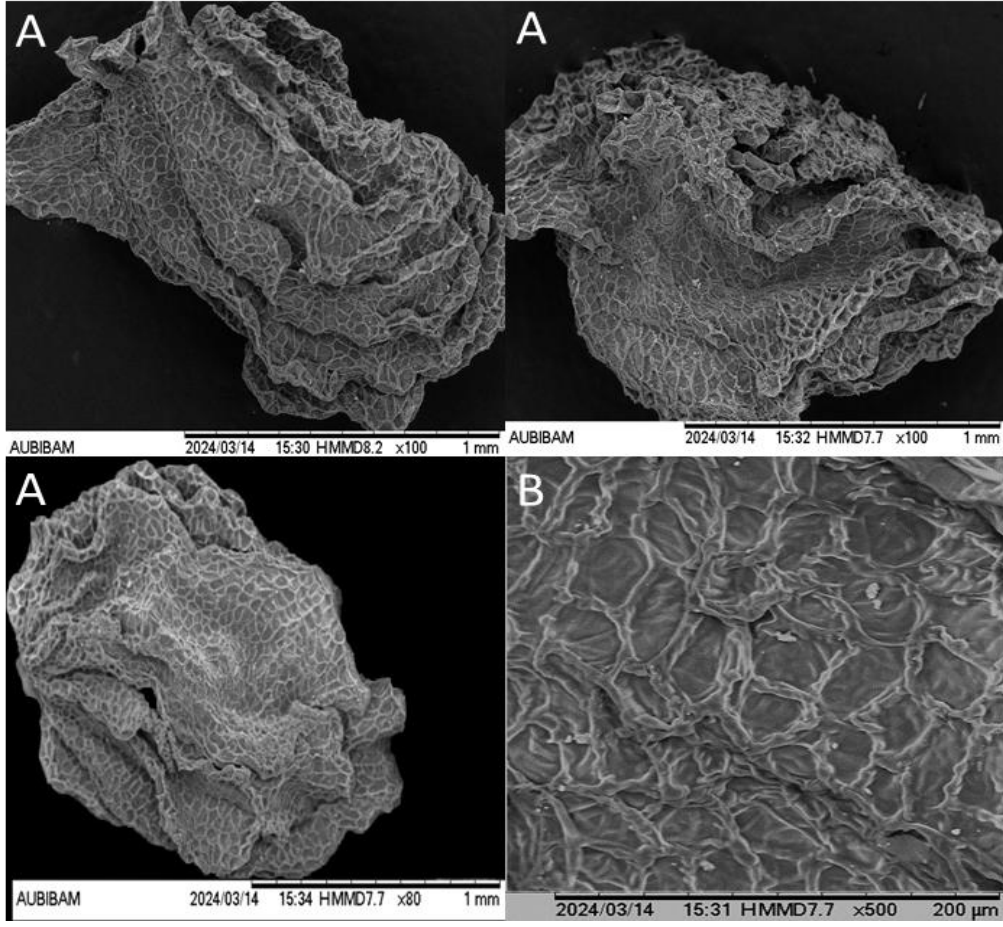
4.2.2 *S. longifolia* ait Mikromorfolojik Bulgular

4.2.2.1 Tohum

Tohum yüzey ornamentasyonları retikulat (ağsı)-alveolattır. *S. longifolia* tohumları şekil ve boyut olarak geniş çeşitlilik gösterir. Tohumların şekilleri küresel, elipsoidal, dikdörtgensel ve yanal olarak genişlemiş olarak çeşitlilik gösterdiği gözlenmiştir.

Görsel 6.1

S. longifolia Tohum SEM Görüntüleri



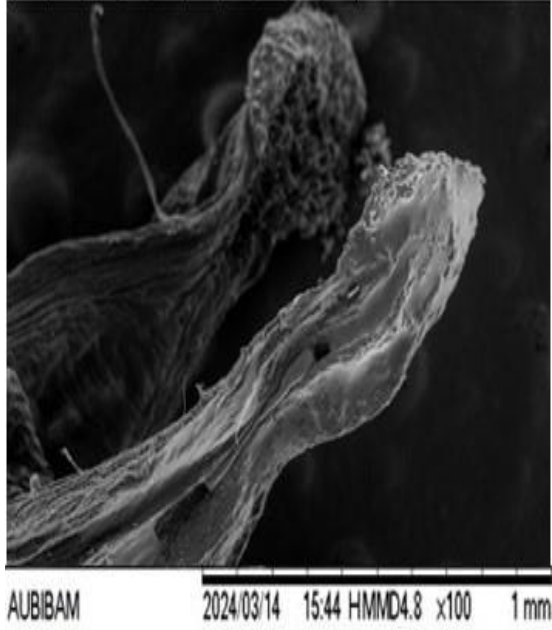
*A: Genel görünüm B: Tohum yüzey ornamentasyonu

4.2.2.2 Stigma

Stigma 2 loplu, sesildir.

Görsel 6.2

S. longifolia Stigma SEM Görüntüsü

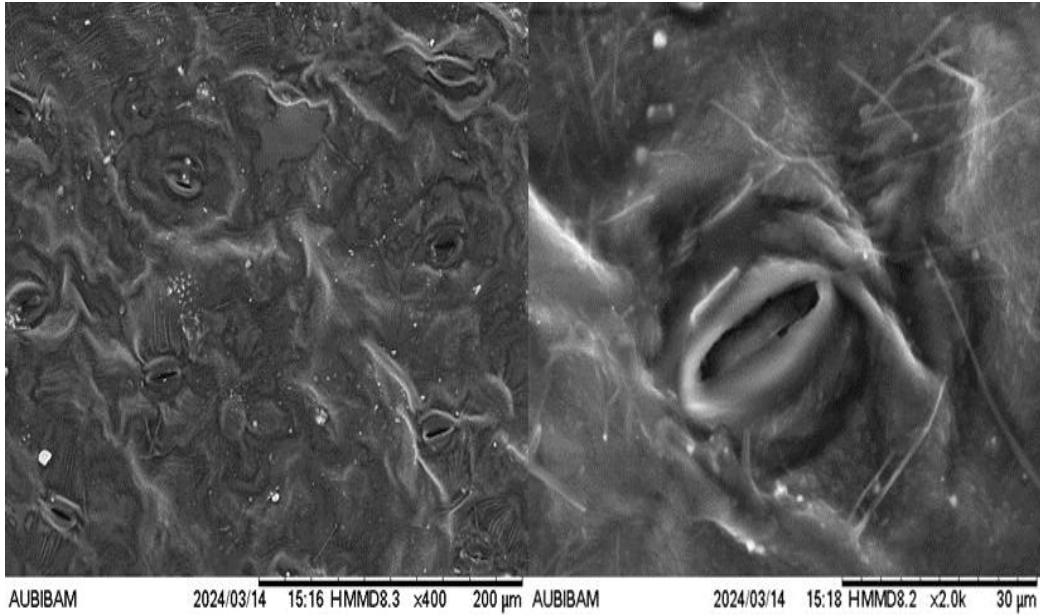


4.2.2.3 Stoma

Stoma anizositik tipte görülmektedir.

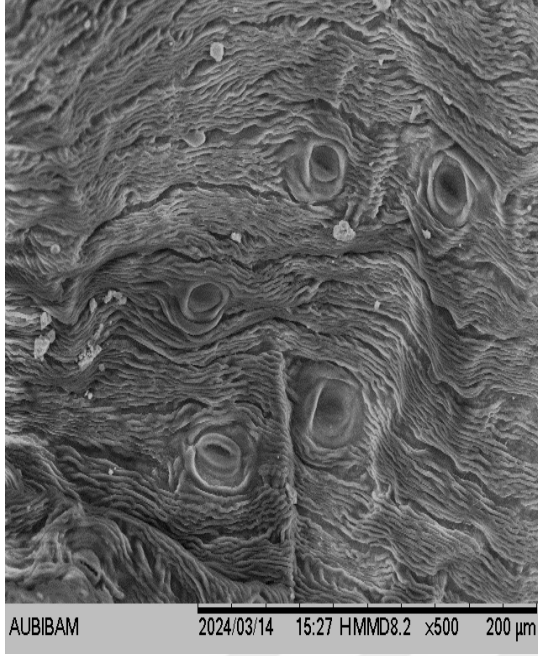
Görsel 6.3

S. longifolia Yaprığında Yer Alan Stoma



Görsel 6.4

S. longifolia Sepalinde Görülen Stomalar

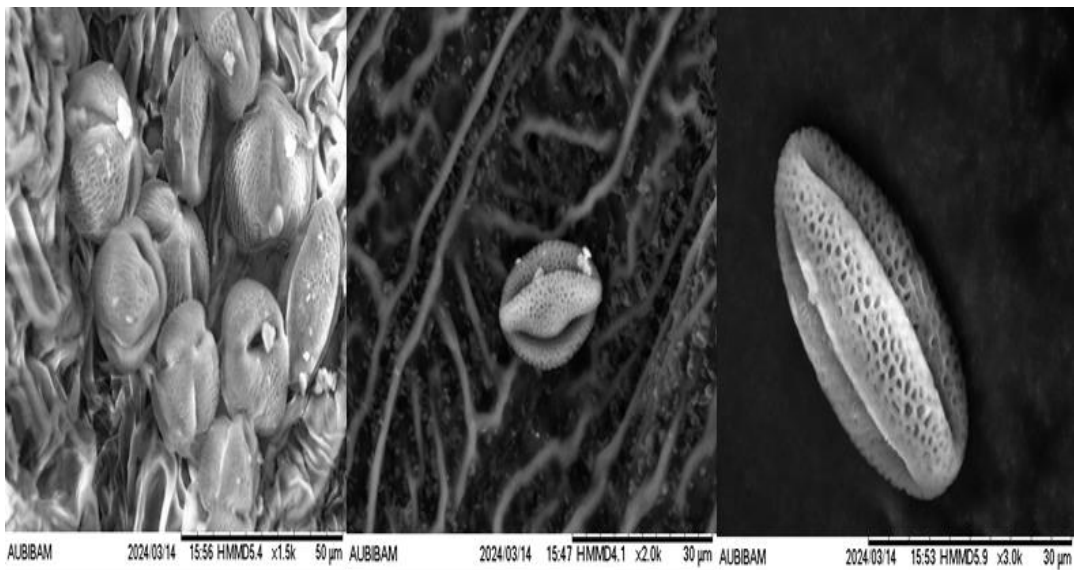


4.2.2.4 Polen

Polen monad ve trikolporattır. Polen yüzey ornamentasyonu heterobrokat (heterobrochate); farklı boyutta lümenlere sahip retikulat polen duvarı vardır.

Görsel 6.5

S. longifolia Ait Polen



4.2.2.5 Nektaryum

Nektaryum petal tabanına yakın mesafede, fibriatlı, 1 adet.

Görsel 6.6

S. longifolia Nektaryumu SEM Görüntüsü

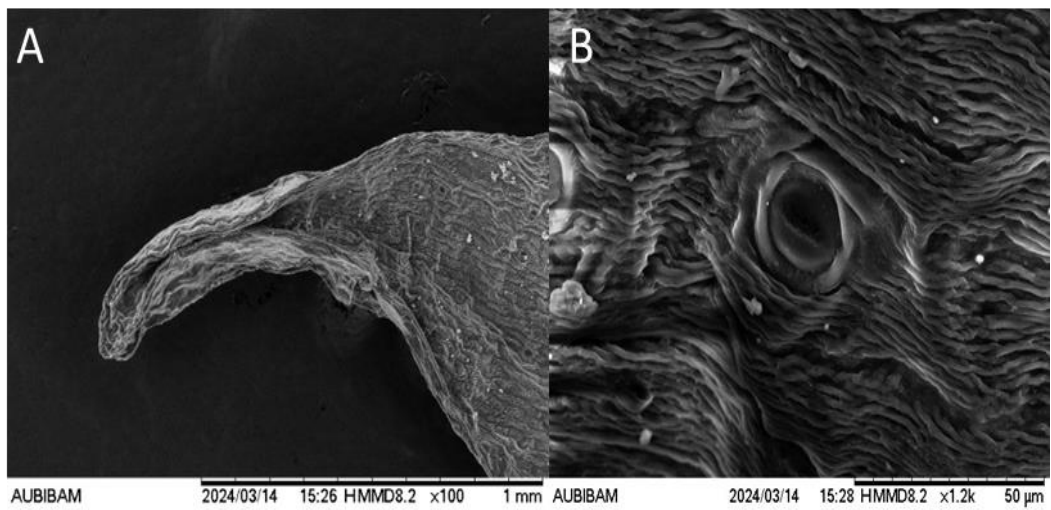


4.2.2.6 Sepal

Sepal 5-10 mm, lanseolat, tepesi akuttur.

Görsel 6.7

S. longifolia Sepal SEM Görüntüsü



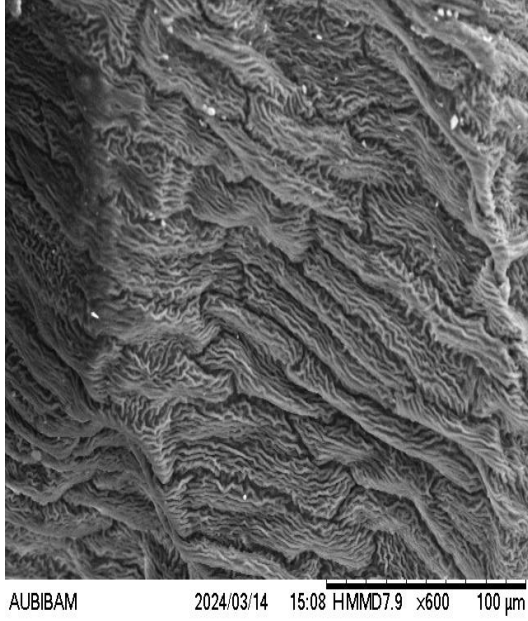
*A: Sepal B: Sepal yüzeyi

4.2.2.7 Petal

Petal 9-14 mm, eliptik-ovat, uçları akut, kıvrılmış. Petal tabanına yakın, çok sayıda fimbriatlara sahip 1 nektaryum vardır. Petal yüzeyinde belirgin saydam renkli çizgiler (vein) vardır.

Görsel 6.8

S. longifolia Petal Yüzeyi SEM Görüntüsü

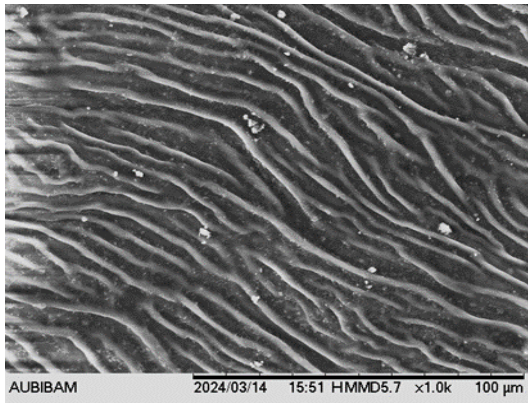


4.2.2.8 Kapsül

Kapsül 9-15 mm, eliptik, 2 valvli (kapaklı), tek lokullü (unilokular-tek gözlü). Çok sayıda, küçük, farklı şekillerde tohumlar içerir. Kapsül yüzeyi ornamentasyonu striat (çizgili).

Görsel 6.9

S. longifolia Kapsül Yüzeyi SEM Görüntüsü



4.3 Anatmik Bulgular

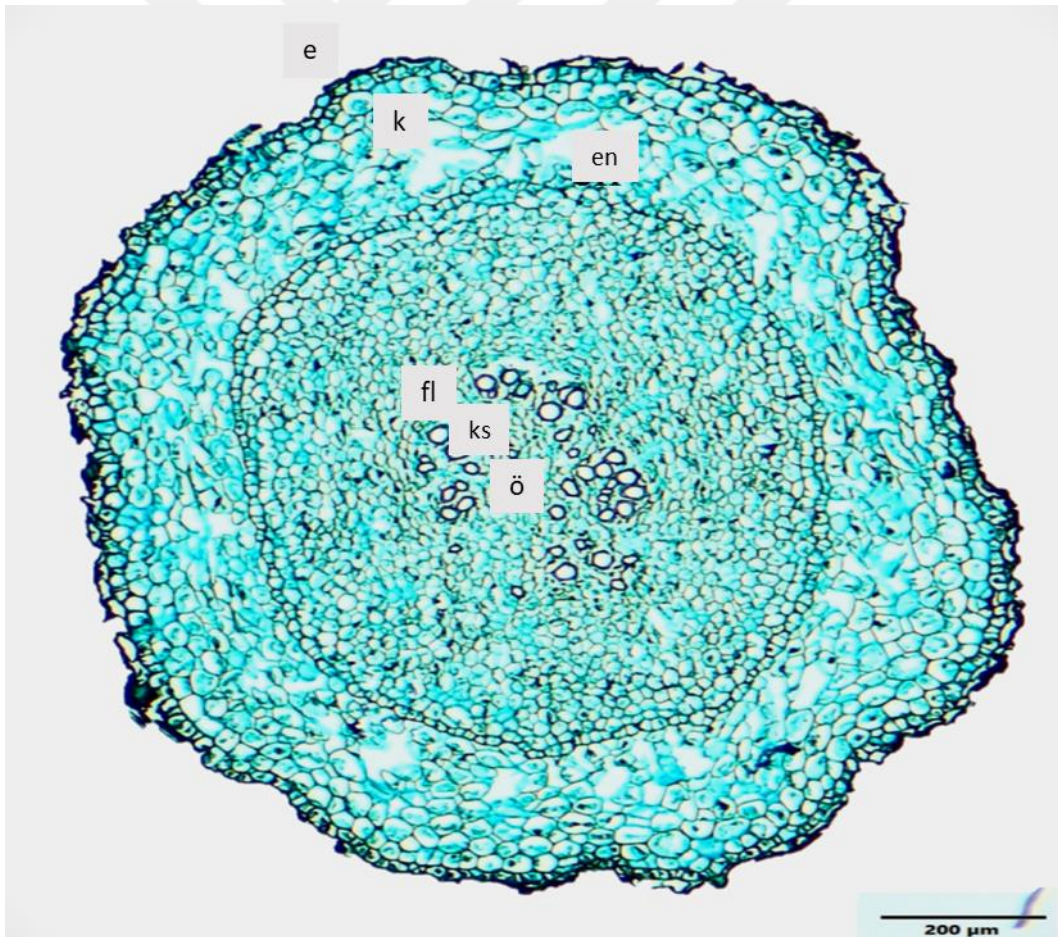
4.3.1 *S. iberica*

4.3.1.1 Kök

Kökte en dışta yer yer parçalanmış, 1-2 sıralı, düzensiz şekilli hücrelerden oluşan epidermis tabakası görülür. Epidermisten sonra gelen korteks tabakası 4-8 sıralı büyük, oval, ince çeperli, yer yer boşluklu ve nişasta taneleri taşıyan parankimatik hücrelerden oluşur. Endodermis; tek sıralı, büyüklü küçüklü, boyuna çeperleri uzamış hücrelerden oluşur. Endodermis tabakası altında tek sıralı periskıl tabakası yer yer kesintili olarak gözlenir. Merkezi silindirin vasküler dokularını oluşturan floem ve ksilem bulunur. En ite öz bölgesi bulunur.  z bölgesi ksilem elamanları içerir (Görsel 7.1).

Görsel 7.1

S. iberica Kök Enine Kesiti



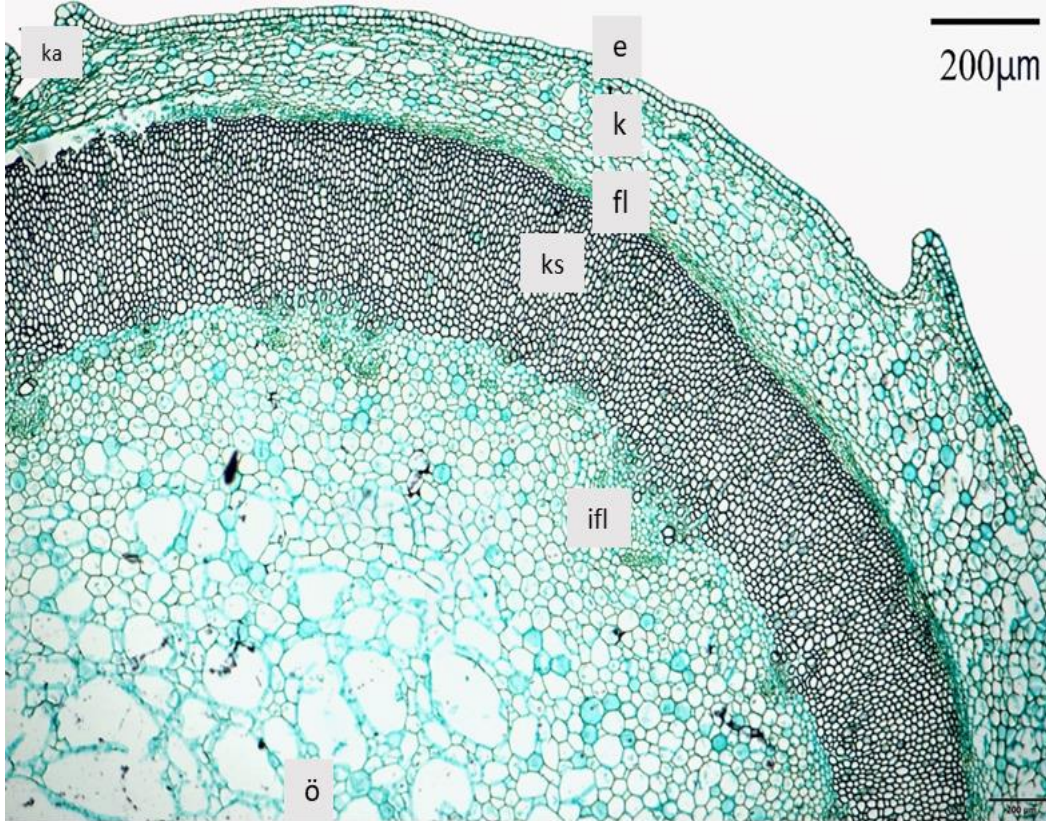
*e: epidermis, k: korteks, en: endodermis, fl: floem, ks: ksilem,  :  z

4.3.1.2 Gövde

Gövde enine kesiti hafif dört köşelidir. Bir çift ve bir tek kanatlı yapı taşır. Epidermisin dış kısmı ince bir kütikula tabakası ile kaplıdır. Epidermis 2 sıralı, küçük, dikdörtgen veya kare şekilli hücrelerden oluşur. Epidermisten sonra 7-8 sıralı, farklı büyüklükte oval şekilli ve yer yer nişasta taneleri taşıyan parankimatik hücrelerden oluşan korteks yer almaktadır. Korteks tabakasından sonra tek sıralı, dikdörtgenimsi, yer yer nişasta taneleri taşıyan endodermis bulunmaktadır. Endodermisten sonra tek sıralı, yer yer kesintili periskıl tabakası yer almaktadır. Periskıl tabakası altında 4-5 sıralı floem ve 18-19 sıralı ksilem yer almaktadır. Bu tabakanın altında internal floem (interksiler floem) bulunur. Öz tabakası, 9-10 sıralı oval, hücreler arası boşlukları çok az olan parankimatik hücreler yer alır. Bu hücrelerden sonra daha geniş hücreli parenkimatik hücreler gözlenir (Görsel 7.2 ve (Görsel 7.3).

Görsel 7.2

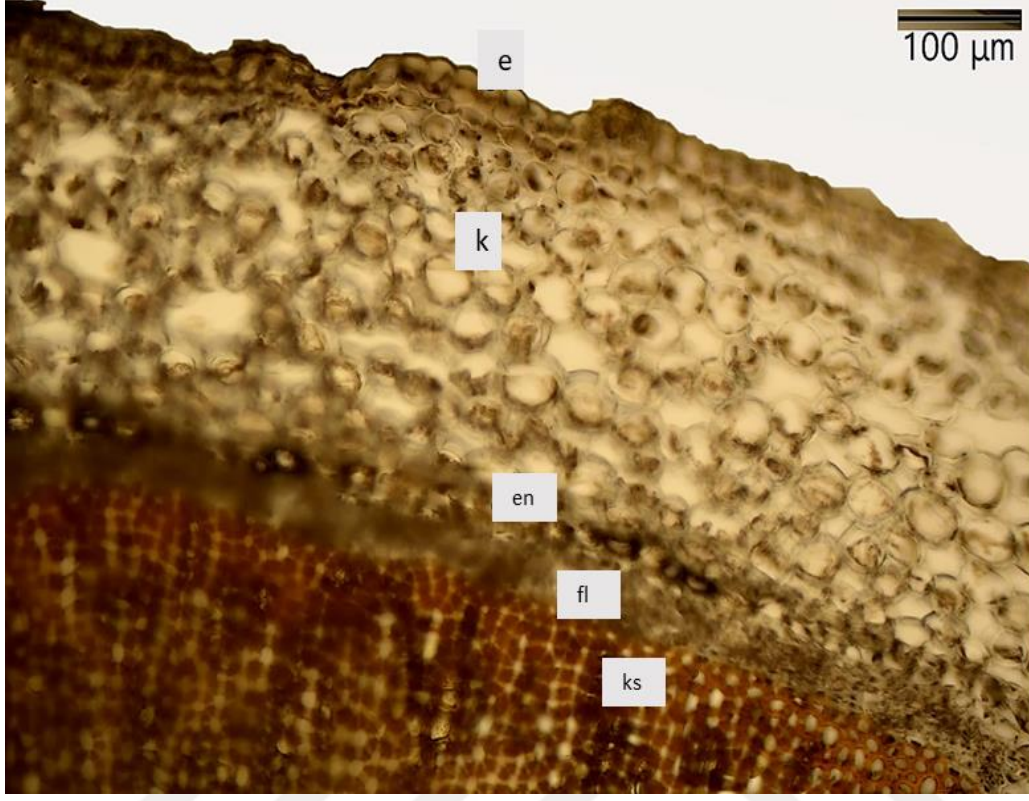
S. iberica Gövde Enine Kesiti



*e: epidermis, k: korteks, ka: kanat, fl: floem, ks: ksilem, ifl: internal floem ö: öz

Görsel 7.3

S. iberica Gövde Enine Kesit-Sartur



*e: epidermis, k: korteks, en: endodermis, fl: floem, ks: ksilem

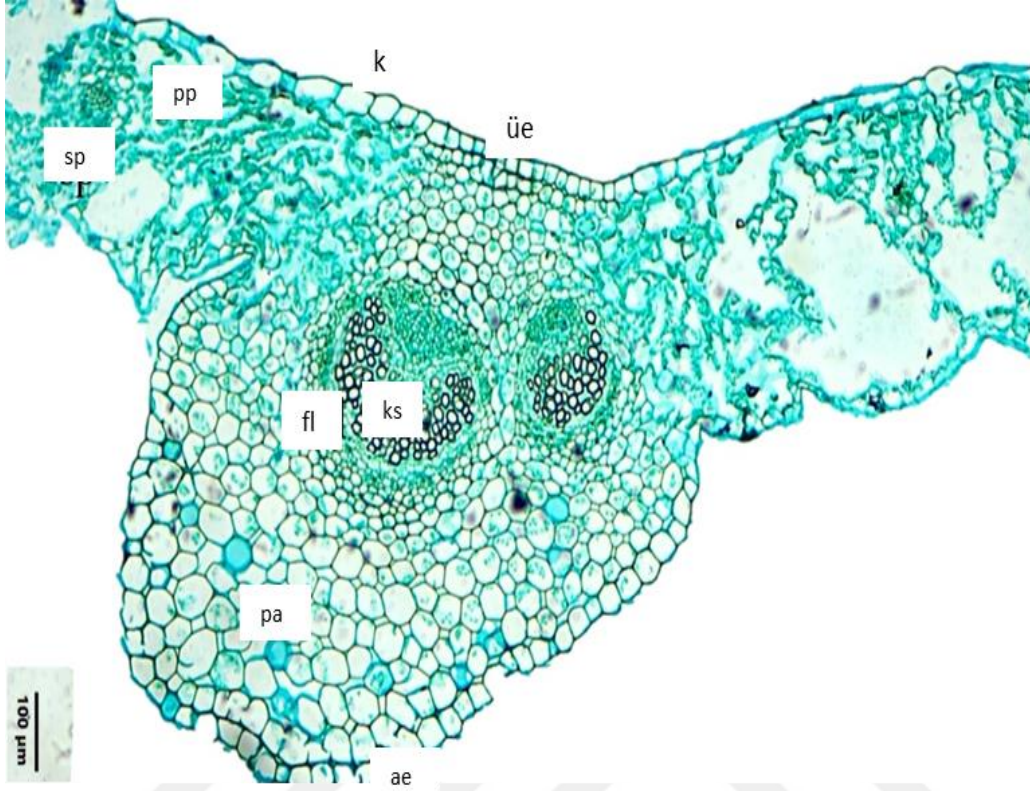
4.3.1.3 Yaprak

En dışta tek sıralı, kare ya da dikdörtgenimsi hücrelerden oluşan, kütikula tabakası ile kaplı epidermis tabakası yer alır. Epidermis çok seyrek örtü tüyleri taşır. Epidermis tabakası müsilaj taşır. Orta damar alt epidermise doğru belirgin bir çıkıntı yapar. Alt epidermadan sonra 7-8 sıralı, yer yer hafif boşluklu ve nişasta taneleri taşıyan parenkimatik hücreler bulunur. 2-3 sıralı floemi, 3-5 sıralı ksilem takip eder. İletim demetleri açık kollateraldir.

Stomalar yaprağın sadece alt yüzeyinde bulunur, hipostomatik yapraktır. Stomalar anizositik tiptedir. Yaprakta palizat ve sünger parankimasından oluşan mezofil tabakası bulunmaktadır. Palizat parankiması 1-2 sıralı, silindriktir. Sünger parankiması 1-2 sıralıdır. Yaprak bifasiyal tiptedir (Görsel 7.4-Görsel 7.6).

Görsel 7.4

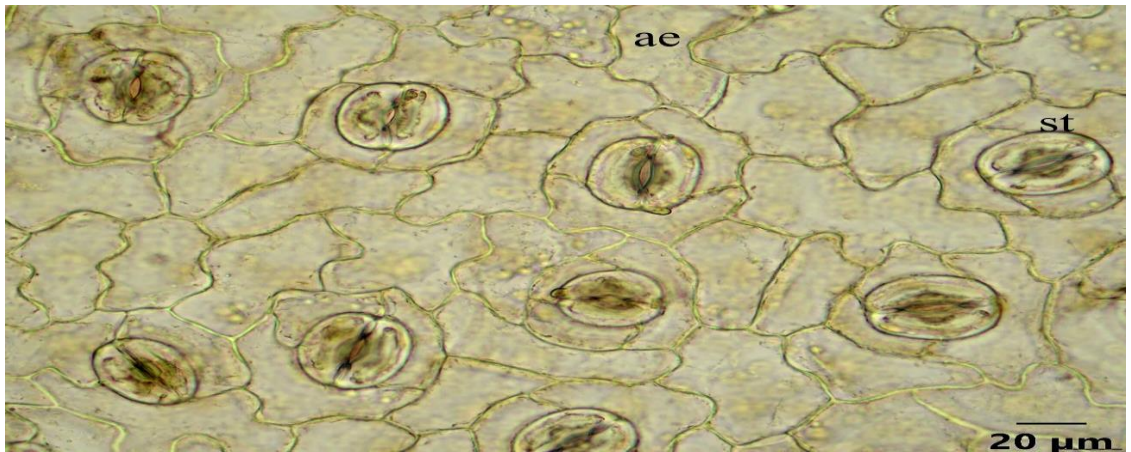
S. iberica Gövde Yaprak Enine Kesiti



*k: kütikula, üe: üst epidermis, ae: alt epidermis, pa: parankima, fl: floem, ks: ksilem, sp: sünger parankiması, pp: palizat parankiması

Görsel 7.5

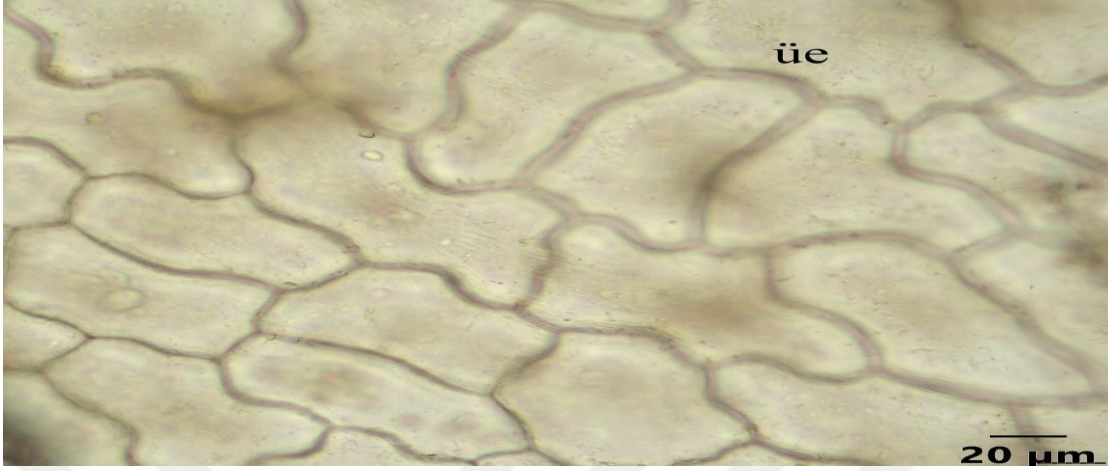
S. iberica Yaprak Alt Yüzeyinden Alınan Yüzeysel Kesitte Anizositik Stoma



*ae: alt epidermis, st: stoma

Görsel 7.6

S. iberica Yaprak Üst Yüzeyinden Alınan Yüzeysel Kesitte Epidermis Hücreleri



*üe: üst epidermis

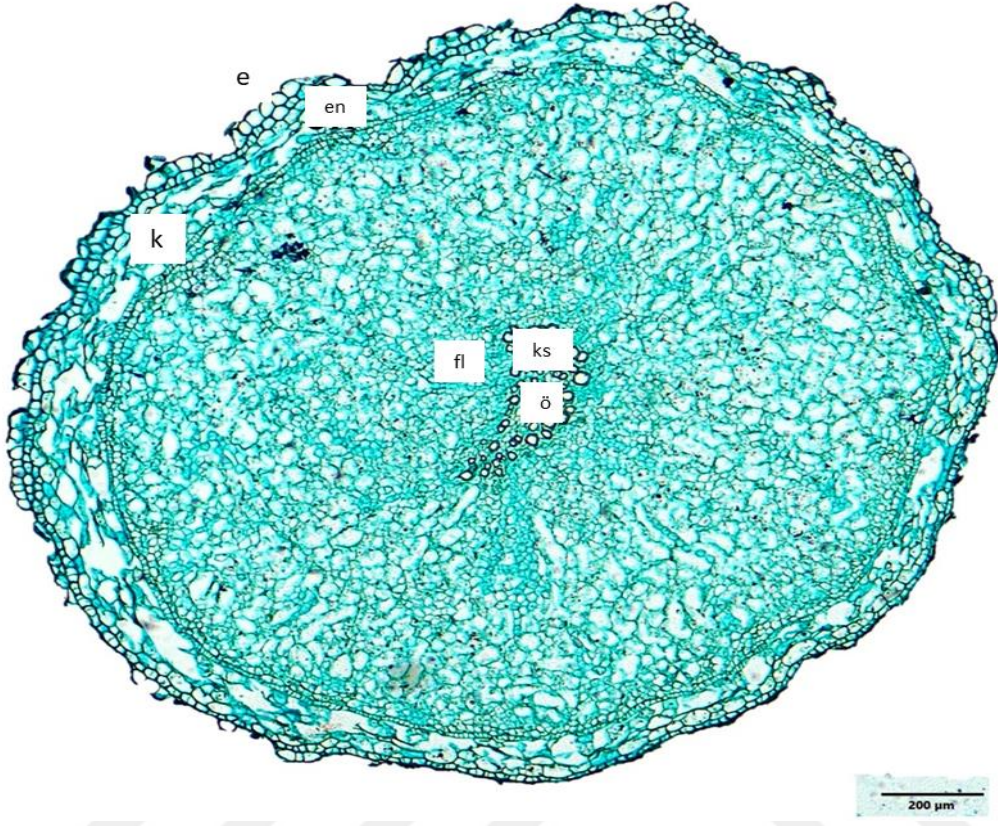
4.3.2 *S. longifolia*

4.3.2.1 Kök

Yer yer parçalanmış, 1-2 sıralı, düzensiz şekilli hücreler epidermis tabakasını oluşturur. Epidermis tabakasından sonra korteks tabakası bulunur. Korteks tabakası 4-5 sıralı, büyük, oval, yer yer boşluklu, ince çeperli ve nişasta taneleri taşıyan parankimatik hücrelerden oluşur. Endodermis tek sıralı, büyüklü küçüklü hücrelerden oluşur. Endodermis tabakasından sonra periskıl tabakası yer almaktadır. Tek sıralı periskıl tabakası yer yer kesintili olarak gözlenir. Merkezi silindirin vasküler dokularını oluşturan floem ve ksilem bulunur. En içte öz tabakası bulunur. Öz bölgesi ksilem elemanlarını içerir (Görsel 7.7).

Görsel 7.7

S. longifolia Kök Enine Kesiti



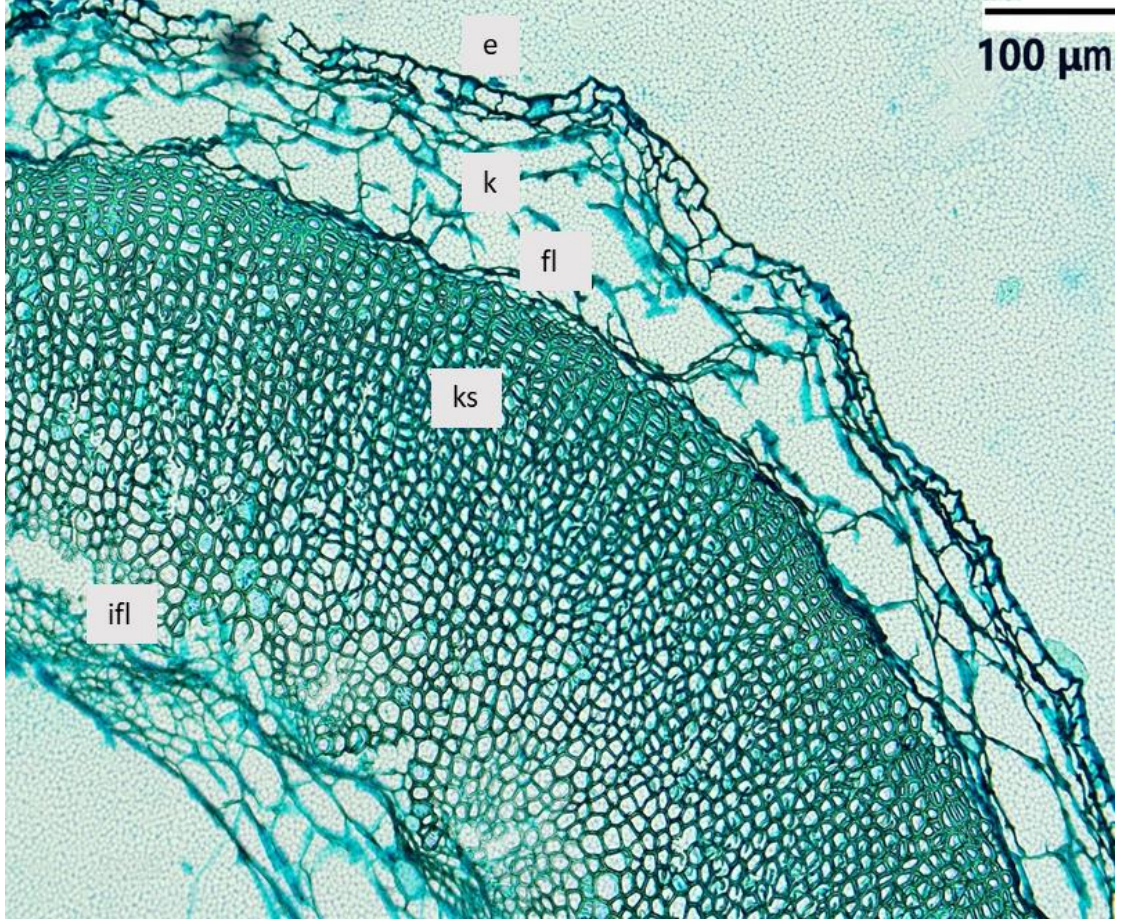
* e: epidermis, k: korteks, en: endodermis, fl: floem, ks: ksilem, ö: öz

4.3.2.2 Gövde

Gövde enine kesiti hafif dört köşelidir. Epidermis dış kısmı kalın kütiküla tabakası ile kaplıdır. 2 sıralı, dalgalı, küçük, dikdörtgen veya kare benzeri hücrelerden oluşur. Basit örtü tüyleri görülmüştür. Epidermisten sonra 3-4 sıralı, farklı büyüklükte, oval şekilli ve yer yer nişasta taneleri taşıyan parankimatik korteks tabakası yer almaktadır. Korteks tabakasından sonra tek sıralı, dikdörtgenimsi endodermis bulunmaktadır. Endodermisten sonra tek sıralı, yer yer kesintili periskıl tabakası yer almaktadır. Periskıl tabakası altında 1-2 sıralı floem ve floemden sonra 22-27 sıralı ksilem vardır. Ksilemden sonra interksiler floem yer almaktadır. Gövde içi boştur. Öz bölgesi yoktur.

Görsel 7.8

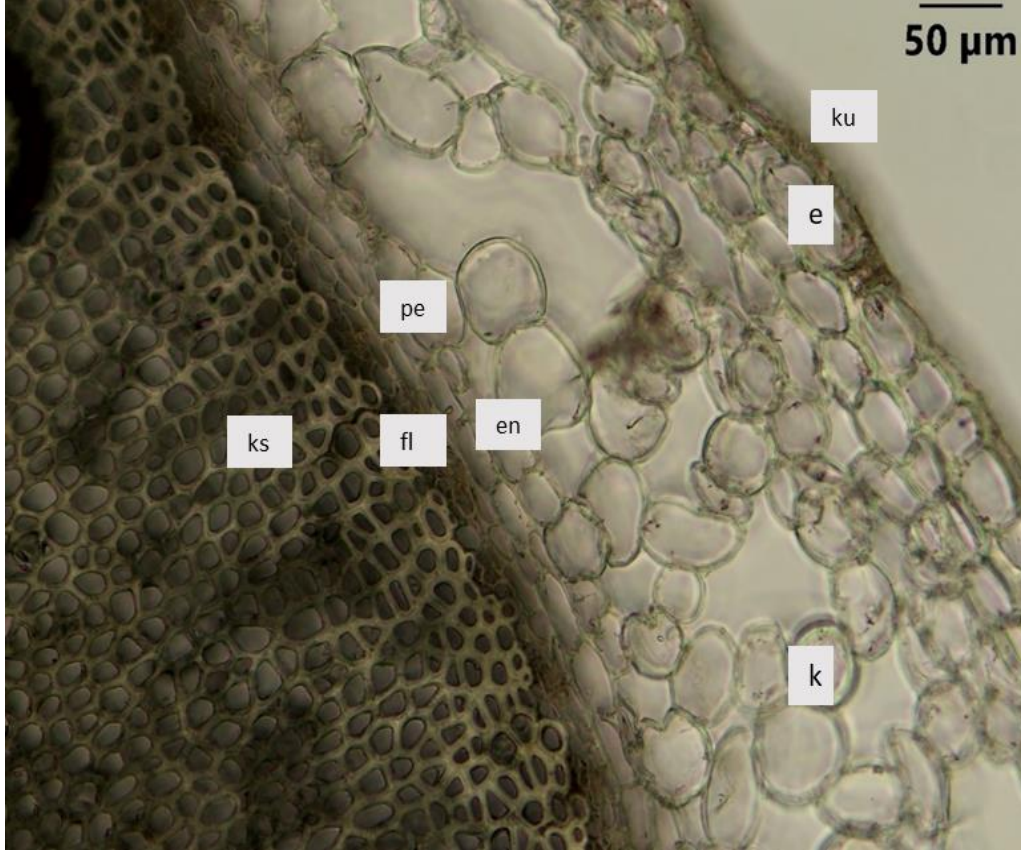
S. longifolia Gövde Enine Kesiti



* e: epidermis, k: korteks, fl: floem, ks: ksilem, ifl: interksiler floem

Görsel 7.9

S. longifolia Gövde, Kloralhidrat



* ku: kütikula, e: epidermis, k: korteks, en: endodermis, fl: floem, ks: ksilem, pe: periskıl

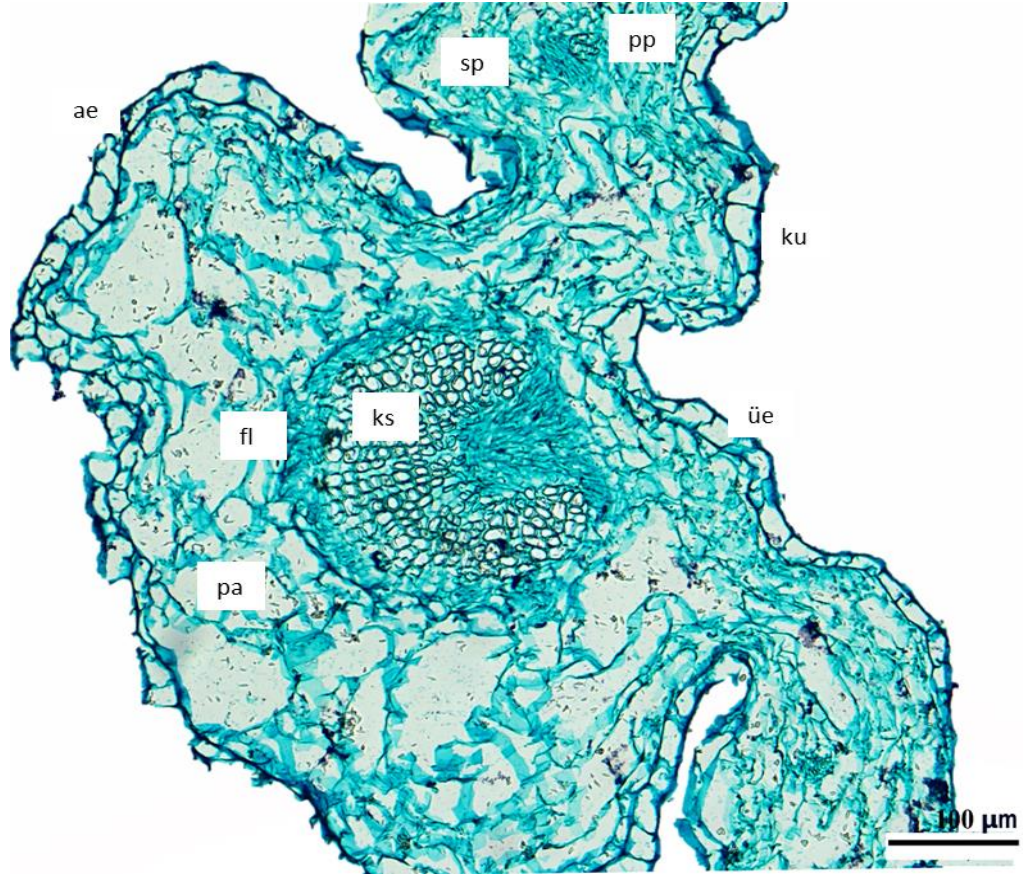
4.3.2.3 Yaprak

Epidermis tabakası tek sıralı, kare veya dikdörtgenimsi hücrelerden oluşur. Kütikula tabakası ile kaplıdır. Epidermis çok seyrek örtü tüyleri taşır. Epidermis tabakası müsilaj taşır. Orta damar alt epidermise doğru belirgin bir çıkıntı yapar. Alt epidermadan sonra 4-5 sıralı, yer yer boşluklu ve nişasta taneleri taşıyan parenkimatik hücreler bulunur. 4-5 sıralı floemi, 4-8 sıralı ksilem takip eder. İletim demetleri açık kollateraldır.

Stomalar yaprağın her iki yüzeyinde de bulunur, amfistomatik yapraktır. Stomalar anizositik tiptedir. Yaprakta palizat ve sünger parankimasından oluşan mezofil tabakası bulunmaktadır. Palizat parankiması 1-2 sıralı, silindriktir. Sünger parankiması 1-2 sıralıdır. Yaprak bifasiyal tiptedir (Görsel 7.10-Görsel 7.12).

Görsel 7.10

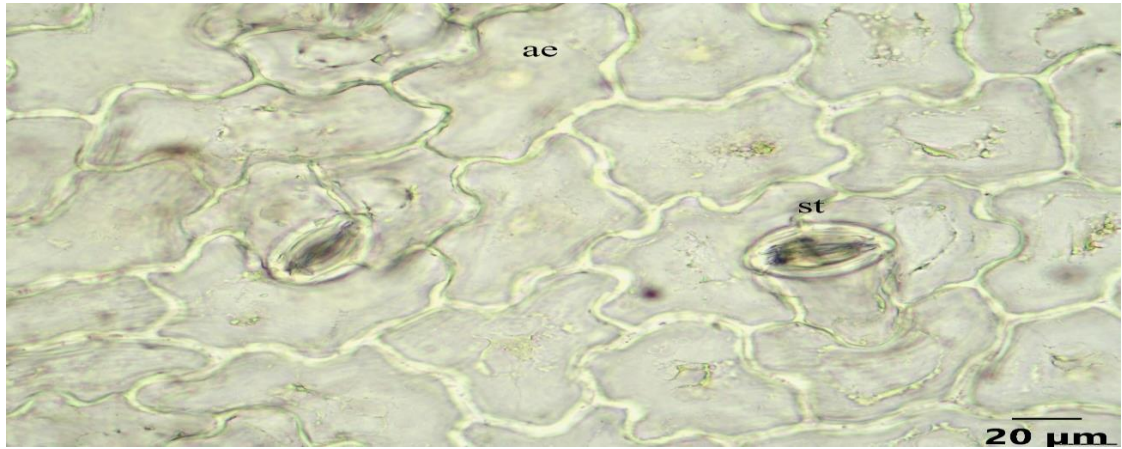
S. longifolia Gövde Yaprak Enine Kesiti



*ku: kütikula, üe: üst epidermis, ae: alt epidermis, pa: parankima, fl: floem, ks: ksilem, sp: sünger parankiması, pp: palizat parankiması

Görsel 7.11

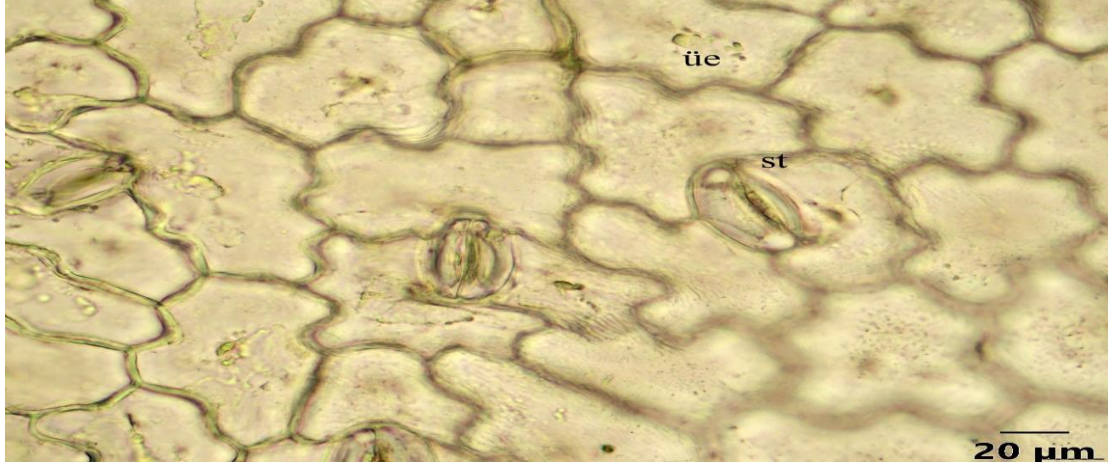
S. longifolia Yaprak Alt Yüzeyinden Alınan Yüzeysel Kesitte Stomalar-Anizositik Stoma



*ae: alt epidermis, st: stoma

Görsel 7.12

S. longifolia Yaprak Üst Yüzeyinden Alınan Yüzeysel Kesitte Stomalar-Anizositik Stoma



*üe: üst epiderma, st: stoma

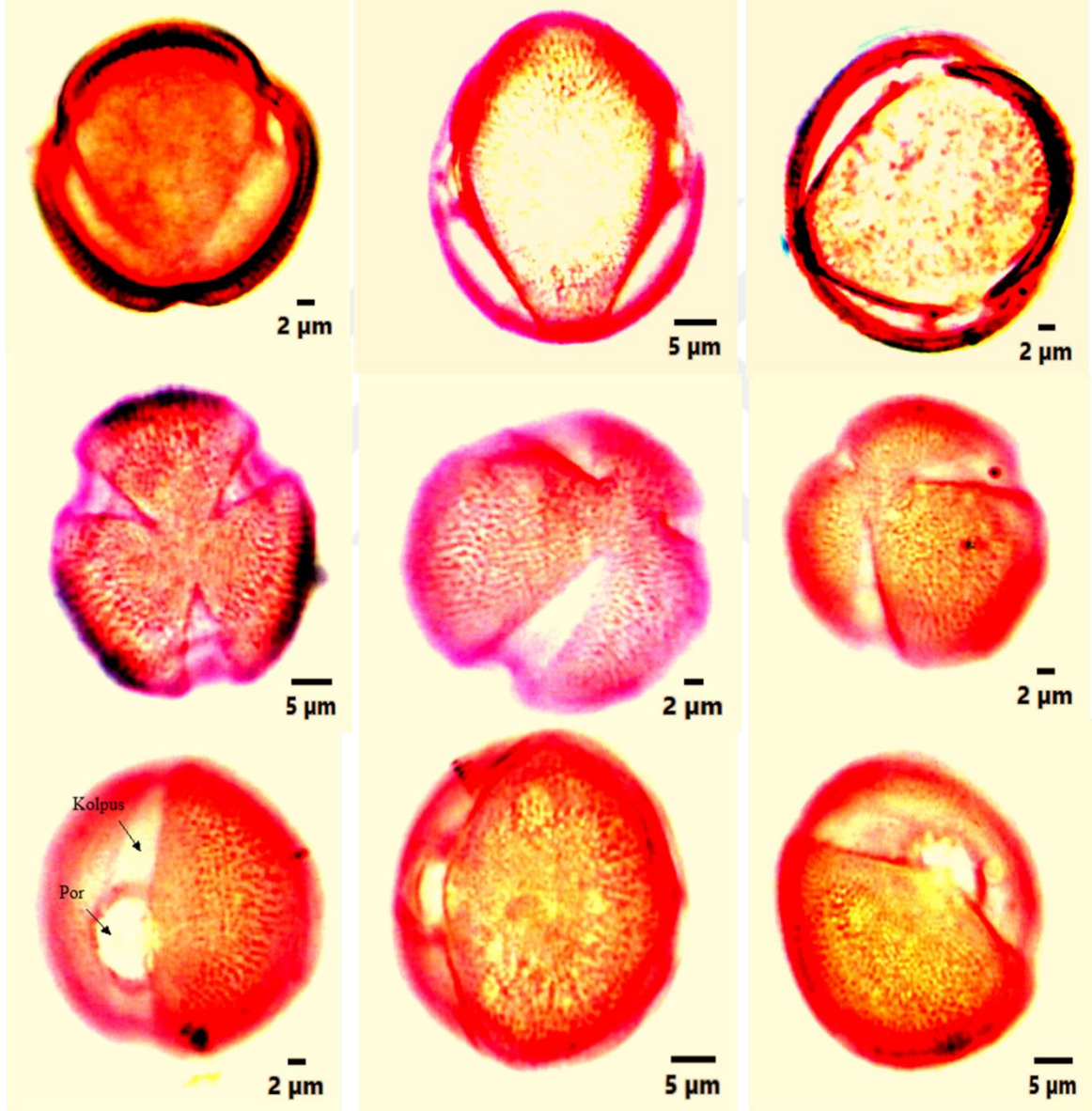
4.4 Palinolojik Çalışmalar

4.4.1 *S. iberica* türüne ait palinolojik bulgular

Polenlerin monad ve trikolporat olduğu görülmektedir. Polen yüzey ornamentasyonu (striat) çizgili, (retikulat) ağısıdır.

Görsel 8.1

S. iberica Polenine Ait Işık Mikroskobu Görüntüsü

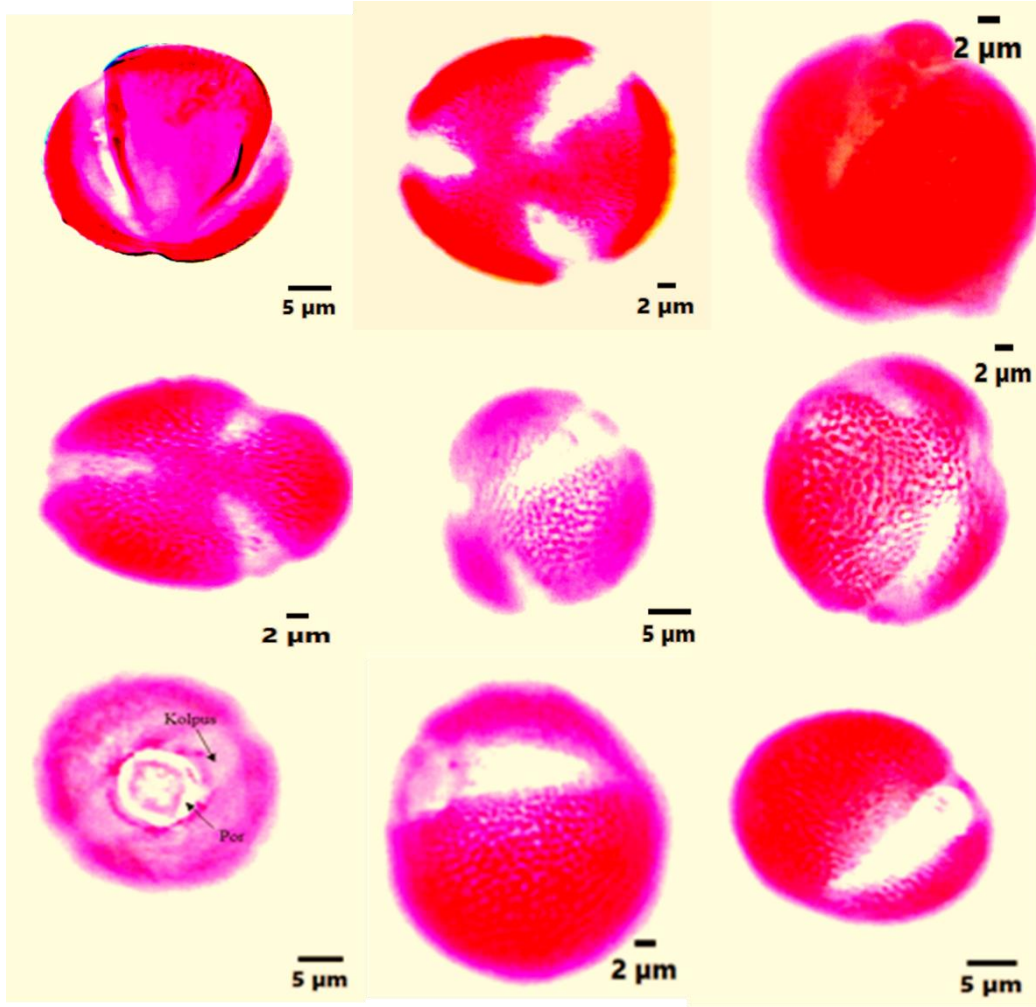


4.4.2 *S. longifolia* türüne ait palinolojik bulgular

Polenler monad ve trikolporattır. Polen yüzey ornamentasyonu heterobrokat; farklı boyutta lümenlere sahip retikulat polen duvarı vardır.

Görsel 8.2

S. longifolia Polenine Ait Işık Mikroskobu Görüntüsü



4.5 Moleküler Bulgular

DNA dizi analizi sonuçları

S. iberica ve *S. longifolia* türlerine ait ITS1-ITS4 bölgesi dizi analizleri için BM Labosis firmasından hizmet alımı yapılmıştır. Aşağıda 2 tür ait DNA dizi sonuçları verilmiştir ve dizi sonuçları Blast programı kullanılarak yakın akrabaları olan türler bulunmuştur (Tablo 7.1, Tablo 7.2).

***S. iberica*-ITS1-ITS4 bölgesi sekansı**

TCGTAGCAGGCGTCGTGACGACGCATGCATCAGGGTCGGATAATCTCC
TCGTTTCGACGGGCGTCGCGCGACAGCACCTTAGTTGAGGCAATCAACC
ACCACTTGTCGTGCGTCCGTGCAAGGGACTCGCATTTAGGACAGCC
GCATCAAGCACGGGAAGCCATTTTCCGCCCCACACGTCATCCGTACG
ATTTAACACACGGGGTTGGGGGCGACGCGATGCGTGACGCCAGGCAG
ACGTGCCCTCGGCCTGATGGCTTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGACTC
GATGGTTCACGGGATTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCAGTTCGCTAC
GTTCTTCATCGATGCGAGAGCCGAGATATCCGTTGCCGAGAGTCGTTTT
TGTTTCTTCAGACGCCTGTTGCCCTCCCGTGCACTCCGCGTACGGCGCA
TCGAGAGGAAGGCCATCCCTTCCTTGTCTTCCTTGGCGCTTTTATGCGC
CCGGGGTTGTTTGTCTGCACGAAGAGCGACCGTTGGTCGACGCCGTGCT
TGGGGCGCCGGTCCGTGGTTTCCCGCATCCCGGACGCCCGTGCTTTAAA
CATGTTCTCGGGTCGTCTGCTTCGCAGGATTCGACAATGATCCTTCCGC
AGGTTACCTACGGAA

***S. longifolia*-ITS1-ITS4 bölgesi sekansı**

CTGCGGAAGGATCATTGTCGAATCCTGCGAAGCAGACGACCCGAGAAC
ATGTTTAAATCACGGGCGTCCGGGACGCGGGAAACCACGGACCGGCAT
CCCAAGCACGGCGTCGACCAATGGTCGCTCTTCGTGCACACAAACAAC
CCCGGGCGCATAAAAGCGCCAAGGAAGACAAGAAAGGGATGGCCTTC
CTCTCGCAGCGCCGTACGCGGAGTGACGCGGAGGGCAACAGGCGCCTG
AAGAAACAAAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCG
ATGAAGAACGTAGCGAACTGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCC
GTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGC
CGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCCAACCC
CGTGTGTTAACTCGTACGGGTGACGTGTGGGGGCGGAAAATGGCTTCC
CGTGCTTGGTGCGGCTGGCCTAAATGCGAGTCCCTTTCGACGGACGCG
ACGACAAGTGGTGGTTGATTGCCTCAACTAAGGTGCTGTGCGCGACG
CCCGTCGAACGAGGAGACTACCCGACCCTGATGCGTGAGTAGT

Tablo 7.1

S. iberica 'dan Elde Edilen Dizilerin Gen Bankası 'ndaki En Yakın Temsilcileri ve Benzerlik Oranlar

Gen Bankasındaki Benzer Türler	Benzerlik Oranı %	Gen Bankası Numarası
<i>Swertia marginata</i>	98.77%	OR019698.1
<i>Swertia graciliflora</i>	98.77%	MT923713.1
<i>Swertia obtusa</i>	97.53%	OR019118.1
<i>Swertia perennis</i>	97.07%	AJ580550.1
<i>Swertia banzragczii</i>	96.92%	OR034098.1
<i>Swertia bifolia</i>	98.38%	KC861298.1
<i>Swertia przewalskii</i>	98.06%	AF255913.1
<i>Swertia wolfgangiana</i>	97.90%	AF255914.1
<i>Swertia gyacaensis</i>	97.58%	KC861317.1
<i>Swertia phragmitiphylla</i>	97.09%	KC861312.1
<i>Swertia erythrosticta</i>	96.93%	AF251122.1
<i>Swertia nervosa</i>	94.14%	FJ010794.1
<i>Swertia chirayita</i>	93.85%	JX569817.1
<i>Swertia franchetiana</i>	93.70%	JF978826.2
<i>Swertia angustifolia</i>	93.68%	FJ010793.1
<i>Swertia lurida</i>	93.54%	FJ010795.1
<i>Swertia bimaculata</i>	93.39%	MN561248.1
<i>Swertia macrosperma</i>	93.23%	MH117778.1
<i>Swertia decora</i>	93.25%	MN561235.1
<i>Swertia punicea</i>	93.09%	JF978828.2
<i>Swertia alpestris</i>	97.14%	KF747367.1
<i>Swertia leducii</i>	92.94%	MN561211.1

Tablo 7.1

(Devam) *S. iberica* 'dan Elde Edilen Dizilerin Gen Bankası 'ndaki En Yakın Temsilcileri ve Benzerlik Oranlar

Gen Bankasındaki Benzer Türler	Benzerlik Oranı %	Gen Bankası Numarası
<i>Swertia mussotii</i>	92.79%	MN561214.1
<i>Swertia multicaulis</i>	92.92%	FJ010799.1
<i>Swertia japonica</i>	92.65%	LC645204.1
<i>Megacodon stylophorus</i>	94.18%	MT446378.1
<i>Gentianella germanica</i>	92.79%	AJ580564.1

Tablo 7.2

S. longifolia 'dan Elde Edilen Dizilerin Gen Bankası 'ndaki En Yakın Temsilcileri ve Benzerlik Oranlar

Gen Bankasındaki Benzer Türler	Benzerlik Oranı %	Gen Bankası Numarası
<i>Swertia obtusa</i>	99.51%	OR018860.1
<i>Swertia perennis</i>	98.52%	AJ580550.1
<i>Swertia banzragczii</i>	98.36%	OR034098.1
<i>Swertia marginata</i>	97.70%	OR019698.1
<i>Swertia graciliflora</i>	97.54%	MT923713.1
<i>Swertia gyacaensis</i>	97.99%	KC861317.1
<i>Swertia phragmitiphylla</i>	97.49%	KC861312.1
<i>Swertia erythrosticta</i>	97.30%	AF251122.1
<i>Swertia bifolia</i>	97.29%	KC861298.1
<i>Swertia przewalskii</i>	97.13%	AF255913.1
<i>Swertia wolfgangiana</i>	96.79%	AF255914.1
<i>Swertia alpestris</i>	99.25%	KF747367.1
<i>Swertia franchetiana</i>	94.76%	JF978826.2

Tablo 7.2

(Devam) *S. longifolia*'dan Elde Edilen Dizilerin Gen Bankası'ndaki En Yakın Temsilcileri ve Benzerlik Oranlar

Gen Bankasındaki Benzer Türler	Benzerlik Oranı %	Gen Bankası Numarası
<i>Swertia chirayita</i>	94.75%	JX569817.1
<i>Swertia nervosa</i>	94.42%	FJ010808.1
<i>Swertia punicea</i>	94.27%	JF978828.2
<i>Swertia macrosperma</i>	94.26%	MH117778.1
<i>Swertia lurida</i>	94.26%	FJ010795.1
<i>Swertia angustifolia</i>	94.09%	FJ010793.1
<i>Swertia bimaculata</i>	93.94%	MN561248.1
<i>Swertia japonica</i>	93.82%	LC645204.1
<i>Swertia multicaulis</i>	93.93%	FJ010799.1
<i>Swertia mussotii</i>	93.79%	MN561214.1
<i>Swertia decora</i>	93.79%	MN561235.1
<i>Megacodon stylophorus</i>	95.11%	MT446378.1
<i>Gentianella germanica</i>	93.79%	AJ580564.1
<i>Comastoma cyananthiflorum</i>	93.95%	KC861320.1

4.6 Uçucu Yağ Analiz Bulguları

Tez bitkilerim olan *S. iberica* ve *S. longifolia* ait çiçeklerden mikrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağlar GC-GC/MS yöntemi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda *S. iberica* % 90.1 analiz edilip 24 bileşik tanımlanırken; *S. longifolia* ise % 71.5 analiz edilip 23 bileşik tanımlanmıştır. Her iki tür içinde major bileşik tekrakozan olarak belirlenmiştir (Tablo 10.1).

Tablo 8.1*Swertia Türlerine Ait Uçucu Yağ Bileşenleri*

RRI	Compunds	S. <i>iberica</i> %	S. <i>longifolia</i> %	IM
1093	Hekzanal	0.8	1.1	t _R , MS
1194	Heptanal	-	0.3	MS
1244	Amil furan	0.7	0.6	MS
1335	(E)- 2-Heptenal	0.5	-	MS
1393	3-Octanol	0.3	-	MS
1399	Nonanal	0.8	3.2	MS
1400	Tetradekan	-	0.3	MS
1452	1-Octen-3-ol	2.3	0.3	t _R , MS
1479	(E,Z)-2,4-Heptadienal	-	0.3	MS
1503	Dihidroedulan II	1.0	-	MS
1507	(E,E)-2,4-Heptadienal	0.4	0.5	MS
1553	Linalool	3.5	-	t _R , MS
1655	(E)-2-Dekenal	0.1	-	MS
1658	Benzen asetaldehit (= Fenil asetaldehit)	0.6	-	MS
1827	(E,E)-2,4-Dekadienal	0.4	0.8	MS
1868	(E)-Geranil aseton	-	tr	t _R , MS
1882	1-Isobutil 4-isopropil 3-isopropil - 2,2-dimetil suksinat	-	0.7	MS
1900	Nonadekan	0.8	0.9	t _R , MS
2000	Eikozan	1.4	1.0	t _R , MS
2041	Pentadekanal	-	1.5	MS
2100	Heneikozan	2.8	1.2	t _R , MS
2131	Hekzahidrofarnesil aseton	0.4	0.8	t _R , MS
2179	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)- furanon	1.3	-	t _R , MS
2194	3,4-Dimetil-5-pentil-5H- furan-2- one	0.4	-	t _R , MS
2200	Dokozan	3.1	1.4	t _R , MS
2300	Trikozan	28.1	10.9	t _R , MS
2400	Tetrakozan	31.0	25.2	t _R , MS
2500	Pentakozan	1.9	2.4	t _R , MS
2600	Hekzakozan	2.7	4.7	t _R , MS
2700	Heptakozan	4.8	11.4	t _R , MS
2800	Oktakozan	-	2.0	t _R , MS
	Toplam %	90.1	71.5	
	Bileşik sayısı	24	23	

* %: FID kromatogramlarından hesaplanan, RRI: n-alkanlara karşı hesaplanan bağıl alıkonma endeksleri
t_R: İz miktar (<0.1 %)

4.7 Ekstrelerin Özellikleri ve Verimleri

Kurutulup, uygun boyuta getirilen bitki toprak üstü kısımları; *n*-hekzan, etil asetat, %70'lik etanol ve metanol ile masere edilmiştir. Elde edilen ekstrelerin verimi kuru bitki materyali üzerinden (g ekstre /100 g bitki) hesaplanmıştır. Ekstre verimleri bilgileri aşağıdaki Tablo 9.1'de gösterilmiştir.

Tablo 9.1*Ekstre Verimleri*

Ekstre Türü	<i>S. iberica</i>		<i>S. longifolia</i>	
	Ekstre Miktarı, g	Verim, % (g/g)	Ekstre Miktarı, g	Verim, % (g/g)
<i>N</i> -hekzan ekstresi	1.05	3.5	0.79	2.6
Etil asetat ekstresi	1.08	3.6	1.09	3.6
Metanol	7.65	25.5	8.33	27.7
%70'lik Etil alkol ekstresi	8.20	27.3	11.69	38.9

4.8 Biyolojik Aktivite Bulguları

4.8.1 Antioksidan aktivite çalışmaları sonuçları

4.8.1.1 DPPH• serbest radikalini süpürücü etki değerleri

S. iberica ve *S. longifolia* toprak üstü kısımlarından elde edilen *n*-hekzan, etil asetat, metanol ve %70'lik etil alkol ve infüzyon örneklerinin DPPH• yöntemi kullanılarak antioksidan özelliği araştırılmıştır. Standart madde olarak gallik asit kullanılmıştır. Deneylerde sonuçlar inhibisyon değerleri kullanılarak SigmaPlot programında IC₅₀ değerleri bulunmuştur. Sonuçlar mg/mL cinsinden değerlendirilmiştir (Tablo 10.1, Tablo 10.2).

Tablo 10.1*S. iberica* ait DPPH Test IC₅₀ (mg/mL)

Ekstreler	DPPH Test IC ₅₀ (mg/mL)
%70 lik Etanol	0.3527±0.0059
Metanol	0.2985±0.0241
Etil asetat	0.3005±0.0261
<i>N</i> -Hekzan	1.5193±0.0877
İnfüzyon	0.3034±0.0163
Gallik asit	0.0016±0.0001

Tablo 10.2*S. longifolia* Ait DPPH Test IC_{50} (mg/mL)

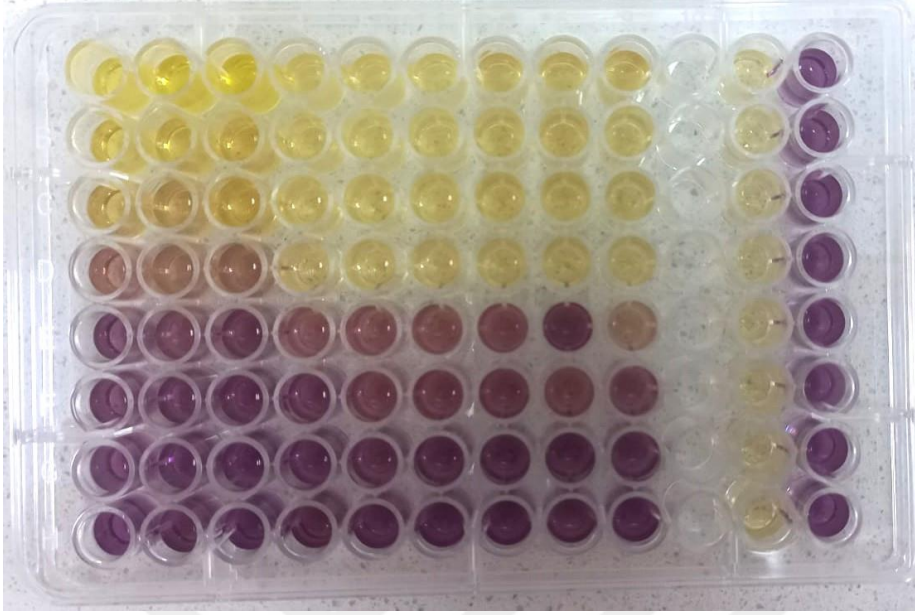
Ekstreler	DPPH Test IC_{50} (mg/mL)
%70 lik Etanol	0.2500±0.0119
Metanol	0.5012±0.0175
Etil asetat	1.2997±0.1020
N-Hekzan	0.9390±0.1483
İnfüzyon	0.4723±0.0061
Gallik asit	0.0016±0.0001

Görsel 9.1*Sırasıyla VE, VM, VEA, GA, M Ait DPPH Deney Görseli*

*V: *S. longifolia* E:%70 etanol, M:metanol, EA:etil asetat, GA:gallik asit

Görsel 9.2

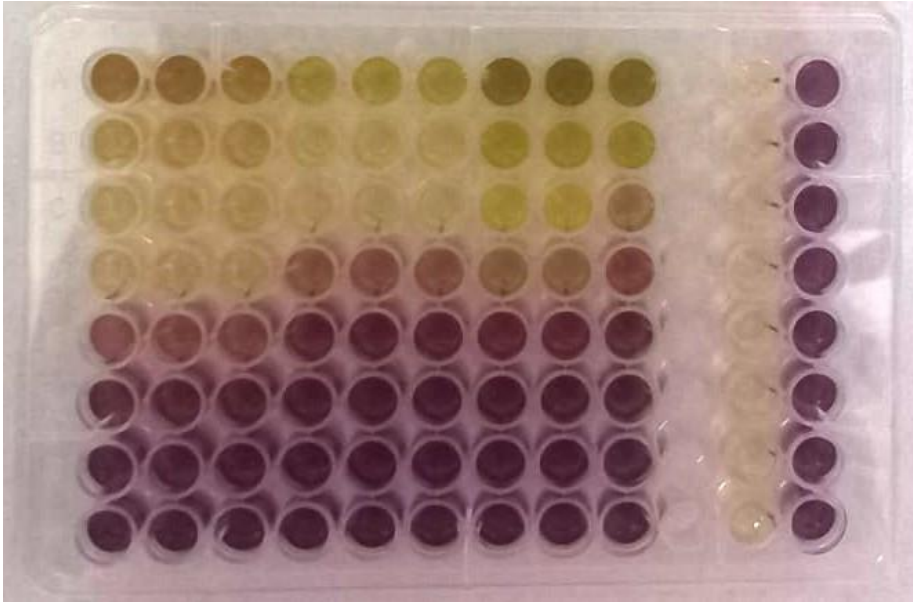
Sırasıyla *VH*, *Vİ*, *RI*, *GA*, *M* Ait DPPH Deney Görseli



**V*: *S. longifolia* *R*: *S. iberica* *H*:hekzan, *İ*:infüzyon, *GA*:gallik asit, *M*:metanol

Görsel 9.3

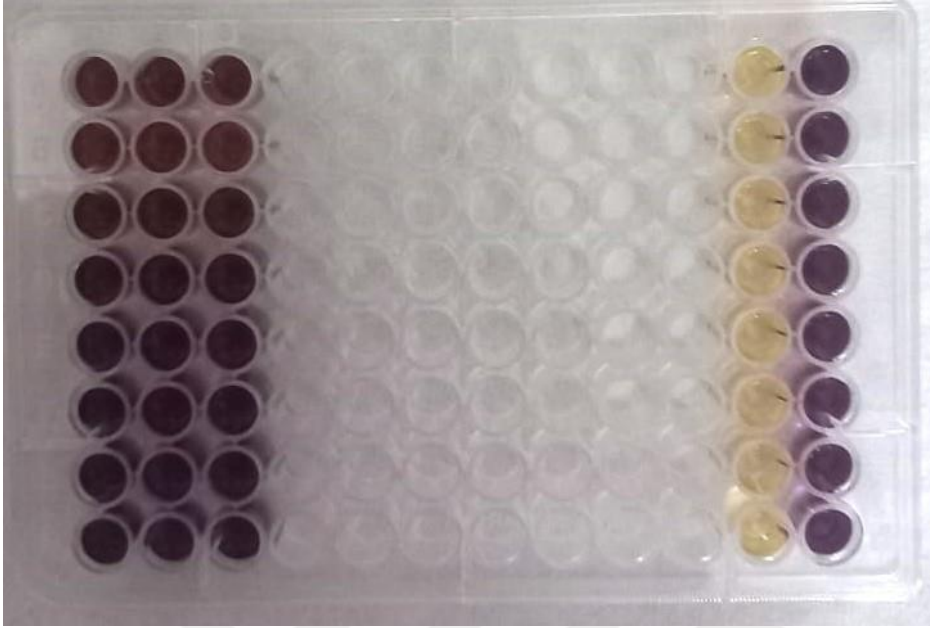
Sırasıyla *RE*, *RM*, *REA*, *GA*, *M* Ait DPPH Deney Görseli



**R*: *S. iberica*, *E*:%70 etanol, *M*:metanol, *EA*:etil asetat, *GA*:gallik asit, *M*:metanol

Görsel 9.4

Sırasıyla RH, GA, M Ait DPPH Deney Görseli



*R: *S. iberica*, H: heksan, GA:gallik asit, M:metanol

4.8.1.2 Toplam fenolik madde miktar tayini sonuçları

S. iberica ve *S. longifolia* bitkilerine ait ekstrelerin toplam fenol miktarı gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak belirlenmiştir. Test edilen örneklere ait toplam fenol miktarı, kalibrasyon eğrisi denklemi (Şekil 2.5) kullanarak g ekstrede mg gallik asite eşdeğer olarak (mg GAE/g ekstre) hesaplanmıştır (Tablo 10.3 ve Tablo 10.4).

Tablo 10.3

S. iberica Ait FCR Test (mg GAE/g ekstre)

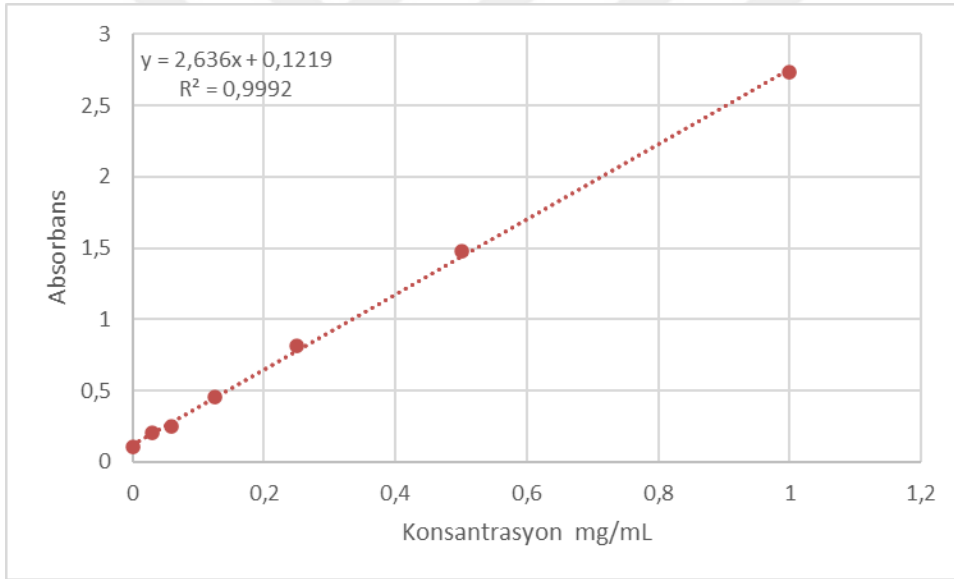
Ekstreler	FCR Test (mg GAE/g ekstre)
%70 lik Etanol	38.77±0.1784
Metanol	27.69±0.1272
Etil asetat	17.94±0.0792
N-Hekzan	29.23±0.1315
İnfüzyon	16.52±0.1377

*GAE: mg/g Gallik asite eşdeğer olan fenol miktarı

Tablo 10.4*S. longifolia* Ait FCR Test (mg GAE/g ekstre)

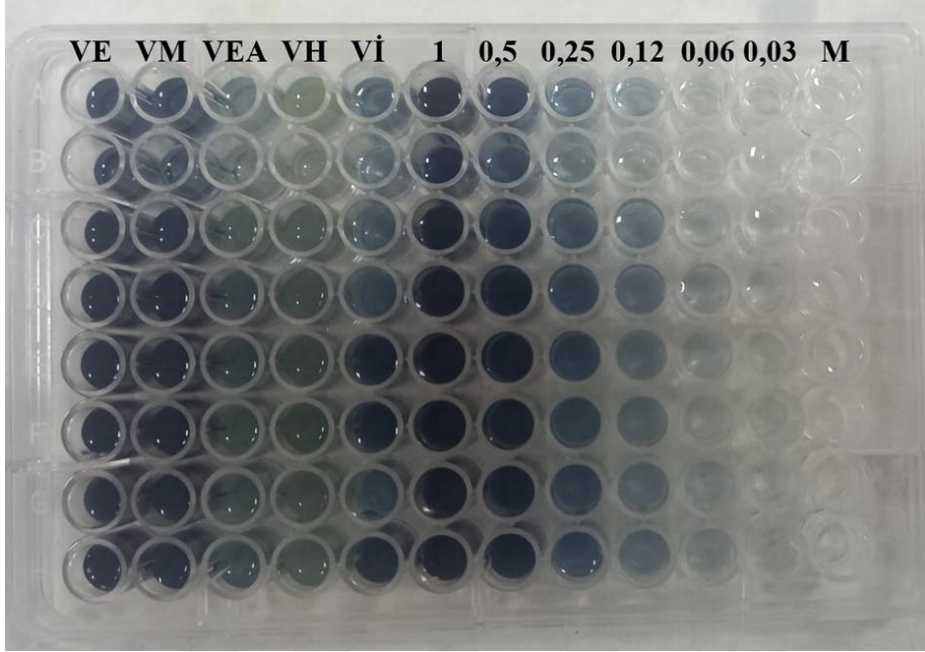
Ekstreler	FCR Test (mg GAE/g ekstre)
%70 lik Etanol	46.25±0.0745
Metanol	27.36±0.0183
Etil asetat	38.77±0.0343
N-Hekzan	16.87±0.0711
İnfüzyon	23.76±0.0237

*GAE: mg/g Gallik asite eşdeğer olan fenol miktarı

Şekil 2.5*Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi*

Görsel 10.1

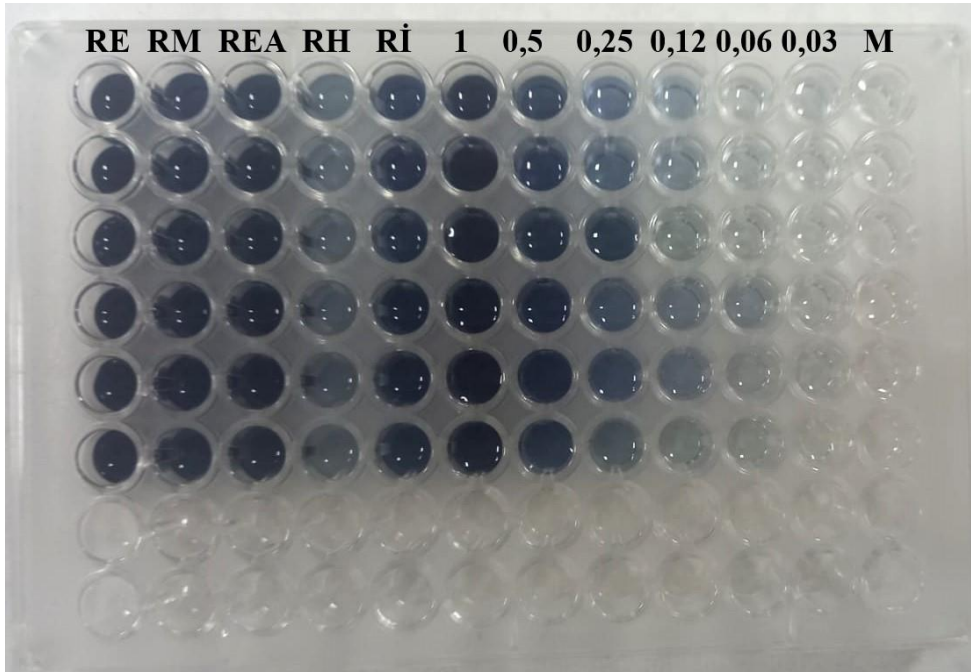
VE, VM, VEA, VH, Vİ Ekstrelerine Ait Toplam Fenol Miktar Tayini Sonucu



*V: *S. longifolia* E:%70 etanol, M:metanol, EA:etil asetat, H:hekzan, İ: infüzyon GA:gallik asit

Görsel 10.2

RE, RM, REA, RH, Rİ Ekstrelerine Ait Toplam Fenol Miktar Tayini Sonucu



*V: *S. longifolia* E:%70 etanol, M:metanol, EA:etil asetat, H:hekzan,İ: infüzyon GA:gallik asit

4.8.2 Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

4.8.2.1 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

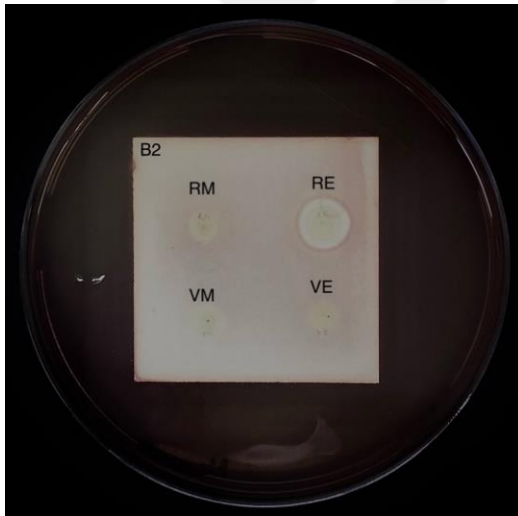
S. iberica ve *S. longifolia* türlerine ait ekstrelerin antibakteriyel etkileri biyootografi, kuyu difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen veriler Tablo 11.1, Tablo 11.2 ve Görsel 11.1, Görsel 11.2 ve Görsel 11.3'te verilmiştir.

Biyootografi Dot-Blot Yöntemi deney sonuçları

Literatür taramaları sırasında ekstre hazırlarken en çok tercih edilen çözücülerin %70'lik etanol ve metanol olduğu görülmüştür. Bu sebeple 2 türe ait bu ekstrelerin Biyootografi Dot-Blot yöntemi kullanılarak *Staphylococcus aureus* ATCC 6538'a karşı antibakteriyel özellikleri için ön tarama yapılmıştır. *S. iberica* türüne ait %70 lik etanol ekstresinde kırmızı zon oluştuğu gözlenmiştir. Görsel 11.1'de deneye ait sonuçlar görülmektedir.

Görsel 11.1

Biyootografi Dot-Blot Yöntemi

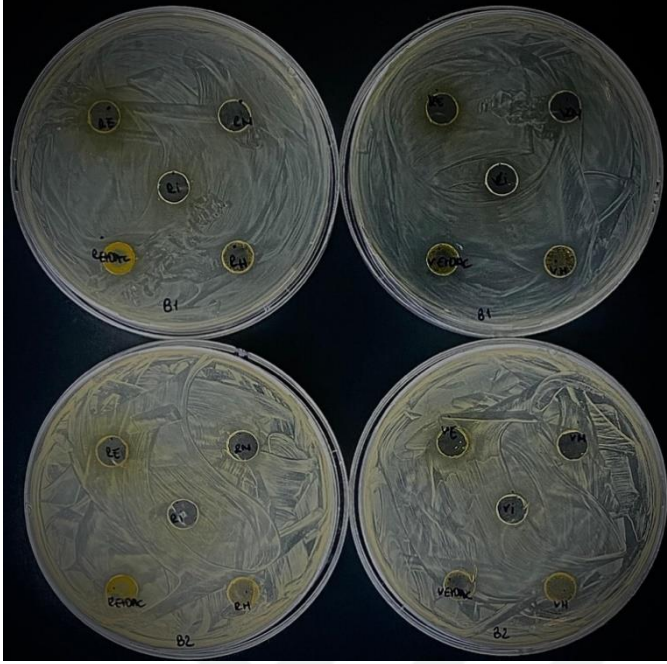


Kuyu Difüzyon yöntemi deney sonuçları

Tez materyallerine ait ekstreler *Escherichia coli* NRRL B-3008 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşlarına karşı Kuyu Difüzyon yöntemi ile antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. *Escherichia coli* NRRL B-3008 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşuna karşı test edilen tüm örneklerde zon oluşumu görülmemiştir. Tablo 11.1 ve Görsel 11.2'de deneye ait veriler görülmektedir.

Görsel 11.2

Kuyu difüzyon yöntem sonuçları



Tablo 11.1

Antibakteriyel Kuyu Difüzyon Verileri

Zone çapı mm	R E	R M	R EA	R H	R İ	V E	V M	V EA	V H	V İ	Kloramfenikol
<i>Escherichia coli</i> NRRL B-3008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35

*R: *S. iberica*, E: %70 etanol, M: metanol, H: hekzan, EA: etilasetat, İ: infüzyon, V: *S. longifolia*, E: %70 etanol, M: metanol, H:hekzan, EA: etilasetat, İ: infüzyon

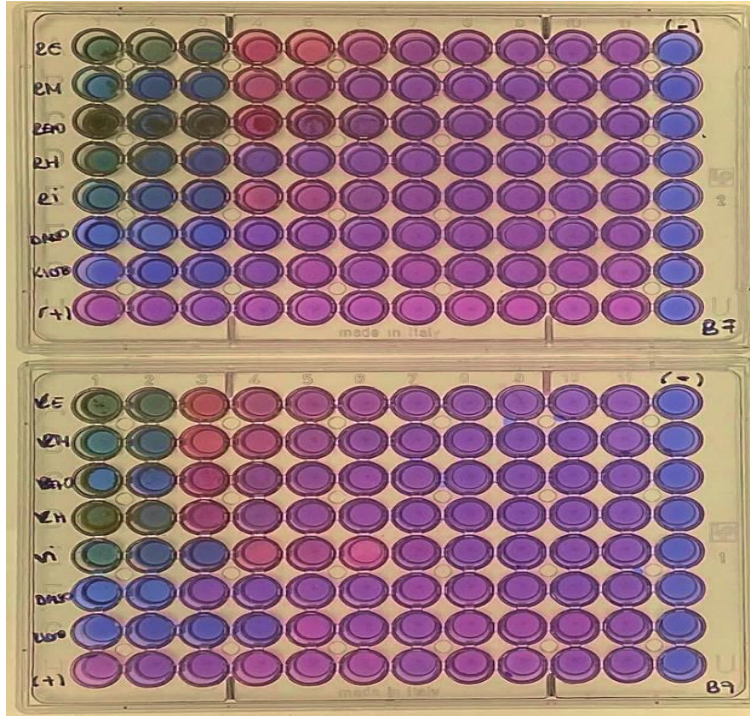
Mikrodilüsyon Yöntemi

Ekstrelerin yedi bakteri türüne karşına mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak antibakteriyel etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçlar minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak verilmiştir. 16000-15 µg/mL aralığında dilüe edilen ekstreler, yapılan deney sonucunda 2000-4000 µg/mL MİK aralığında etkiler göstermiştir. Minimum bakterisidal etki, tüm

test edilen örneklerde 4000 µg/mL'nin üzerindedir. Standart antibakteriyal madde kloramfenikol ile karşılaştırıldığında örneklerin, kullanılan bakteri suşlarına karşı zayıf inhibitör etkileri olduğu belirlenmiştir. Tablo 11.2 ve Görsel 11.3'te deneye ait veriler görülmektedir.

Görsel 11.3

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228 (B7) Suşuna Ait Sonuç



Tablo 11.2

Ekstrelerin Antibakteriyel Etki Sonuçları (µg/mL)

(MIC, µg/mL)	RE	RM	REA	RH	Rİ	VE	VM	VEA	VH	Vİ	KLRM.
<i>Escherichia coli</i> NRRL B-3008	>4000	>4000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	>4000	2000	4
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	16
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	8

Tablo 11.2*(Devam) Ekstrelerin Antibakteriyel Etki Sonuçları (µg/mL)*

(MIC, µg/mL)	RE	RM	REA	RH	Rİ	VE	VM	VEA	VH	Vİ	KLRM.
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	2000	8
<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	2000	>4000	2000	>4000	>4000	2000	2000	2000	>4000	>4000	8
<i>Serratia marcescens</i> NRRL B-2544	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	2

Not.KLR: Kloramfenikol (128 mg/mL)

*R: *S. iberica*, E: %70 etanol, M: metanol, H: hekzan, EA: etilasetat, İ: infüzyon, V: *S. longifolia*, E: %70 etanol, M: metanol, H:hekzan, EA: etilasetat, İ: infüzyon

4.8.2.2. Antikandidal Aktivite Sonucu

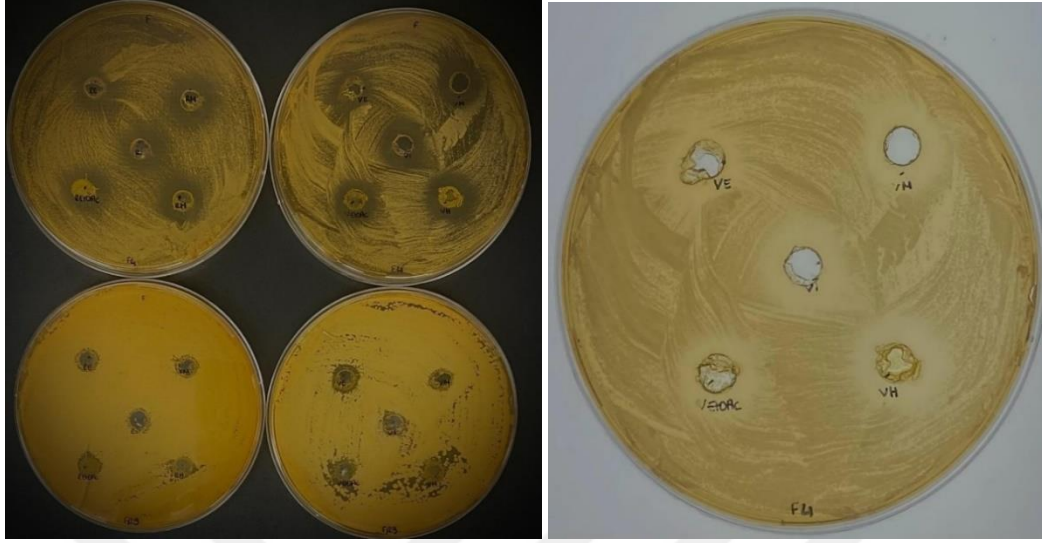
S. iberica ve *S. longifolia* bitki türlerine ait ekstre ve infüzyon örneklerinin antikandidal etkileri kuyu difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen veriler Tablo 13.3, Tablo 13.4 ve Görsel 11.4, Görsel 11.5 ve Görsel 11.6’da verilmiştir.

Kuyu Difüzyon Yöntemi deney sonuçları

Tez materyallerine ait ekstrelerin *Candida utilis* NRRL-Y-900 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşlarına karşı Kuyu Difüzyon yöntemi ile antikandidal özellikleri araştırılmıştır. *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşuna karşı sadece *S. longifolia*’nın %70’lik etanol ekstresinde zon oluşumu görülmüştür. *C. utilis* NRRL-Y-900 suşuna karşı ise tüm test edilen örneklerde zon oluşumu görülmüştür. Tablo 11.3 ve Görsel 11.4’ de deneye ait veriler görülmektedir.

Görsel 11.4

Kuyu Difüzyon Yöntemi Deney Sonuçları



Tablo 11.3

Antikandidal Kuyu Difüzyon Yöntemine Ait Veriler

Zone çapı mm	RE	RM	REA	RH	RI	VE	VM	VEA	VH	VI	Ketokonazol
<i>Candida utilis</i> NRRL-Y-900	12	18	14	16	14	17	18	14	19	17	16
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	22.5

*R: *S. iberica*, E: %70 etanol, M: metanol, H: hekzan, EA: etilasetat, İ: infüzyon, V: *S. longifolia*, E: %70 etanol, M: metanol, H:hekzan, EA: etilasetat, İ: infüzyon

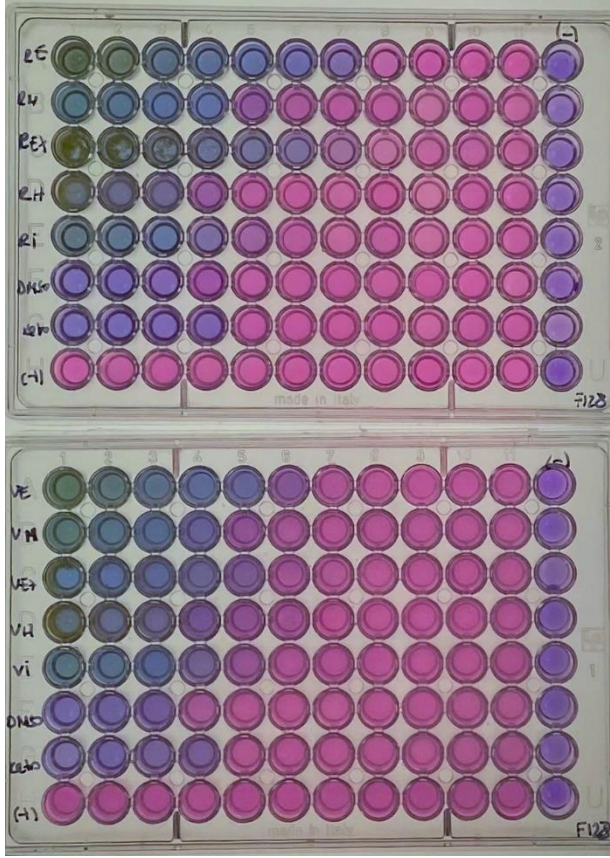
Mikrodilüsyon Yöntemi

Ekstrelerin altı *Candida* referans suşuna karşı Mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak antikandidal etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçlar minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak verilmiştir. 16000-15 µg/mL aralığında dilüe edilen ekstreler, yapılan deney sonucunda 31,25-1000 µg/mL MİK aralığında etkiler göstermiştir. Minimum fungisidal etki, tüm test edilen örneklerde 1000 µg/mL'nin üzerindedir. Standart

antikandidal madde ile karşılaştırıldığında örneklerin, kullanılan *Candida*'lara karşı zayıf inhibitör etkileri olduğu belirlenmiştir.

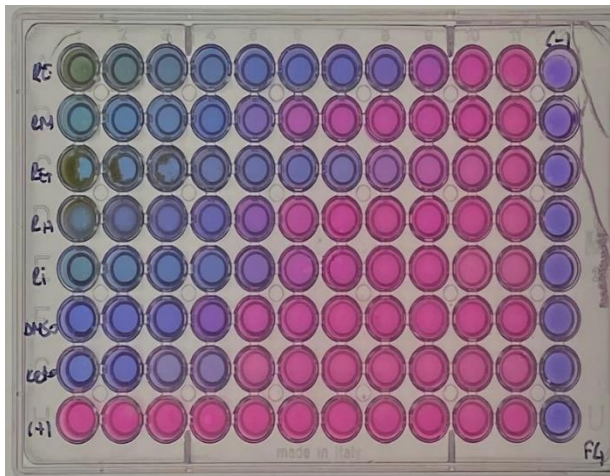
Görsel 11.5

Candida parapsilosis ATCC 22019 Suşuna Ait Sonuç



Görsel 11.6

Candida utilis NRRL Y-900 Suşuna Ait Sonuç



Tablo 11.4*Ekstrelerin Antikandidal Etki Sonuçları (µg/mL)*

(MIC, µg/mL)	R E	R M	R EA	R H	R İ	V E	V M	V EA	V H	V İ	Ketokonazol
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	250	1000	250	1000	1000	250	1000	500	1000	1000	1
<i>Candida utilis</i> NRRL Y-900	31.25	500	62.5	>1000	500	125	500	125	250	500	0.5
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	125	500	250	>1000	>1000	500	>1000	500	>1000	>1000	0.5
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	500	1000	500	1000	1000	500	1000	1000	1000	1000	0.0625
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	62.5	500	125	>1000	>1000	250	500	250	500	>1000	0.5
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	125	500	125	1000	1000	250	500	500	1000	1000	0.5

Not. Ketokonazol (16 mg/mL)

*R: *S. iberica*, E: %70 etanol, M: metanol, H: hekzan, EA: etilasetat, İ: infüzyon, V: *S. longifolia*, E: %70 etanol, M: metanol, H:hekzan, EA: etilasetat, İ: infüzyon

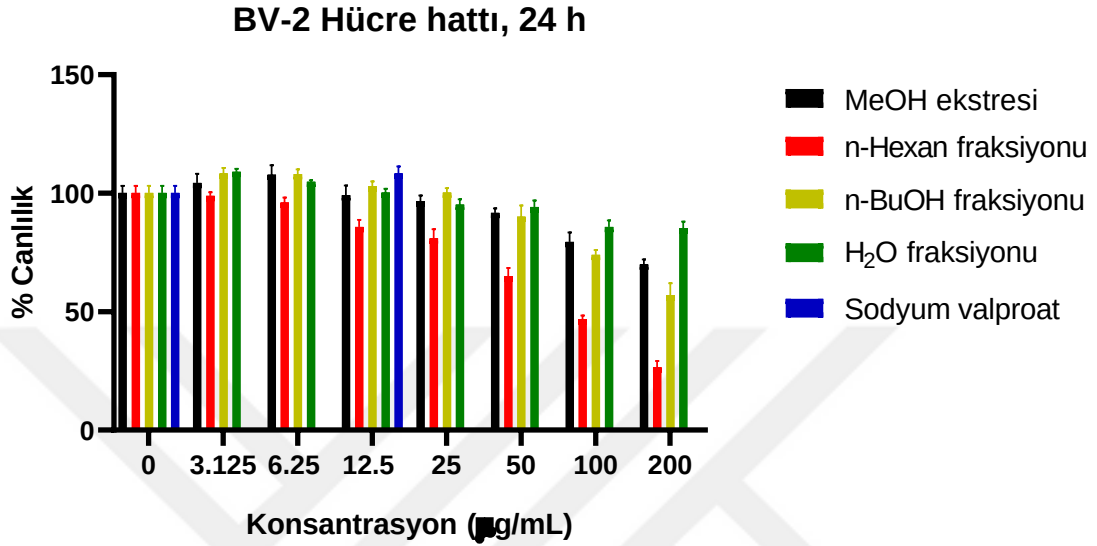
4.8.3 Nöroprotektif Aktivite Sonuçları

S. iberica türüne ait ana metanol ekstresi ve partisyon ile elde edilen fraksiyonlarının nöroprotektif etkisi BV-2 hücre hattı üzerinde MTT yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Şekil 2.6 da test edilen örneklerin 3.125-200 µg/mL konsantrasyon arasında BV-2 hücre hattı üzerinde sitotoksik etkileri gösterilmiştir. Tablo 12.1’de *S. iberica* ekstre ve fraksiyonlarının BV-2 hücre hattında IC₅₀ değerleri verilmiştir. N-hekzan fraksiyonuna ait öldürücü etki en yüksek olarak gözlemlenmiştir. Şekil 2.6 ve Tablo 12.1 incelendiğinde BV-2 hücrelerine ekstre ve fraksiyonların uygulanması sonucu

hesaplanan IC_{50} değerlerinin $50 \mu\text{g/mL}$ 'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Şekil 2.7'de *S. iberica* ekstrelerinin BV-2 hücre hattındaki nöroprotektif etkileri gösterilmiştir.

Şekil 2.6

S. iberica Ekstre ve Fraksiyonlarının BV-2 Hücre Hattındaki Sitotoksik Aktiviteleri



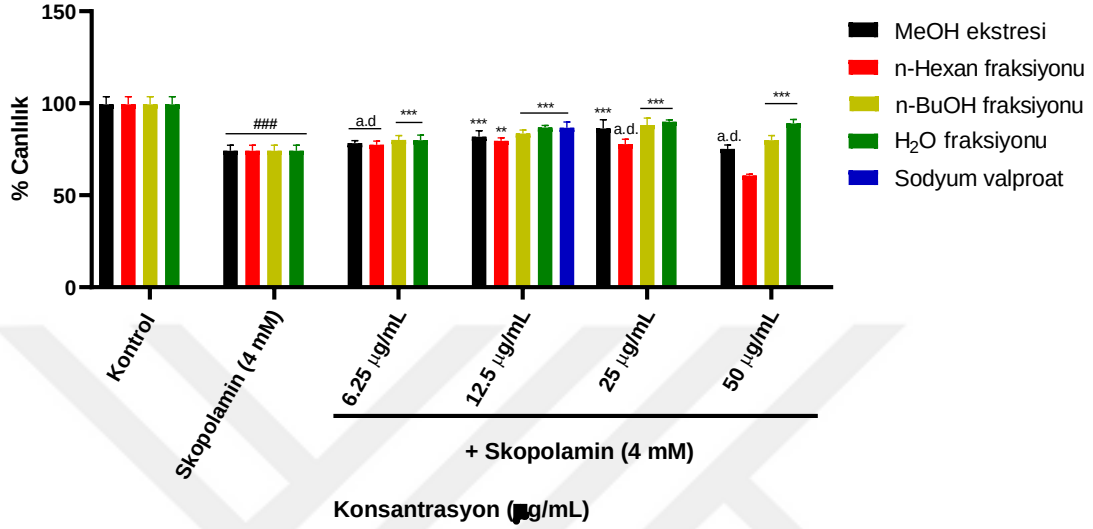
Tablo 12.1

S. iberica Ekstre ve Fraksiyonlarının BV-2 Hücre Hattında Hesaplanan IC_{50} Değerleri

Ekstreler	$IC_{50} \pm$ Standart hata ($\mu\text{g/mL}$)
MeOH ekstresi	>200
N-Hekzan fraksiyonu	85.74 $\pm$ 1.872
N-BuOH fraksiyonu	>200
H ₂ O fraksiyonu	>200

Şekil 2.7

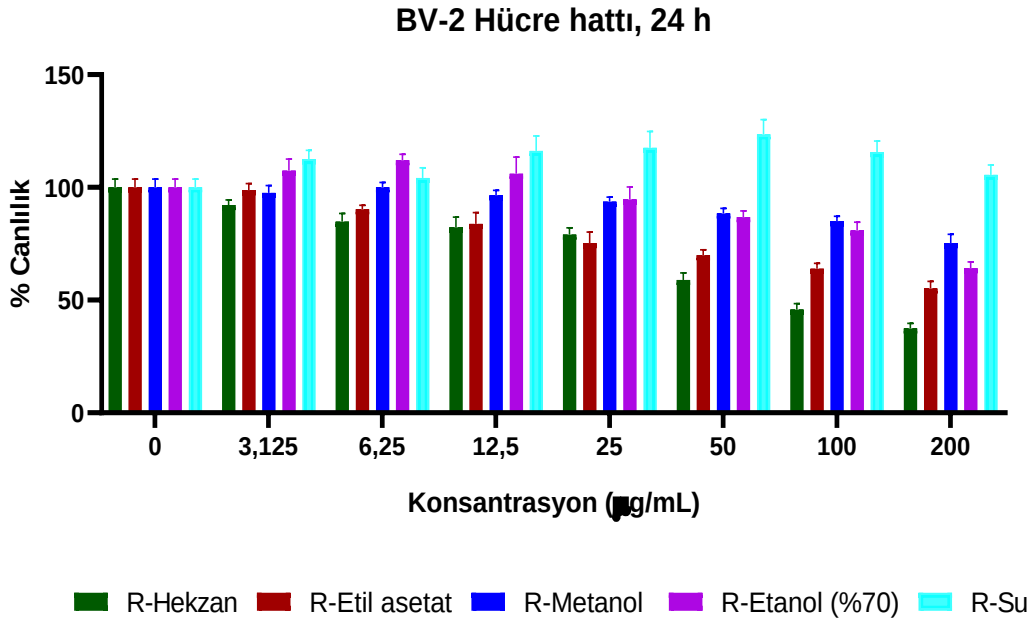
S. iberica Ekstre ve Fraksiyonlarının BV-2 Hücre Hattındaki Nöroprotektif Etkileri. Gösterilen değerler ortalama $\pm$ Standart hatadır ($n = 9$). $**p < 0.01$, $***p < 0.001$ kontrole kıyasla; $###p < 0.001$, skopolaminle indüklenenlerin kontrole kıyası. a.d. = Anlamlı değil



S. iberica ait Ekstrelerin BV-2 Hücre Canlılığına Etkisi

Şekil 2.8

S. iberica ait ekstrelerin BV-2 hücre hattında 24 saat inkübasyon süresi sonrası konsantrasyona karşı hücre canlılığı ($n=6$).



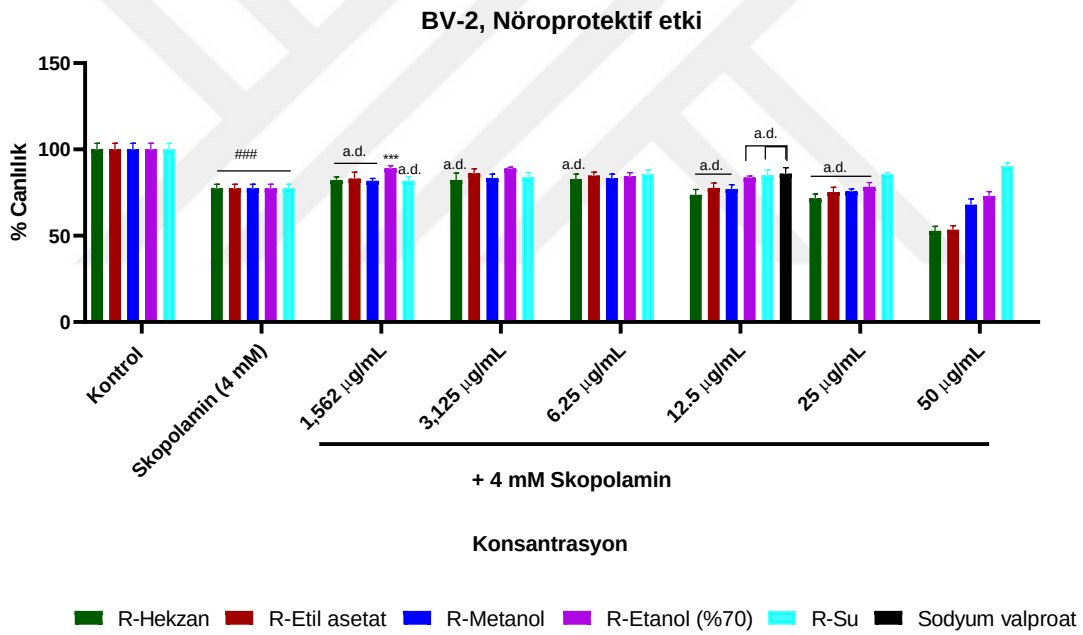
*R: *S. iberica*

Şekil 2.8 incelendiğinde metanol, etanol ve su ekstralarının ortak olarak 25 µg/mL konsantrasyonda güvenli olduğu belirlenmiştir. Ancak su ekstresinin 200 µg/mL konsantrasyon ve altında güvenli olduğu belirlendiği için ve tüm ekstraları kıyaslayabilmek için nöroprotektif etki çalışmalarına 50 µg/mL ve altındaki konsantrasyonların çalışılması uygun görülmüştür.

***S. iberica* Ait Ekstrelerin BV-2 Hücrelerinde Skopolaminle İndüklenen Hücre Ölümüne Karşı Koruyucu Etki Çalışmaları Sonuçları**

Şekil 2.9

S. iberica Ekstrelerinin BV-2 Hücre Hattındaki Nöroprotektif Etkileri. Sonuçlar ortalama±standart hata (n=6) #### $p < 0.001$ kontrol grubu ile kıyaslandığında, *** $p < 0.001$ Skopolamin grubu ile tedavi grupları kıyaslandığında. a.d. İstatistiksel olarak anlamlı değil. Herhangi bir ifade belirtilmeyen gruplar skopolaminle kıyaslandığında $p < 0.05$.



*R: *S. iberica*

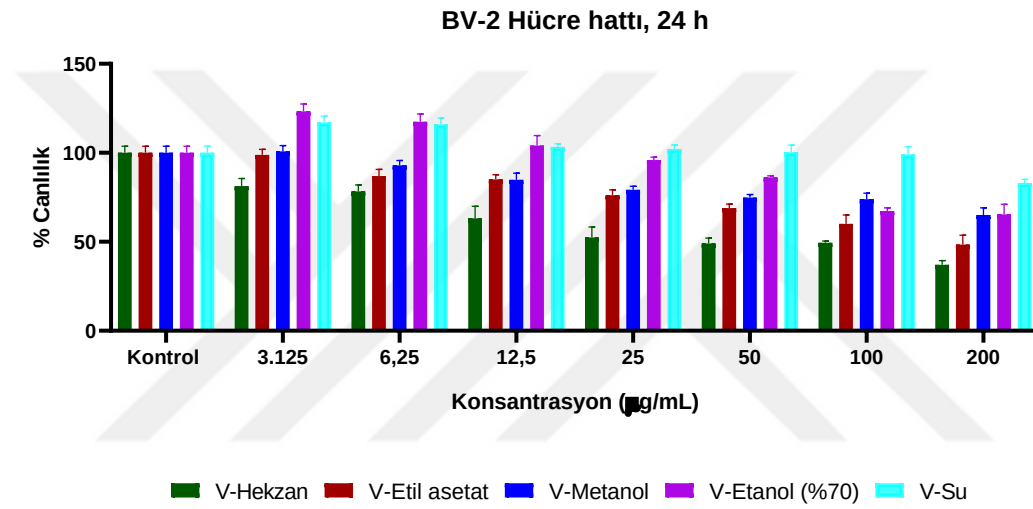
Şekil 2.9 incelendiğinde hekzan ekstresinin çalışılan konsantrasyonlarda nöroprotektif etki göstermediği, etil asetat ve metanol ekstralarının hücre canlılığını azaltmayan konsantrasyonlarından 3.125 ve 6.25 µg/mL konsantrasyonlarda etki gösterdiği, %70 etanol ekstresinin 12.5 µg/mL ve altındaki konsantrasyonlar etki gösterdiği, su ekstresinin ise 1.562 µg/mL gibi çok küçük konsantrasyon hariç çalışılan tüm konsantrasyonlarda etki gösterdiği görülmektedir. İlave olarak su ekstresinin konsantrasyona bağlı olarak

nöroprotektif etkisinin arttığı anlaşılmaktadır. Ayrıca 12.5 µg/mL konsantrasyonda etanol ve su ekstralarının etkileri bilinen bir nöroprotektif ajan olan sodyum valproat ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık içermediği dikkat çekmektedir. Yani 12.5 µg/mL konsantrasyonda etanol ve su ekstraları sodyum valproat kadar etki göstermektedir.

***S. longifolia* Ait Ekstrelerin BV-2 Hücre Hattında Canlılığa Etkisi**

Şekil 2.10

S. longifolia ait ekstraların BV-2 hücre hattında 24 saat inkübasyon süresi sonrası konsantrasyona karşı hücre canlılığı (n=6)



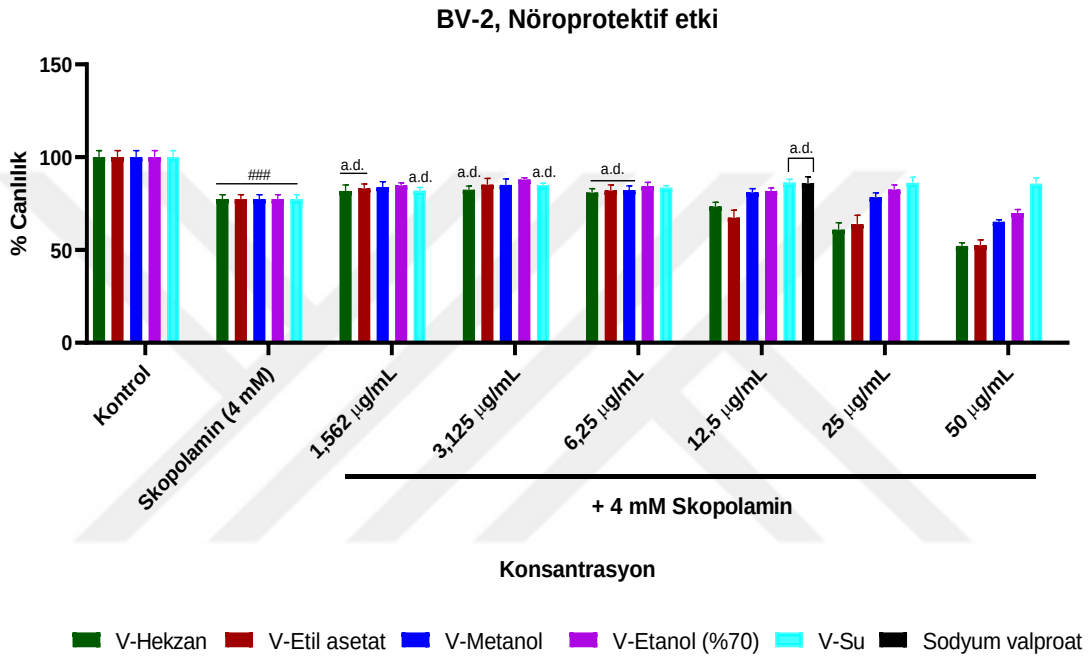
*V: *S. longifolia*

Şekil 2.10 incelendiğinde metanol, etanol ve su ekstralarının ortak olarak 25 µg/mL konsantrasyonda güvenli olduğu belirlenmiştir. Ancak su ekstresinin 100 µg/mL konsantrasyon ve altında güvenli olduğu belirlendiği için ve tüm ekstraları kıyaslayabilmek için nöroprotektif etki çalışmalarına 50 µg/mL ve altındaki konsantrasyonların çalışılması uygun görülmüştür.

***S. longifolia* Ait Ekstrelerinin BV-2 Hücrelerinde Skopolaminle İndüklenen Hücre Ölümüne Karşı Koruyucu Etki Çalışmaları Sonuçları**

Şekil 2.11

S. longifolia Ekstrelerinin BV-2 Hücre Hattındaki Nöroprotektif Etkileri. Sonuçlar ortalama±standart hata (n=6) ### p < 0.001 kontrol grubu ile kıyaslandığında, Skopolamin grubu ile tedavi grupları kıyaslandığında. a.d. İstatistiksel olarak anlamlı değil. Herhangi bir ifade belirtilmeyen gruplar skopolaminle kıyaslandığında p< 0.05.



*V: *S. longifolia*

Şekil 2.11 incelendiğinde hekzan ekstresinin çalışılan konsantrasyonlarda nöroprotektif etki göstermediği, etil asetat ekstrelerinin hücre canlılığını azaltmayan konsantrasyonlarından 3.125 µg/mL konsantrasyonda, metanol ekstresinin 1.562 ve 3.125 µg/mL konsantrasyonlarda, %70 etanol ekstresinin 25 µg/mL ve altındaki konsantrasyonlar etki gösterdiği, su ekstresinin ise 6.25 ve 50 µg/mL konsantrasyonları arasında nöroprotektif etki gösterdiği görülmektedir. İlave olarak su ekstresinin bu konsantrasyon aralığında konsantrasyona bağlı olarak nöroprotektif etkisinin arttığı anlaşılmaktadır. Ayrıca 12.5 µg/mL konsantrasyonda su ekstresinin etkileri bilinen bir nöroprotektif ajan olan sodyum valproat ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık içermediği dikkat çekmektedir. Yani 12.5 µg/mL konsantrasyonda su ekstresi sodyum valproat kadar etki göstermektedir.

4.9 Fitokimyasal Çalışma Bulguları

S. iberica bitkisinin *n*-BuOH ekstresi üzerindeki izolasyon çalışmaları

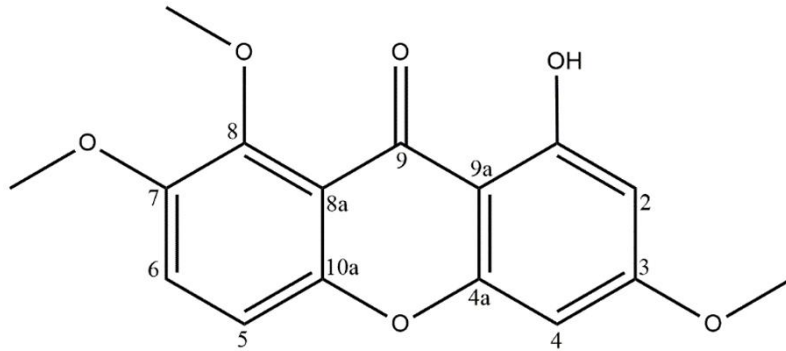
Fitokimyasal çalışmalar sonucunda; *n*-BuOH ekstresinde bir dizi kromatografik yöntemle sekonder metabolitlerin izolasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemler materyal metot yönteminde detaylı bir şekilde verilmiştir.

n-BuOH ekstresinden poliamit kolon fraksiyonları üzerinden yürütülen izolasyon çalışmalarında toplam 22 bileşik izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapısı ^1H , ^{13}C NMR spektrometresi ve kütle spektrometresi kullanılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır. Ancak NMR solvanı temininde yaşanan zorluklar nedeniyle sadece bir bileşiğin yapı aydınlatma çalışmaları tamamlanabilmiştir. Geride kalan 21 bileşiğin yapısı aydınlatılmamış olup, bu bileşikler için NMR analizleri tekrar gerçekleştirilecektir. Prep-1 Fr. (2) kodlu bileşiğinin yapısı 1-hidroksi-3,7,8-trimetoksikanton-dekussatin-olarak bulunmuştur. Bileşiğin ^1H NMR verileri literatür ile karşılaştırılarak Tablo 12.2’de verilmiştir (Şekil 3.1- Şekil 3.4).

Dekussatin

Şekil 3.1

Dekussatin bileşiğinin kimyasal yapısı



$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$ formülüne sahip, molekül ağırlığı 302 g/mol olan dekussatin (1-Hidroksi-3, 7, 8-trimetoksikanton) bileşiği *S. iberica* bitkisinin *n*-butanol ekstresinden elde edilen sarı renkli, amorf bir toz şeklinde elde edilmiştir. Bileşiğin İTK’de sarı renk vermesi flavonoit veya ksanton yapısında olabileceğini düşündürmüştür.

^1H NMR spektrumunda aromatik bölgede ikisi meta pozisyonunda (δH 6.55, d, $J= 2.2$ Hz; 6.35, d, $J= 2.2$ Hz); diğer ikisi de orto (δH 7.64 d, $J= 9.7$) Hz; 7.35, d, $J= 8.9$ Hz) pozisyonunda konumlanmış toplam 4 protona ait sinyaller gözlenmiştir. ^1H NMR spektrumunda δH 3.87 de 6 H yüksekliğinde bir geniş singlet ve δH 3.82 'de 3H şiddetinde gözlenen singlet proton sinyalleri üç metoksil grubuna aittir. Spektroskopik bulguların ışığında bileşiğin yapısı 1-Hidroksi- 3,7,8-trimetoksiksanton olarak aydınlatılmıştır. Spektroskopik bulgular literatür ile karşılaştırıldığında bulguların 1-hidroksi 3,7,8-trimetoksiksanton olarak isimlendirilen dekussatin bileşiği ile eşleştiği tespit edilmiştir (125,126).

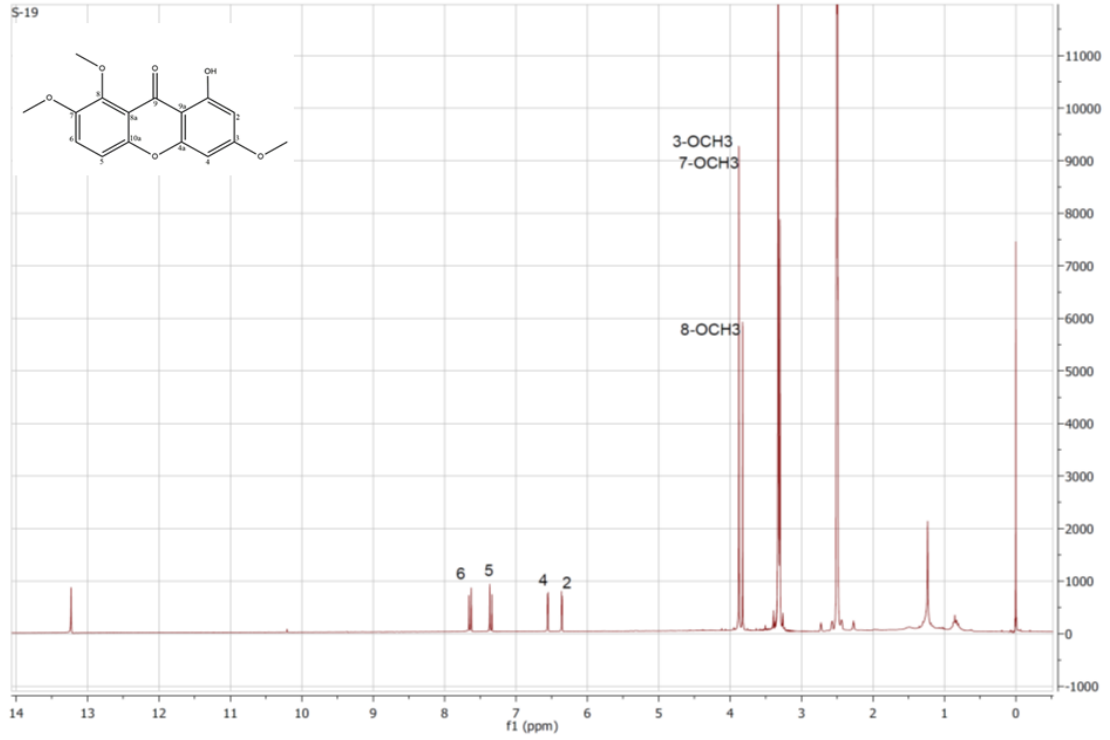
Tablo 12.2

Dekussatin'in ^1H NMR spektral değerleri (DMSO- d_6 , ^1H : 300 MHz) ve literatürdeki spektral verisi ^1H -NMR (DMSO- d_6 , ^1H :400MHz)

C/H Aglikon	δH ppm/ J (Hz)	Literatürdeki δH ppm/ J (Hz) (125,126)
1-OH	13.22 s	13.21 s
2-H	6.35 d (2.2)	6.32 s / (6.25 d (2.1))
3	-	-
4-H	6.55 d (2.2)	6.50 s / (6.30 d (2.1))
4a	-	-
10a	-	-
5-H	7.35 d (8.9)	7.30 d (9.2)
6-H	7.64 d (9.7)	7.61 d (9.6)
7	-	-
8	-	-
8a	-	-
9	-	-
9a	-	-
7-OCH ₃	3.87 s	3.87 s
8-OCH ₃	3.82 s	3.82 s
3-OCH ₃	3.87 s	3.92 s

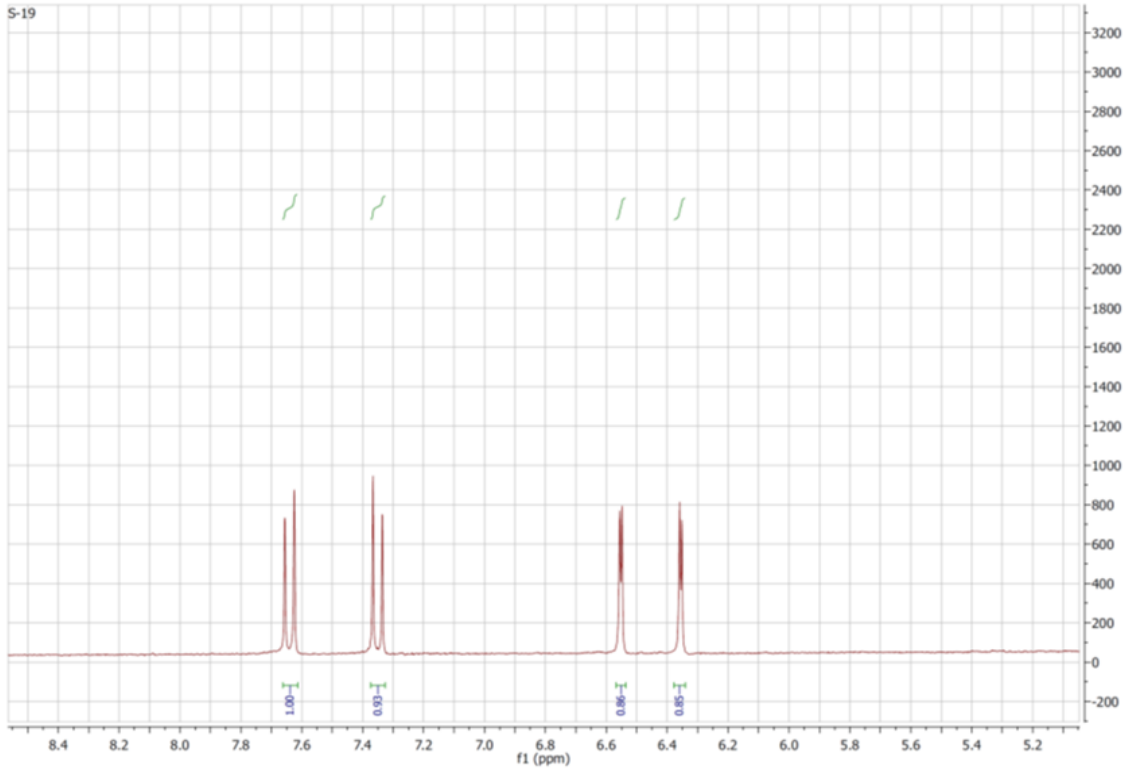
Şekil 3.2

Dekussatin (S-19)'in ^1H -NMR spektrumu (DMSO- d_6 , ^1H : 300 MHz).



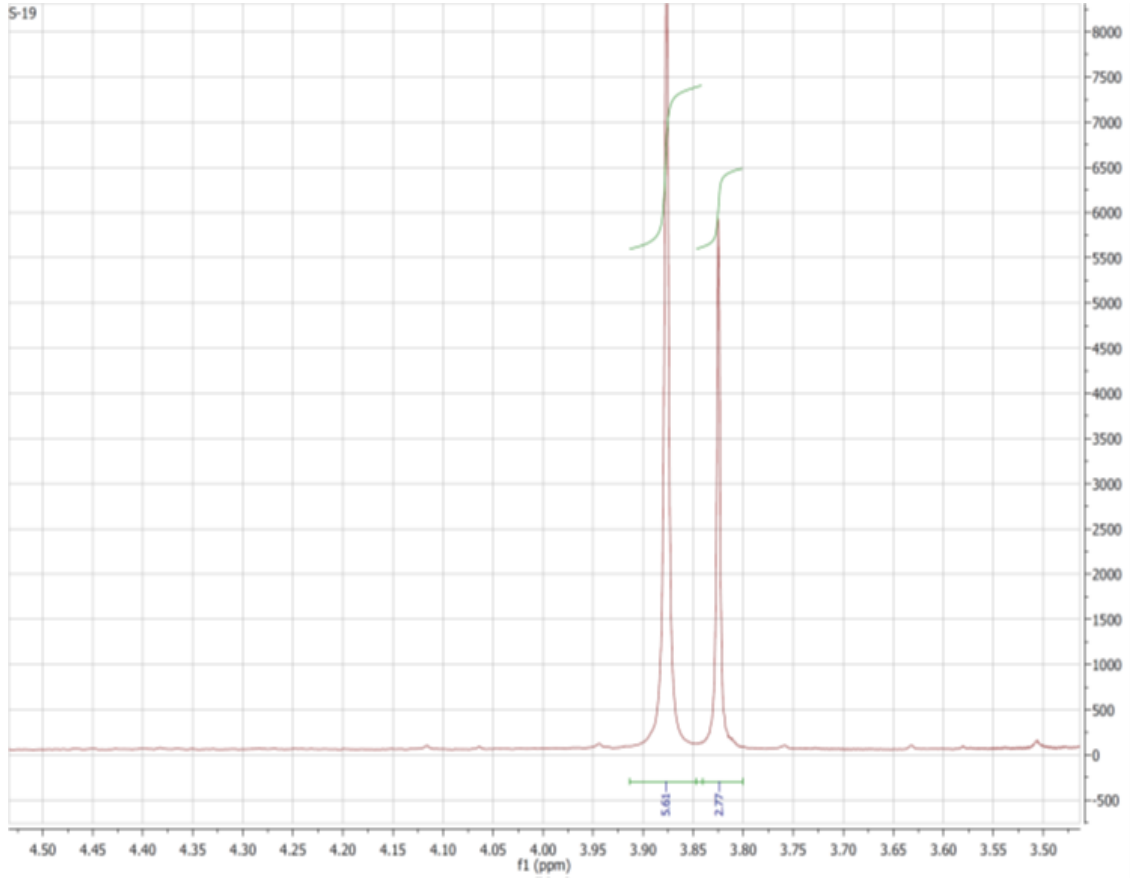
Şekil 3.3

Dekussatin (S-19)'in ^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , ^1H : 300 MHz) aromatik bölgedeki piklere ait integrasyonlar



Şekil 3.4

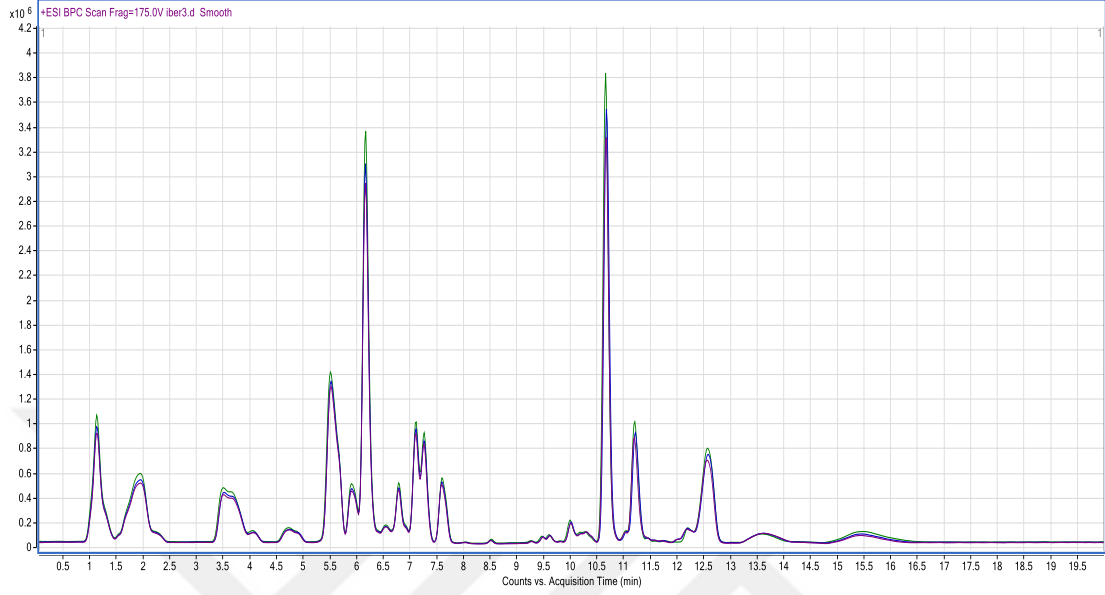
Dekussatin (S-19)'in ^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , ^1H : 300 MHz) metoksil gruplarına ait piklerin integrasyonları



Fitokimyasal çalışmalar öncesinde ilk olarak *S. iberica* ve *S. longifolia* türlerinin toprak üstü kısımlarında hazırlanan metanol ekstraktların kromatografik ayrımı, Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi (UPLC) sistemi ile gerçekleştirilmiş; dedeksiyon ise Quadrupole-Time of Flight (Q-TOF) kütle spektrometresi kullanılarak yapılmıştır. İki türün metanol ekstraktlarına ait kromatogramlar tek tek ve üst üste çakıştırılarak Şekil 3.5, Şekil 3.6 ve Şekil 3.7 de verilmiştir.

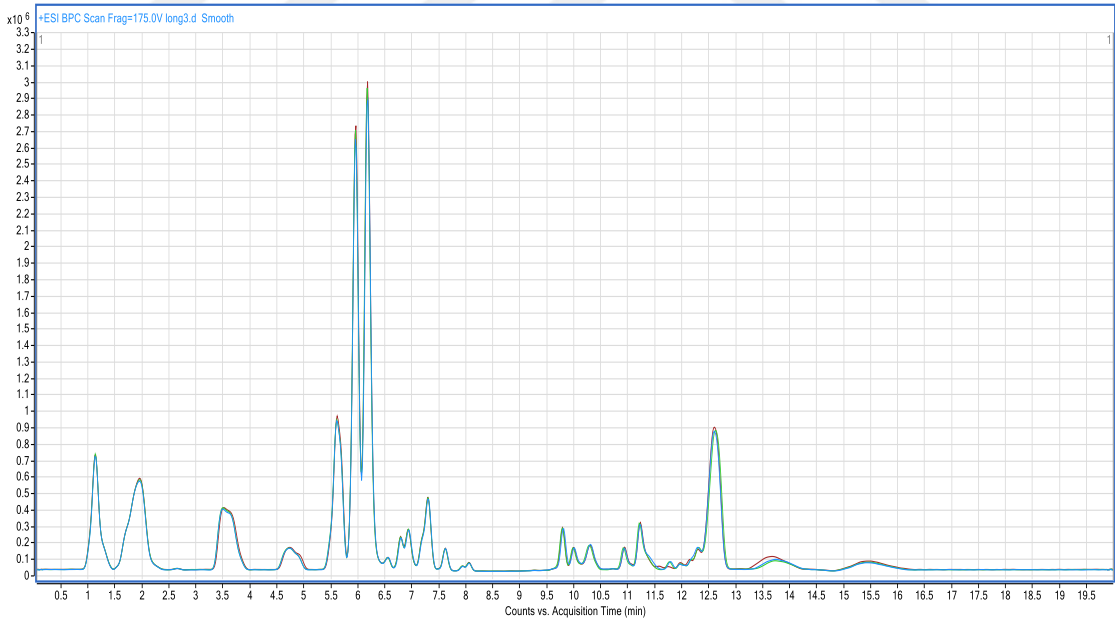
Şekil 3.5

S. iberica metanol ekstresi LC/MS Temel Pik kromatogramları



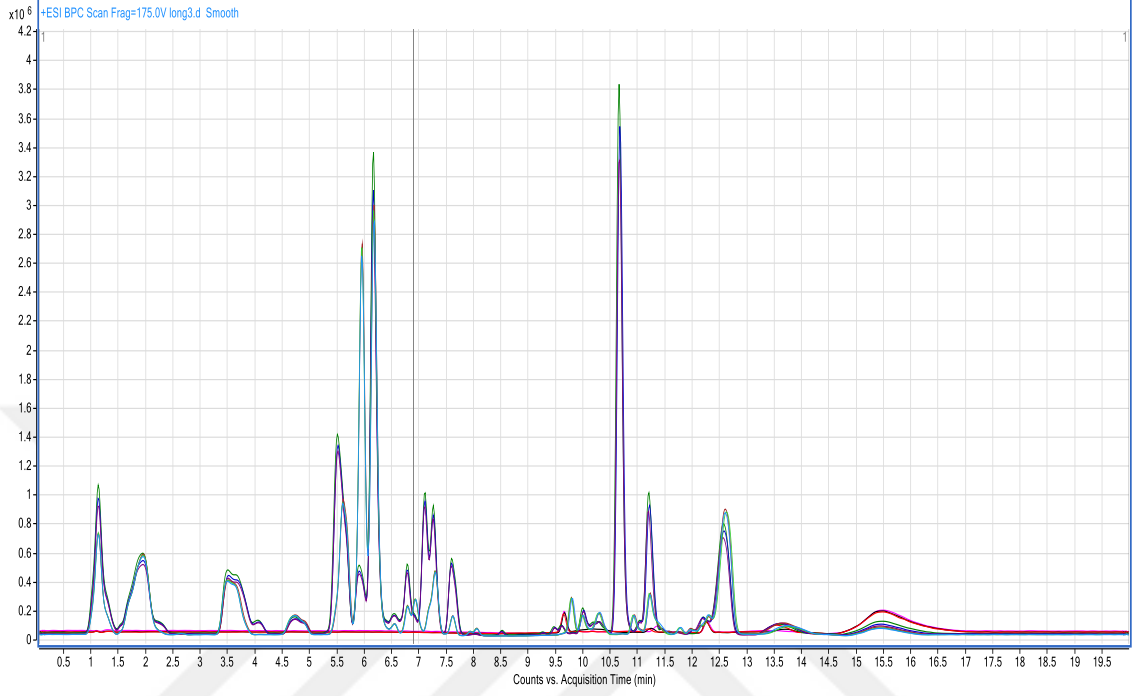
Şekil 3.6

S. longifolia metanol ekstresi LC/MS Temel Pik Kromatogramları



Şekil 3.7

İki türün metanol ekstresinin kromatogramları çakıştırılmış



5 SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

5.1 Morfolojik Sonuç, Tartışma ve Öneriler

Bu tez kapsamında Türkiye’de yetişen *Swertia* cinsine ait türler incelenmiştir. *S. iberica* türü Rize’den 2 farklı lokaliteden, *S. longifolia* türü ise Van’dan toplanmıştır. Toplanan örneklerin morfolojik özellikleri Türkiye Florası temel alınarak incelenmiştir. Türlerin morfolojik bulguları Türkiye Florası’nda geçen tür betimleriyle uyumlu olduğu görülürken, morfolojik ölçümler kapsamında bazı farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. *S. iberica* ve *S. longifolia* ait bulgular ile Florada yer alan bulgular karşılaştırmalı olarak Tablo 13.1 ve Tablo 13.2 verilmiştir. 2 türe ait özelliklerin nitel olarak karşılaştırılması Tablo 13.3 verilmiştir. Tür teşhisinde temel karakterlerin çiçek parça sayısı ve nektaryum sayısı olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda Türkiye Florasındaki *Swertia* cinsine ait tür teşhisinde türlerin gövde yapraklarının alternan/opposit, bazal yaprakların petiyolündeki attenuat yapısının hızlı veya yavaşça oluşması ve nektaryum sayısının 1 veya 2 olmasına göre teşhis edildiği bilgisi ile uyumlu olduğu görülmektedir (21). Arazi çalışmaları sırasında, *S. iberica* türüne ait popülasyonlarda beyaz renkli korollaya sahip bireyler tespit edilmiştir. Bu fenotipik varyasyon, türün karakteristik morfolojik özelliklerinden (genellikle mavi-mor tonlarında korolla rengi) belirgin şekilde sapma göstermektedir. Bu durum, söz konusu bireylerde albino mutasyon olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamız kapsamında Türkiye’de yetişen *Swertia* türleri ilk kez morfolojik olarak incelenmiştir.

Tablo 13.1

S. iberica’nın Morfolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması

Morfolojik karakterler	Bulgular	Bulgular	Türkiye Florası (6. Cilt)
	Lokale-1	Lokale-2	
Bitki Boyu	32-99 cm	32-87 cm	65-90 cm
Bazal Yapraklar	6.5-20x2.5-11.5 cm	4-17x2.5-7.5 cm	10-25x4-11cm
Petiyol	4-16 cm	2-15 cm	15 cm
Sepal boyu	5-8 mm	4-6 mm	5-8 mm
Petal boyu	10-13 mm	9-14 mm	11-15mm
Kapsül Boyu	7-13 mm	8-12 mm	10 mm

Tablo 13.2*S. longifolia* Türünün Morfolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması

Morfolojik Karakterler	Bulgular	Türkiye Florası (6. Cilt)
Bitki Boyu	31-76 cm	-
Bazal Yapraklar	5.5-14x1-2.5 cm	30x4-5 cm
Petiyol	4-9 cm	-
Sepal Boyu	5-10 mm	-
Petal boyu	9-15 mm	-
Kapsül Boyu	8-15 mm	-

Tablo 13.3*S. iberica* ve *S. longifolia* Ait Özelliklerin Nitel Olarak Karşılaştırılması

Karakterler	<i>S. iberica</i>	<i>S. longifolia</i>
Habitat	Orman altlarında, <i>Rhododendron</i> altlarında, sulak alanlarda, dere kenarlarında, kayalık diplerinde yetişir.	Kayalık diplerinde, dere kenarlarında, sulak alanlarda yetişir.
Gövde	Çok yıllık, kalın, basit, dik, dallanmamış, tek gövdeli, hafif dört köşeli, kanatlı, yeşilimsi-morumsu renkte	Çok yıllık, kalın, basit, dik, dallanmamış, tek gövdeli, hafif dört köşeli, yeşilimsi renkte
Yapraklar	Rozet yapraklar eliptik-ovata, petiyollü; gövde yaprakları eliptik, altta kalan yapraklar petiyollü üstteki yapraklar sesil, dekurrent, genellikle alternan (almaşık) nadiren opposit	Rozet yapraklar oblanseolat-spatulat, petiyollü; gövde yaprakları linear-eliptik, sesil, dekurrent, opposit
Çiçek durumu	Rasemus	Rasemus
Çiçek	Genellikle 5 parçalı, nadiren 4 parçalı, pediselli, mavi-mor renk, nadiren beyaz renkli, hipogin, brakte ve brakteol sahip, biseksüel çiçek (hem erkek hem dişi çiçek var), aktimorfik	4 parçalı, pediselli, beyaz-sarı renk, hipogin, brakte ve brakteol sahip, biseksüel, aktimorfik

Tablo 13.3(Devam) *S. iberica* ve *S. longifolia* Ait Özelliklerin Nitel Olarak Karşılaştırılması

Karakterler	<i>S. iberica</i>	<i>S. longifolia</i>
Kaliks	5 sepalli, tabana kadar parçalanmış, linear-lanseolat	4 sepalli, tabana kadar parçalanmış, lanseolat
Korolla	5 petalli, tabana kadar parçalanmış, tabanda çok sayıda fimbriata sahip 2 nektaryumlu, eliptik-ovat	4 petalli, tabana kadar parçalanmış, tabanda çok sayıda fimbriata sahip 1 nektaryumlu, eliptik-ovat
Andrekeum	5 stamenli, anterler sagitat, bazifiks bağlanma gösterir.	4 stamenli, anterler sagitat, bazifiks bağlanma gösterir.
Ginekeum	Stigma 2 loblu, sesil, ovaryuma dekurrent bağlı değil.	Stigma 2 loblu, sesil, ovaryuma dekurrent bağlı değil.
Kapsül	2 valvli, unilokular, eliptik	2 valvli, unilokular, eliptik

S. iberica türünün "Flora of the USSR"da diğer türler ile karşılaştırıldığında temel morfolojik karakteri 5 parçalı çiçek, tohumların oval, oldukça geniş halkasal bir kanatla çevrili, gövde yaprakları basit, opposit veya alternan olarak tanımlanan gruba dahil olduğu görülmektedir. Bitkinin morfolojik özellikleri USSR Florasında şu şekilde tanımlanır.

“Çok yıllık; dik, kalın, fibröz (lifli) köklerle kaplı. **Gövde** dik, basit, genellikle dallanmamış, 20-40 (60) cm. **Yapraklar** alternan, bazen üstteki yapraklar opposit, taban ve alttaki yapraklar düz kenarlı, lamina 5 damarlı, ovat, ovat-oblong, 7-10 (14) cm uzunluğunda (3) 4-8 mm genişliğinde, obtus-mukronat, gövde yaprakları 3-4 (5), alternan, boyutları kademeli olarak azalır, oblong-ovat ile lanseolat, sesil veya kısa petiyollü, akut, en üstteki 2-4 cm uzunluğunda. **Çiçek durumu** 10-30 cm, uzun panikulat, alt çiçek sapları uzun, diğerleri çiçekler kadar uzun. **Çiçekler** 5 parçalı. **Kaliks** 5-7 mm uzunluğunda, linear-lanseolat, yaklaşık korollanın yarısı uzunluğunda. **Korolla;** 11-13 mm uzunluğunda, oblong-lanseolat, akut, beyaz-sarı, genellikle noktalı koyu mavi nadiren soluk mavi, lob tabanında çift olarak nektarlı çukurlar, yuvarlak, uzun fimbriatlı. **Kapsül** oblong-ovoid, yaklaşık 10 mm uzunluğunda. **Tohum** flat, kahverengi, oval, halkalı kanatlı. Temmuz-eylül aylarında çiçeklenir. Yüksek dağlık bölgelerde sulak alanlarda yetişir. Endemik olarak tanımlanır.”(26).

USSR Florasında yer alan bitki morfolojik karakterleri ile karşılaştırma yaptığımızda çalışmamıza ait bulgular buradaki veriler ile de uyumludur. USSR ve Türkiye Florasındaki özellikler karşılaştırılmalı olarak Tablo 13.4’te verilmiştir.

Tablo 13.4

S. iberica ‘nın USSR ve Türkiye Florasındaki Özellikleri

Karakterler	USSR Florası	Türkiye Florası
Habitat	Yüksek dağlık bölgelerde sulak alanlarda yetişir. Endemik	<i>Picea</i> ve <i>Alnus</i> ormanlarının üst kısmındaki dere kenarlarında, <i>Rhododendron</i> çalılıkları, alpin çayırılık ve bataklıklarında yetişir. 1600-2700 m
Çiçeklenme Zamanı	Temmuz-Eylül	Temmuz-Ağustos
Gövde	Gövde dik, basit, genellikle dallanmamış, 20-40 (60) cm uzunluğunda	Gövde 65-90 cm, sıklıkla morumsu renkte
Yapraklar	Yapraklar alternan, bazen üstteki yapraklar opposit, taban ve alttaki yapraklar düz kenarlı, yaprak ayası 5 damarlı, ovat ile ovat-oblong, 7-10 (14) cm uzunluğunda, (3) 4-8 mm genişliğinde, obtus-mukronat, gövde yaprakları 3-4 (5), alternan, boyutları kademeli olarak azalır, oblong-ovat ile lanseolat, sesil veya kısa petiyollü, akut, en üstteki 2-4 cm uzunluğunda	Bazal yapraklar 10-25x 4-11 cm, yaprak ayası genişçe eliptik-dar ovat, petiyol 15 cm. Gövde yaprakları alternan, nadiren subopposit, dar, alttakiler petiyollü, üstekiler sesil
Çiçek durumu	Çiçek durumu 10-30 cm uzunluğunda, uzun panikulat, alt çiçek sapları uzun, diğerleri çiçekler kadar uzun	Spika, kesitisiz, daralmış simöz.
Çiçek	5 parçalı, beyaz-sarı, genellikle noktalı koyu mavi nadiren soluk mavi	Çoğunlukla 5 parçalı
Kaliks	Kaliks 5-7 mm uzunluğunda, linear-lanseolat, yaklaşık korollanın yarısı uzunluğunda	Kaliks tabana kadar parçalanmış, linear-lanseolat, 5-8 mm

Tablo 13.4(Devam) *S. iberica* 'nın USSR ve Türkiye Florasındaki Özellikleri

Karakterler	USSR Florası	Türkiye Florası
Korolla	Korollo 11-13 mm uzunluğunda, oblong-lanseolat, akut, lob tabanındaki nektaryumlar çift, çukur şeklinde, yuvarlak, uzun fimbriatlı	Korolla 11-15 mm, beyazımsı, soluk mürekkep mavisi, kırmızımsı mor, genellikle koyu mavi veya menekşe moru çizgi veya damarlı, korolla tabanında çift halinde fimbriatlı nektaryumlu
Andrekeum	5 stamenli	5 stamenli, anterler bazifiks, sagitat
Ginekeum	Stigma reniform şeklinde 2 loblu	Stigma 2 loblu, sesil, ama ovaryuma dekurrent değil
Kapsül	Kapsül oblong-ovoid, yaklaşık 10 mm uzunluğunda; tohum flat, kahverengi, oval, halkalı kanatlı	10 mm, dar eliptik, 2 valvli, tek lokullü

Dilli Prasad Rijal ve Kunjani Joshi (2007) 11 *Swertia* türüne ait morfolojik incelemelerde bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda tür anahtarında türleri temel olarak çiçek parçası, nektaryum sayısı ve nektaryumlarının fimbriatlı veya fimbriatsız oluşuna göre gruplandırmıştır (127). Çalışmamızda *S. iberica*'nın 5 parçalı çiçek ve 2 nektaryuma sahip; *S. longifolia*'nın ise 4 parçalı çiçek ve 1 nektaryuma sahip olduğu gözlenmiştir. Türkiye Florasında yer alan tür anahtarında da türler için ayırt edici özellik olarak nektaryum sayısı belirtilmiştir.

Hint tıbbında offisinal tür olan *S. chirayita*'nın morfolojik özellikleri ile bu tür ile çok sık karıştırılan dört türün (*S. alata*, *S. cordata*, *S. angustifolia*, *S. purpurascens*) morfolojik özellikleri nitel ve nicel verilerle karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. Morfolojik çalışma sonucunda, çiçek (*S. chirayita*, *S. alata* ve *S. angustifolia*'da 4 parçalı; *S. cordata* ve *S. purpurascens*'te 5 parçalı) ve gövdede (*S. alata*, *S. cordata*, *S. angustifolia* ve *S. purpurascens*'te belirgin şekilde dörtgen; *S. chirayita*'da ise alt yarıda yuvarlak, üst yarıda dörtgen) belirgin farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. *S. chirayita* çiçeğindeki her bir petal tabanında bir çift nektaryum varken diğer *Swertia* türlerinde bu sayı yalnızca birdir (128). Bu detaylı morfolojik gözlemler, her bir *Swertia* türünün doğru bir şekilde

tanımlanmasına yardımcı olmaktadır. Aynı şekilde tez bitkilerim olan iki tür için nektaryum sayısı ayırt edici özelliktir.

Offisinal tür olan *S. chirayita* ile yapılan başka bir çalışmada, bu tür ile sıkça karıştırılan türler olan *S. angustifolia*, *S. ciliata*, *S. cuneata*, *S. dilatata*, *S. nervosa*, *S. paniculata* ve *S. racemosa* morfolojik olarak incelenmiştir. Sekiz *Swertia* türü üzerinde yapılan bu çalışmada en önemli tanımlayıcı morfolojik karakterlerin korolla rengi, çiçek parçalarının sayısı (dörtlü veya beşli) ve nektaryum sayısı olduğu belirlenmiştir. Bu özellikler türlerin tanımlanması için temel morfolojik karakterler olarak listelenmiştir (129). Bu çalışma sonucu ile tez bitkilerim için elde edilen veriler karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda da korolla rengi, çiçek parçalarının sayısı (dörtlü veya beşli) ve nektaryum sayısı iki tür içinde ayırt edici olduğu görülmüştür.

Bitkiler tarih boyunca çeşitli rahatsızlıkların tedavi edilmesinde başvuru alan ilk kaynaklar olmuştur. Bu sebeple ilaç kaynağı olarak kullanılan temel ürünler haline gelmiştir. Tıbbi bitkilerin etkili, güvenilir ve standart ilaç olarak kullanılmasında ilk basamak olan doğru bitkinin seçilmesi önem kazanmış ve bitkileri detaylı şekilde morfolojik olarak tanımlamak zorunlu hale gelmiştir. Bitkinin teşhisinin doğru olması, bitki kaynaklı ürünlerin güvenli kullanımının temelidir ve doğru bitki seçimi yapılmadan, bitkilerin güvenli kullanımı garanti edilemez (128). Bu sebeple bitkilerin morfolojik olarak tanımlanması bitkisel tıbbi ilaç kullanımda doğru bitkiden doğru şekilde faydanılması konusunda önemlidir. Ülkemizde geneksel kullanımı olmamasına rağmen *Swertia* cinsi; Ayurvedik, Unani, Sidha Tıbbında ve Hint, İngiliz, Çin, Japonya ve Amerikan Farmakope'sinde yer almaktadır (13). Bu sebeple bu cinse ait türlerin morfolojik olarak tanımlanması önemlidir.

5.2 Mikromorfolojik Sonuç, Tartışma ve Öneriler

S. iberica ve *S. longifolia* türlerine ait tohum, stigma, stoma, polen, nektaryum, sepal, petal ve kapsüllerin mikromorfolojik yüzey özellikleri SEM kullanılarak görüntülenmiştir. İki tür arasında polen, sepal, petal, kapsül yüzey ornamentasyonlarının ve nektaryum sayılarının farklı olduğu görülmektedir. İki loblu, sesil stigma; iki valvlu kapsül tipi meyve, fimbiratl nektaryumlar ve anizositik stoma karakterleri her iki türde de görülmektedir. Mikroformolojik özellikler iki tür için karşılatrımali olarak Tablo 14.12'de verilmiştir. Bu türlere ait mikromorfolojik çalışmalar ilk defa bu çalışma ile gerçekleştirilmiştir.

Gentianaaceae familyasının polen morfolojisinin detaylı şekilde incelendiği bir çalışmada 32 *Swertia* türü dahil edilmiştir. Familya polen yüzey ornamentasyonun temelde üç grupta toplanmıştır. 1. grupta temelde görülen striat-retikulat (çizgili-ağsı) yapının striat deseninin tamamen kaybolup retikulat hale geldiği görülmüştür. Bunu perforat (delikli), rugulat, punktat (noktalı, punctate), pürüzsüz ekzin tabakası izlemiştir. *S. hookeri* türünde gözlenmiştir. 2. grupta striat-retikulat (çizgili ağsı) yapının sadece striat hale geldiği görülmüştür. *S. teres* türünde gözlenmiştir. 3. grupta ekinat (geniş bir tabandan $\pm$ keskin bir tepeye doğru daralan küçük çıkıntılar) yapı görülmektedir. *S. tashiroi*, *S. swertopsis*, *S. cuneata* türlerinde gözlenmiştir. *Swertia* cinsine ait polen şekillerinin ise subprolat, prolat (Ekvator çapından daha uzun bir kutup eksenine sahip polen tanesi= küresel bir şekle sahip, kutuplara doğru çekilmiş), spheroidal (küresel), perprolat olduğu görülmüştür. Chassot ve Von Hagen'nın (2008) yaptığı bu çalışma ile bulgularımız karşılaştırıldığında polenlerin 1. gruba dahil olduğu görülmektedir (130). Tez bitkilerinin polen yüzey ornamentasyonları SEM ile incelendiğinde "Illustrated Pollen Terminology" kitabı temel alınarak *S. iberica* türünün striat-retikulat, *S. longifolia* ise heterobrokat olarak tanımlanmıştır (114).

S. cordata ve *S. paniculata* türlerinin yaprakları ışık mikroskopi (DM 1000) ile incelendiğinde türlerin alt ve üst epidermisinde de stoma tiplerinin anizositik olarak görüntülenmiştir (131). Tez çalışması kapsamında iki türe ait stomaların SEM ve anatomik çalışmalar sonucunda anizositik tipte olduğu görülmektedir.

S. chirayata tohum, kapsül ve polenlerinin SEM ile incelendiği bir çalışmada tohumların şekil ve boyut olarak çok fazla çeşitlilik gösterdiği görülmüştür. Polen tanelerinin trikolpat ve yüzey ornamentasyonunun retikulat olduğu belirtilmiştir. Kapsülün lanseolat şekilde ve çok fazla sayıda tohum içerdiği görülmüştür. Tohum şekillerin oval-küresel, eliptik, yuvarlak, dikdörtgen ve bazen yanlardan basık olarak, renginin kahverengi veya kahverengi-siyah olduğu görülmüştür. Tohum kabuğu deseni retikulat-alveolat olarak belirtilmiştir (132). *S. chirayata* türü ile üzerinde çalıştığımız bitkiler olan *S. iberica* ve *S. longifolia* türlerine ait kapsül ve tohum özellikleri karşılaştırıldığında benzer olduğu, polen yüzey ornamentasyonları ve polen şekli olarak farklı özellikte olduğu görülmektedir.

2 loblu stigma, 2 valvli kapsül tipi meyve , nektaryum varlığı tüm *Swertia* türlerine ait özelliklerdir. Tohum ve polen morfolojilerindeki farklılıklar ise tür tanımlanması ve filogenetik ilişkilerin belirlenmesi için önemli karakterlerdir (21,26,127).

Nektaryumları korolladan hafifçe dışarı doğru çıkıntı yapan düz yapılar olarak gözlenen *S. kouitchensis* ve *S. bimaçulata* türleri üzerine yapılan çalışmalarda, *S. kouitchensis* korolla lobunda fimbriatlı nektaryumlar, *S. bimaçulata* ait nektaryumların ise fimbriatsız olduğu gözlenmiştir. Bu türler için nektaryumların fimbriatlı oluşu ayırt edici olmuştur (133). Tez çalışmaları sonucunda ise incelenen iki *Swertia* türünün de nektaryumların fimbriatlı, çukur şeklinde, petal tabanına yakın bir konumda olduğu görülmüştür. Bu iki özellik türler için ayırt edici özellik olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 14.1

SEM ile İncelenen Morfolojik Karakterler

İncelenen Karakter	Morfolojik	<i>S. iberica</i>	<i>S. longifolia</i>
Tohum ornamentasyonu	yüzey	Retikulat-alveolat	Retikulat-alveolat
Tohum şekil ve boyutu		Geniş çeşitlilik gösterir.	Geniş çeşitlilik gösterir.
Tohum rengi ve sayısı		Kahverengi, kahverengi- siyah, çok sayıda tohum içerir.	Kahverengi, kahverengi- siyah, çok sayıda tohum içerir.
Stigma		2 loplu	2 loplu
Stoma		Anizositik	Anizositik
Polen yüzey ornamentasyonu		Retikulat-Striat	Heterobrokat
Polen şekli		Trikolporat	Trikolporat
Nektaryum		2 nektaryum, fimbriatlı	1 nektaryum, fimbriatlı
Kapsül		2 valvli, eliptik	2 valvli, eliptik
Kapsül yüzey ornamentasyonu		Retikulat-Striat	Striat

5.3 Anatmik Sonuç, Tartışma ve Öneriler

S. iberica ve *S. longifolia* türlerinin kök, gövde ve yaprak kesitleri alınarak fotoğraflanmıştır (Görsel 7.1- Görsel 7.12). Türlerle ait anatmik özellikler Metcalfe and Chalk (1950)'da belirtilen *Gentianaceae* ait genel özellikler ile karşılaştırılmıştır (Tablo

15.1). Bu türlere ait yapılmış anatomik çalışmalar literatürde yer almamaktadır. Türlerin anatomik çalışmaları ilk kez bu tez çalışması ile yapılmıştır. Tez kapsamında incelenen 2 türün anatomik bulguları Metcalfe and Chalk (1950)'nin verileri ile genel anlamda uyumludur.

Tablo 15.1

S. iberica ve *S. longifolia* 'nın Anatomik Özelliklerinin Karşılaştırılması

Bitki organı	<i>S. iberica</i>	<i>S. longifolia</i>	Metcalfe and Chalk (1950)
Kök	1-2 sıralı, düzensiz şekilli hücrelerden oluşan epidermis tabakası yer almaktadır. - Korteks tabakası 4-8 sıralı, büyük, oval, ince çeperli, yer yer boşluklu ve nişasta taneleri taşıyan parankimatik hücrelerden oluşur. - Endodermis; tek sıralı, büyüklü küçüklü, boyuna çeperleri uzamış hücrelerden oluşur. - Tek sıralı periskıl tabakası yer yer kesintili olarak gözlenir. - Merkezi silindirin vasküler dokularını oluşturan floem ve ksilem bulunur. - En içte öz bölgesi bulunur. Öz bölgesi ksilem elemanları içerir.	- Yer yer parçalanmış, 1-2 sıralı, düzensiz şekilli hücreler epidermis tabakasını oluşturur. - Korteks tabakası 4-5 sıralı, büyük, oval, yer yer boşluklu, ince çeperli ve nişasta taneleri taşıyan parankimatik hücrelerden oluşur. - Endodermis tek sıralı, büyüklü küçüklü hücrelerden oluşur. - Tek sıralı periskıl tabakası yer yer kesintili olarak gözlenir. - Merkezi silindirin vasküler dokularını oluşturan floem ve ksilem bulunur. - En içte öz tabakası bulunur. Öz bölgesi ksilem elemanlarını içerir.	<i>Swertia</i> türlerinde kalın köklerde müsilaj ve kortekste reçineli maddeler bulunabilir. - İntersiler floem (Interxylary Phloem) vardır. - Kök tüyleri genellikle bulunmaz. - Endodermis genellikle iyi tanımlanmıştır ve çoğunlukla başlangıçta teğetsel yönde uzamış hücrelerden oluşur. <i>Swertia</i>'nın bazı türlerinde ise iki endodermal zonun, araya giren birkaç parankimatik hücre tabakası ile birbirinden ayrıldığı bildirilmiştir. - Primer vasküler yapı, neredeyse her zaman diark tiptedir. - Floem çoğunlukla parankimatik yapıdadır ancak seyrek olarak elek borusu dokularına rastlanır; bu yapı özellikle bazı <i>Swertia</i> türlerinin yumrulu (tuberos) köklerinde genişlemektedir. - Ksilem, küçük köklerde tamamen lignifikedir; büyük köklerde ise yalnızca damar elemanları lignifikedir, geri kalanı lignin içermez.

Tablo 15.1

(Devam) *S. iberica* ve *S. longifolia* 'nın Anatomik Özelliklerinin Karşılaştırılması

Bitki organı	<i>S. iberica</i>	<i>S. longifolia</i>	Metcalfe and Chalk (1950)
Gövde	- Hafif dört köşelidir. Bir çift ve bir tek kanatlı yapı taşır. - Epidermisin dış kısmı ince bir kütikula tabakası ile kaplıdır. Epidermis 2 sıralı, küçük, dikdörtgen veya kare şekilli hücrelerden oluşur. 7-8 sıralı, farklı büyüklükte oval şekilli ve yer yer nişasta taneleri taşıyan parankimatik hücrelerden oluşan korteks yer almaktadır. - Tek sıralı, dikdörtgenimsi, yer yer nişasta taneleri taşıyan endodermis bulunmaktadır. - Tek sıralı, yer yer kesintili periskıl tabakası yer almaktadır. 4-5 sıralı floem ve 18-19 sıralı ksilem yer almaktadır. Bu tabakanın altında internal floem (interksiler floem) bulunur. - Öz tabakasında, 9-10 sıralı oval, hücreler arası boşlukları çok az olan parankimatik hücreler yer alır. Bu hücrelerden sonra daha geniş hücreli parenkimatik hücreler gözlenir.	- Gövde enine kesiti hafif dört köşelidir. - Epidermis dış kısmı kalın kütikula tabakası ile kaplıdır. 2 sıralı, dalgalı, küçük, dikdörtgen veya kare benzeri hücrelerden oluşur. - Basit örtü tüyleri görülmüştür. 3-4 sıralı, farklı büyüklükte, oval şekilli ve yer yer nişasta taneleri taşıyan parankimatik korteks tabakası yer almaktadır. - Tek sıralı, dikdörtgenimsi endodermis bulunmaktadır. - Tek sıralı, yer yer kesintili periskıl tabakası yer almaktadır. 1-2 sıralı floem ve floemden sonra 22-27 sıralı ksilem vardır. - Ksilemden sonra internal floem (interksiler floem) yer almaktadır. - Gövde içi boştur. - Öz bölgesi yoktur.	- Gövde çoğunlukla dört rib ya da kanat (wing) içerir; bu kanatlar yalnızca epidermal hücrelerden oluşabileceği gibi, kollenkima da içerebilir. - Epidermis sıklıkla papillalı (papillose) yapıdadır. Primer korteks çoğu zaman lakunar (lakünlü, boşluklu) ya da sıkışık durumdadır. - Endodermis genellikle iyi tanımlanmıştır. - Perisikl, çoğunlukla yalnızca tek hücre kalınlığında ince çeperli dokulardan oluşur. - Ksilem, belirgin medullar ışınlar olmaksızın kapalı bir silindir yapısındadır. <i>Swertia</i> türlerinde floem, yalnızca ksilem halkası içinde yer alan küçük elek tüpleri gruplarından ibarettir. Dış floem, sürekli ksilem halkasına sahip türlerde yalnızca birkaç katmanlık parankimatik hücrelerle çevrili az miktarda elek tüplerinden oluşur. - İnternal (intraxylary) floem, incelenen tüm türlerde mevcuttur ya sürekli halka şeklinde ya da vasküler demetlerin iç tarafında izole demetçikler şeklinde bulunur. - Otsu türlerde öz bölgesi fistüler hale gelir ve çiçeklenme sonrası medullar floem parçalanır. - Kew'de incelenen materyalde salgı yapıları ve kristallere rastlanmamıştır.

Tablo 15.1

(Devam) *S. iberica* ve *S. longifolia* 'nın Anatomik Özelliklerinin Karşılaştırılması

Bitki organı	<i>S. iberica</i>	<i>S. longifolia</i>	Metcalf and Chalk (1950)
Yaprak	- Tek sıralı, kare ya da dikdörtgenimsi hücrelerden oluşan, kütikula tabakası ile kaplı epidermis tabakası yer alır. Çok seyrek örtü tüyleri taşır. Epidermis tabakası müsilaaj içerir. - Orta damar alt epidermise doğru belirgin bir çıkıntı yapar. Alt epidermadan sonra 7-8 sıralı, yer yer hafif boşluklu ve nişasta taneleri taşıyan parenkimatik hücreler bulunur. 2-3 sıralı floemi, 3-5 sıralı ksilem takip eder. İletim demetleri açık kollateraldir. - Stomalar yaprağın sadece alt yüzeyinde bulunur, hipostomatik yapraktır. - Stomalar anizositik tiptedir. - Yaprakta palizat ve sünger parankimasından oluşan mezofil tabakası bulunmaktadır. - Palizat parankiması 1-2 sıralı, silindriktir. Sünger parankiması 1-2 sıralıdır. - Yaprak bifasiyal tiptedir.	- Epidermis tabakası tek sıralı, kare veya dikdörtgenimsi hücrelerden oluşan, kütikula tabakası ile kaplıdır. Çok seyrek örtü tüyleri taşır. Müsilaaj içerir. - Orta damar alt epidermise doğru belirgin bir çıkıntı yapar. Alt epidermadan sonra 4-5 sıralı, yer yer boşluklu ve nişasta taneleri taşıyan parenkimatik hücreler bulunur. 4-5 sıralı floemi, 4-8 sıralı ksilem takip eder. - İletim demetleri açık kollateraldir. - Stomalar yaprağın her iki yüzeyinde de bulunur, amfistomatik yapraktır. - Stomalar anizositik tiptedir. - Yaprakta palizat ve sünger parankimasından oluşan mezofil tabakası bulunmaktadır. - Palizat parankiması 1-2 sıralı, silindriktir. Sünger parankiması 1-2 sıralıdır. - Yaprak bifasiyal tiptedir.	- Yaprak tipi dorsiventral veya isobilateral; mezofil homojen yapıdadır. - Tüyler nadir görülür. <i>Swertia</i>'da tek ve iki hücreli trikomal vardır. - Üst epidermis, antiklinal duvarları düz ya da hafifçe dalgalı olan hücrelerden oluşur; alt epidermisteki hücrelerin duvarları daha belirgin şekilde dalgalıdır. <i>Swertia</i> türlerinde yaprak ve gövde epidermisinde konik ya da uzun silindirik, sıklıkla çizgili papillalara rastlanır. - Genellikle ranunculaceous (Anomositik) tipte stoma görülür. Ancak Cruciferous (Anizositik) tipte olan stomaların yer aldığı örneklerde vardır. Çoğunlukla yaprağın alt yüzeyinde bulunur.

S. iberica ve *S. longifolia* türlerinin kök enine kesitine ait anatomik özellikleri biribiri ile benzerlik göstermektedir. Gövde enine kesiti incelendiğinde her iki tür içinde hafif dört köşeli olarak gözlenmekte olup, *S. iberica* türünün gövdesi kanatlı iken *S. longifolia* gövdesinde kanat yapısı gözlenmemiştir. *Gentianaceae* familyası için Metcalfe and Chalk (1950)' e göre karakteristik olarak ifade edilen interksiler floem yapısı her iki türün gövde enine kesitinde yer alırken kök enine kesitinde gözlenmemiştir. Yaprak enine kesiti karşılaştırıldığında *S. iberica* anizositik tipte stomalar sadece alt yüzeyde yer alırken, *S. longifolia* türünde ise yaprağın her iki yüzeyinde de yer aldığı gözlenmiştir. Türlerin anatomik çalışmaları ilk kez bu tez çalışması ile yapılmıştır.

S. kingii türüne ait hem alt yüzey hem de üst yüzey yaprak epidermis yüzeyleri incelenmiştir. Epidermis hücre şekli poligonal ve tetragonal; antiklinal duvarı kıvrımlı/dalgalı ve hafif düz olarak gözlenmiştir. Anizositik stoma ve glandular tek hücreli tüylerin bulunduğu görülmüştür (134).

S. cordata ve *S. paniculata'nın* yaprak epidermal anatomisinin kantitatif karakterleri incelendiğinde her iki türde de yaprak üst ve alt yüzeyinde de yer alan anizositik tipte stoma bulunup; epidermal hücre şekillerinin, antiklinal duvar deseni ve trikolar arasında farklılık olduğu gözlenmiştir (131).

Türler arasındaki anatomik özelliklerde gözlemlenen bu farklılıklar, geleneksel kullanımı yaygın olan bu cinse ait türlerin mikroskobik düzeyde ayırt edilmesinde önemli tanımlayıcı belirteçler sunabilir. Bu farklılıklar, taksonomik araştırmalarda türlerin birbirinden ayrılmasında ayırt edici anatomik karakterler olarak değerlendirilebilir.

5.4 Palinolojik Sonuç, Tartışma ve Öneriler

Tez bitkileri olan *S. iberica* ve *S. longifolia* türlerinin polenleri ışık mikroskobu ve SEM ile ilk kez incelenmiştir. Her iki türün de polen şeklinin monad ve trikolporat olduğu görülmüştür. Polen şeklinin bu 2 tür için ayırt edici olmadığı görülmektedir. Polen özellikleri karşılaştırmalı olarak Tablo 16.1 verilmiştir.

Tablo 16.1*Karşılaştırmalı Nitel Polen Morfolojisi*

Tür adı	Polen tipi	Polar görüntü şekli	Ekvatorial görüntü şekli	Ekzin Yapısı
<i>S. iberica</i>	Trikolporat	Dairesel	Dairesel	Striat -Retikulat
<i>S. longifolia</i>	Trikolporat	Dairesel	Dairesel	Heterobrokat

S. perennis türüne ait polen şekli monad ve trikolporat olarak görüntülenmiştir. Polen duvar süslemeleri ise striat-retikulat olarak görülmektedir (115). *S. cordata* ve *S. paniculata* türlerinin SEM ile polenleri görüntülendiğinde 2 türün polenin trikolporat ve ekzin yapısının retikulat olduğu görülmüştür (131). *S. chirayita* polenin trikolpat ve ekzin ornamentasyonun retikulat olduğu görülmüştür (132).

Swertia cinsinden 16 türe ait toplam 100 örneğin incelendiği bir çalışmada polen morfolojisinin türlerin gruplandırılmasında yararlı olduğu, ancak aynı gruptaki türler arasında ayırım yapmada bir faydası olmadığı bulunmuştur. Daha önce belirlenmiş üç polen tipi, *Crassiuscula*, *Kilimandscharica* ve *Volkensii* tipleri doğrulanmıştır. *Crassiuscula* tipindeki türler arası ve tür içi varyasyonun, sexin kalınlığı, bakula şekli ve uzantılarında olduğu belirlenmiştir. Diğer iki tipteki varyasyon ise sexin deseni, lirane şekli ve genişliğinde olduğu belirtilmiştir. Üç polen tipi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile gösterilmiştir. Bu 3 temel polen tipi ve sınıflandırması şu şekildedir. 1. *Crassiuscula* tipi: Polen taneleri dikenli, kırık benzeri veya sırt benzeri çıkıntılara sahip (*Swertia abyssinica*, *S. calycina*, *S. crassiuscula*, *S. eminii*, *S. polytnectaria*, *S. quartiniana*, *S. usambarensis*, *S. welwitschii*). 2. *Kilimandscharica*-tipi: Polen taneleri spinulosa değil, çizgili, striat-retikulat. İnce striat-retikulat desenli ve sexin kalın (*S. engleri*, *S. fimbriata*, *S. kilimandscharica*, *S. mannii*, *S. welwitschii*). 3. *Volkensii*-tipi: Polen taneleri spinulosa değil, striat, striat-retikulat. Kaba çizgili desene ve nexin kadar veya daha kalın sexine sahiptir. (*S. macrosepala*, *S. subnicalis*, *S. uniflora*, *S. volkensis*) (135). Bu çalışma ile karşılaştırıldığında, *S. iberica* ve *S. longifolia* türlerinin polenleri spinulosa değil, retikulat, sexin kalın olduğu görülmektedir. Bu sınıflandırmaya göre *Kilimandscharica*-tip polen taşırlar (136).

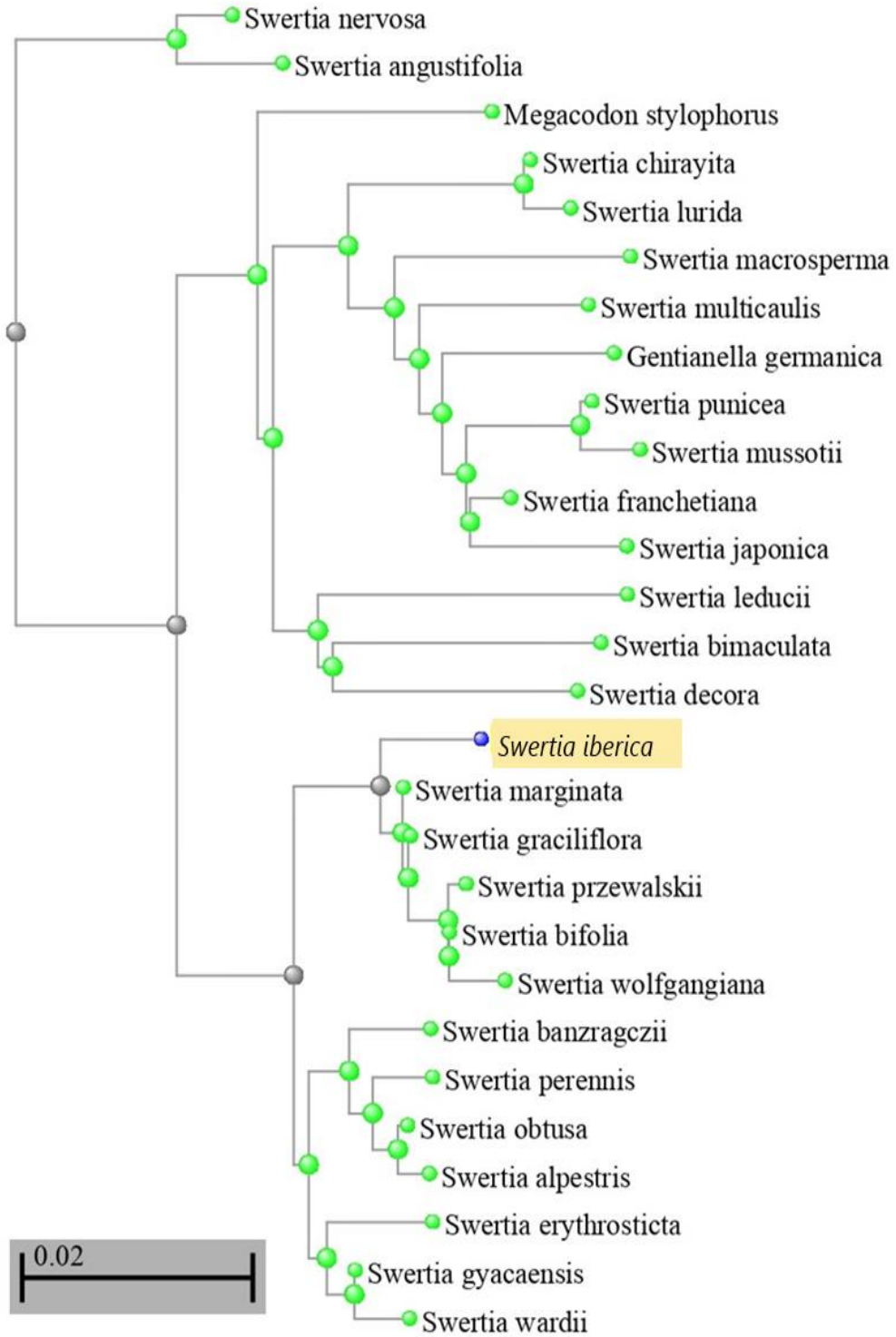
5.5 Moleküler Sonuç, Tartışma ve Öneri

S. iberica ve *S. longifolia* türlerinin ITS1-ITS4 bölgesi dizi analizleri belirlenerek NCBI Genbankası veri tabanındaki diğer türlerin verileriyle BLAST programı yardımıyla benzerlik oranları tespit edilmiştir. (Şekil 2.8 ve Şekil 2.9). *S. iberica* türünün %98.77 benzerlik oranı ile *S. marginata*; *S. longifolia*'nın %99.51 benzerlik oranı ile *S. obtusa* benzerlik gösterdiği görülmüştür. Blast programı kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaçlarda *S. longifolia* türü, *S. obtusa* ve *S. alpestris* türleriyle aynı kümede yer alırken, *S. iberica*'nın ise *S. marginata*, *S. graciliflora*, *S.przewalskii*, *S. bifolia*, *S. wolfgangiana* türleri aynı kümede yer almaktadır.



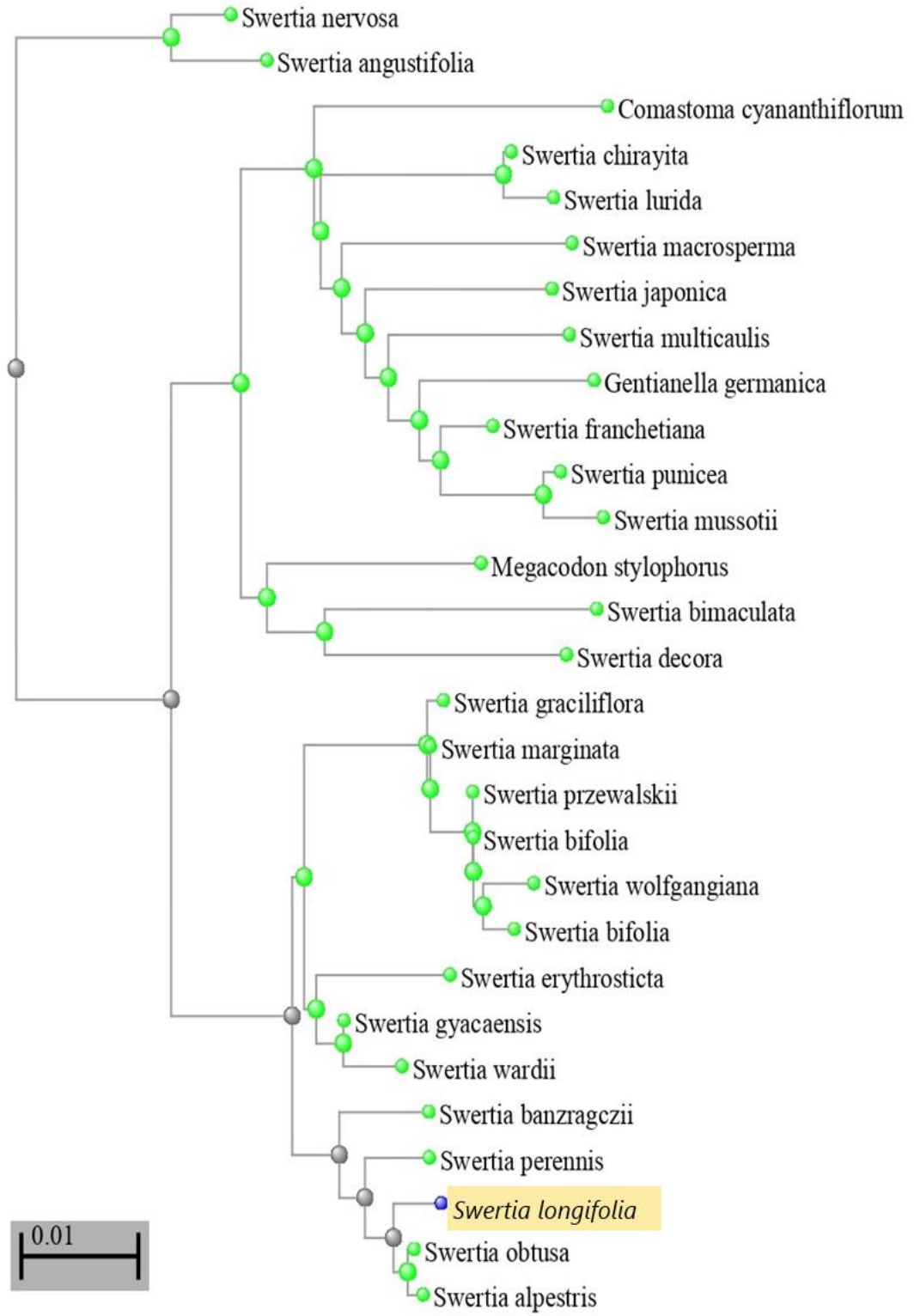
Şekil 4.1

S. iberica-Taksonların ITS Baz Dizilimlerine Göre Oluşturulan Filogenetik Ağaç (Dendrogram)



Şekil 4.2

S. longifolia ITS Baz Dizilimlerine Göre Oluşturulan Filogenetik Ağaç (Dendrogram)



Yapılan literatür taramalarında, *Swertia* cinsinin kozmopolit bir dağılım gösterdiği ve bu ekolojik çeşitlilik nedeniyle çeşitli ekotipler oluşturduğu ve polimorfik bir cins olduğu belirlenmiştir (129). Bu sebeple bitkilerin sınıflandırılmasında ve teşhisinde DNA tabanlı moleküler markerler etkili bir araç olarak öne çıkmaktadır. Aynı zamanda, özellikle Uzak Doğu geleneksel tıbbında önemli bir cins olan *Swertia* cinsine ait bitkilerin, moleküler çeşitliliğin değerlendirilmesi, gelecekte sürdürülebilir biyoçeşitlik ve genetik ıslah çalışmaları açısından büyük önem taşımaktadır. Bilinçsiz kullanıma bağlı olarak nesli tükenme altında olan bir çok tıbbi bitki için moleküler çalışmalar önem kazanmaktadır. Bu duruma örnek olarak, Uluslararası Doğayı Koruma Birliği (IUCN) tarafından, 2004'te Hindistan'ın Himalaya bölgelerinde "kritik tehlike altında", diğer bölgelerde ise "savunmasız" kategorisinde yer alan *S. chirata* örnek verilebilir. Bu sebeple tıbbi bitkilerin genetik ilişkilerinin moleküler belirteçler kullanılarak genotiplerin tanımlanması önemlidir (60).

5.6 Uçucu Yağ Analiz Sonuçları, Tartışma ve Öneri

Tez bitkilerimin çiçeklerinden elde edilen uçucu yağların bileşenleri GC/GC-MS yöntemi ile belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre bu iki bitkiye ait majör bileşik 24 karbon atomu içeren düz zincirli alkan sınıfı bileşik olan tetrakozan bileşiğidir. *S. iberica*'da %31, *S. longifolia*' da ise %25.2 oranında bulunmaktadır. Her iki türde de uzun zincirli hidrokarbonlar en yaygın bileşik sınıfıdır. Çalışmamız bu iki tür için uçucu yağ analizinin yapıldığı ilk çalışmadır.

Swertia türleri ile daha önce yapılmış uçucu yağ çalışmalarına baktığımızda; *S. densifolia* bitkisinin yapraklarından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağı incelenmiştir. Uçucu yağın (%0.026 w/w) GC/MS analizlerinin sonucunda ana bileşen olarak linalool, minör bileşen olarak ise α -terpineol, oktadekanal, stearik asit ve hidrokinon içerdiği bulunmuştur (137). *S. densifolia* çiçeklerinden hidrodistilasyon yöntemi ile %0.024 w/w verimle elde edilen uçucu yağ GC-MS kullanılarak analiz edilmiştir. Linalool (%31.7), oktadekanoik asit (%16.64), α -terpineol (%8.58) major bileşik olarak bulunduğu görülmüştür (138).

S. ciliata 'nın taze toprak üstü kısmından buhar distilasyonuyla elde edilen uçucu yağı GC/GC-MS ile analizi yapılarak toplam 54 bileşen tanımlanmıştır. Bu bileşenler arasında bulunan ana bileşikler oktadekanal %14.36, nonanal %8.56, β -linalool %7.35, 7-oktiliden bisiklo [4.1.0] heptan %6.94, metil-mirtenat %4.21 dir. Çalışma sonucuna göre

diterpenler minör bileşenler olarak bulunurken oksijenli monoterpenler ve seskiterpen hidrokarbonlar uçucu yağda ana bileşen olarak bulunmuştur (139).

S. cordata 'nın taze toprak üstü kısmından buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi GC/GC-MS tarafından analiz edilmiştir. Bu analiz sonucunda uçucu yağın monoterpen hidrokarbonlar (%4.96), oksijenli monoterpenler (%3.88), diterpenler (%2.30), oksijenli seskiterpenler (%17.58), seskiterpen hidrokarbonlar (%14.48) bakımından zengin bileşiklere sahip olduğu gösterilmiştir (140).

S. iberica ve *S. longifolia* türlerine ait uçucu yağ bileşenleri, literatür araştırılması sonucunda, *Swertia* cinsinin diğer türlerinde (*S. densifolia*, *S. ciliata*, *S. cordata*) rapor edilen linalool, oktadekanal gibi oksijenli monoterpen/seskiterpen ve hidrokarbon sınıfı bileşiklerin ağırlıklı profillerinden farklılık göstermektedir. Bu durum, cins içindeki kimyasal çeşitliliğin türlere özgü olduğunu ve ekolojik adaptasyonla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, uçucu yağ veriminin düşük olduğu türlerde (*S. densifolia*'da %0.024-0.026 w/w) ekstraksiyon yöntemlerinin optimize edilmesi ve türlerin coğrafi varyasyonlarının karşılaştırılması gelecek çalışmalar için önemli olduğu düşünülmektedir.

5.7 Biyolojik Aktivite Sonuçları, Tartışma ve Öneri

5.7.1 Antioksidan Aktivite Sonuçları, Tartışma ve Öneri

5.7.1.1 Serbest radikal süpürücü etki (DPPH• testi) değerleri

S. iberica ve *S. longifolia* toprak üstü kısmından hazırlanan ekstrelerin antioksidan kapasitesi DPPH yöntemi ile hesaplanmıştır. *S. iberica* ait en yüksek aktivite metanol ekstresinde (IC₅₀ 0.2985±0.0241 mg/mL) görülmektedir. *S. longifolia* ait en yüksek aktivite ise %70 lik etanol ekstresinde (IC₅₀ 0.2500±0.0119 mg/mL) hesaplanmıştır. Sonuçlar karşılaştırıldığında *S. longifolia* ait %70 etanol ekstresinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

S. longifolia 'nın toprak üstü kısımlarından ve köklerinden hekzan, kloroform, etil asetat, metanol, metanol:su (1:1) ve su kullanılarak ekstre elde edilmiştir. Ekstrelerin antioksidan kapasitesi DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Toprak üstü kısmında en yüksek antioksidan aktivitesi C vitamini (IC₅₀ 2.3 µg/mL) kıyasla metanol ekstresinde (IC₅₀ 28 µg/mL) görülmüştür. *S. longifolia* 'nın kök ekstrelerinde ise en yüksek aktivite etil asetat IC₅₀ 44.7 µg/mL görülmüştür. Diğer toprak üstü ekstrelerine ait IC₅₀ değerleri sırasıyla metanol: su

ekstresi 46.8 µg/mL, kloroform ekstresi 109 µg/mL, etil asetat ekstresi 112.9 µg/mL, su ekstresi 243.1 µg/mL ve hekzan ekstresi 249 µg/mL hesaplanmıştır (141).

S. chirayita (SCH), *S. angustifolia* (SAN), *S. paniculata* (SPA), *S. racemosa* (SRA), *S. nervosa* (SNE), *S. ciliata* (SCI) ve *S. dilatata'nın* (SDI) bitkilerine ait metanol ekstreleri hazırlanmıştır. Bu ekstrelerin antioksidan özelliği DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. DPPH serbest radikalleri üzerindeki süpürücü etkileri SCH (23.35±0.59 IC₅₀ µg/mL)> SPA (29.53±1.17 IC₅₀ µg/mL)> SCI (29.99±0.96 IC₅₀ µg/mL)> SDI (30.04±0.93 IC₅₀ µg/mL)> SRA (30.34±1.14 IC₅₀ µg/mL)> SNE (32.19±0.63 IC₅₀ µg/mL)> SAN (45.81±1.54 µg/mL) sırası ile göstermektedir. Askorbik asit için IC₅₀ değeri 26.73±2.13 µg/mL olarak bulunmuştur (69).

S. chirata'nın antioksidan kapasitesi standart madde olarak askorbik asit kullanılarak DPPH serbest radikal temizleme testiyle hesaplanan bir çalışmada, *S. chirata* metanol ekstresi 200 µg/mL konsantrasyonda %70 inhibisyon göstermiştir. EC₅₀ değeri 937.5 µg/mL olarak ölçülmüştür. EC₅₀, başlangıç DPPH'nı %50 oranında azaltmak için gereken antioksidan miktarını ortaya koymaktadır (142).

S. chirayita'nın yapraklarından etanol, hekzan ve etil asetat ekstreleri hazırlanmıştır. DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan aktivitesinin yüzdesi hesaplanmıştır. Ekstrelerin % inhibisyon değerleri şu şekildedir; etanol ekstresi %69.3±0.08, hekzan ekstresi %04.7±0.02, etil asetat ekstresi %48.7±0.07 (143).

S. bimaçulata kök, yaprak ve gövde kısımları ile yapılan metanol ve kloroform ekstresinin antioksidan kapasitesi DPPH yöntemi ile hesaplanmıştır. Yaprak metanol ekstresinin en yüksek antioksidan etki (IC₅₀ 4.80 µg/mL ile %93.14 inhibisyon) gösterdiği belirtilmiştir (144).

Yapılan çalışmalar ile çalıştığımız türlerin antioksidan kapasitesi kıyaslandığında bitkilerin çalışılan bitki kısımları ve ekstre hazırlama şekilleri farklılığına bağlı olarak antioksidan kapasitede farklılık olduğu görülmüştür.

5.7.1.2 Toplam Fenol Miktar Tayini

S. iberica ve *S. longifolia* bitkilerine ait ekstrelerin toplam fenol miktarı gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre en yüksek içerik her iki türde de %70 etanol ekstresinde gözlenmiştir ve *S. longifolia* ait toplam fenol içeriğinin daha yüksek olduğu görülmüştür. *S. iberica*'da

en düşük içerik infüzyonda (16.52 ± 0.1377 mg GAE/g ekstre) hesaplanırken; *S. longifolia* da ise hekzan ekstresinde (16.87 ± 0.0711 mg GAE/g ekstre) gözlenmiştir.

S. chirayita (SCH), *S. angustifolia* (SAN), *S. paniculata* (SPA), *S. racemosa* (SRA), *S. nervosa* (SNE), *S. ciliata* (SCI) ve *S. dilatata'nın* (SDI) bitkilerine ait metanol ekstreleri hazırlanmıştır. Toplam fenol içeriği Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak ölçülmüştür. *Swertia* ekstrelerinin gallik asit eşdeğeri cinsinden toplam fenol içerikleri SCH 67.49 ± 0.5 mg GAE/g, SAN 22.68 ± 0.78 GAE/g, SPA 34.01 ± 0.67 GAE/g, SRA 66.91 ± 1.02 GAE/g, SNE 54.36 ± 0.76 GAE/g, SCI 42.53 ± 0.91 GAE/g ve SDI 67.00 ± 3.63 GAE/g olarak hesaplanmıştır (69).

S. densifolia, *S. lawii*, *S. minor* ve *S. chirayita* su, metanol, etanol ve aseton çözücülerini ile hazırlanmış ekstrelerin toplam fenolik içerik (TPC) gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu yöntemi ile hesaplanmıştır. Dört türe ait en yüksek toplam fenol içeriği aseton ekstresinde gözlenmiştir. Sonuçlar türler arasında *S. chirayita'nın* en yüksek TPC miktarına (102.04 mg GAE/g) sahip olduğunu, bunu sırasıyla *S. minor*, *S. densifolia* ve *S. lawii'nin* izlediğini göstermiştir (145).

S. chirayita gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından maserasyon (metanol), infüzyon ve soxhlet ekstraksiyon (metanol) yöntemleri kullanılarak ekstre hazırlanmıştır. *S. chirayita* gövdelerindeki toplam fenolik içerik 37.57 - 39.58 mg GAE/g arasında değişmiş olup, maksimum fenolik içerik sulu infüzyon yoluyla elde edilmiştir. *S. chirayita'nın* yaprak ve çiçek kısımlarına ait toplam fenolik içerik 45.07 - 70.27 mg GAE/g arasında değişmiş olup, maksimum fenolik içerik metanol soksilasyonu yoluyla elde edilmiştir (146).

Literatür verileri ve çalıştığımız türlerin toplam fenol içerikleri karşılaştırıldığında türlerin çalışılan bitki kısımları, ekstre hazırlama şekilleri farklılığına bağlı olarak toplam fenol miktarının değiştiği görülmüştür.

5.7.2 Antimikrobiyal Sonuçlar, Tartışma ve Öneri

5.7.2.1 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları, Tartışma ve Öneri

S. iberica ve *S. longifolia* türlerine ait ekstrelerin antibakteriyel etkileri biyootografi, kuyu difüzyonu ve mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Biyootografi Dot-Blot yöntemi sonucunda *Staphylococcus aureus* ATCC 6538'a karşı sadece *S. iberica* türüne ait %70 lik etanol ekstresinde kırmızı zon oluşumu gözlenmiştir. Kuyu Difüzyon yöntemi sonucunda ise *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Escherichia coli* NRRL B-3008

suşlarına karşı herhangi bir zon oluşumu görülmemiştir. Mikrodilüsyon yöntemi sonucunda test edilen 7 suşa karşı tüm örneklerin 4000 µg/mL'nin üzerinde MİK değeri gösterdiği görülmüştür. Sonuç olarak test edilen örneklerin kullanılan suşlara karşı zayıf inhibitör etki göstermiştir.

S. chirata'nın herbası kullanılarak hazırlanan metanol ve su ekstresinin antibakteriyel etkisi kuyu difüzyon yöntemi ile 10 bakteri suşuna karşı değerlendirilmiştir. Gentamisin antibakteriyel aktivite için standart ilaç olarak kullanılan bu çalışmada metanol özütü *E. coli* karşı orta düzeyde aktivite (800 µg/mL'de 4 mm), *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı ise hiçbir aktivite göstermediği bildirilmiştir. Sulu ekstrede ise *E. coli*, 800 µg/mL'de 2 mm zon oluşturduğu, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı etkisiz olduğu bildirilmiştir (147).

S. cordata ve *S. chirayita*, Hint geleneksel tıp sistemlerinde güçlü bitkisel ilaçlar olarak kullanılan tıbbi bitkileridir. Bu iki *Swertia* türünün kök, gövde ve yaprakları ile hazırlanan metanol ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesi Kirby-Bauer agar kuyu difüzyon yöntemiyle çeşitli bakterilere karşı değerlendirilmiştir. *S. chirayita* ve *S. cordata* ekstrelerin *E. coli* suşuna karşı herhangi bir zon oluşumu görülmemiştir. *S. aureus* suşuna karşı ise en yüksek zon çapı yaprak metanol ekstresinde *S. chirayita* için 13.05±0.71 mm, *S. cordata* için ise 14.0±0.7 mm olarak ölçülmüştür (148).

S. angustifolia türünün metanol ekstresi agar kuyu difüzyonu ile *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Micrococcus luteus* (ATCC 10240), *Salmonella setubal* (ATCC 19196), *Enterobacter aerogenase* (ATCC13048), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 1705) ve *Escherichia coli* (ATCC5224) suşlarına karşı test edilmiştir. Hiçbir bakteri suşuna karşı aktivite göstermemiştir (149).

S. chirata metanol ekstresinin antibakteriyel aktivitesi, 11 gram pozitif ve 17 gram negatif bakteri üzerinde Gentamisin'e (standart ilaç) karşı kuyu difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Ekstrelerin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) Broth mikrodilüsyon seyreltme yöntemi ile belirlenmiştir. *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*'de herhangi bir inhibisyon aktivite görülmezken, *Serratia marcesens* karşı 19 mm zon inhibisyonu görülmüştür. *Serratia marcesens*'e karşı MİK değeri ise 20 mg/mL olarak bulunmuştur (142).

S. chirayita'nın sulu ve etanol ekstresinin antibakteriyel aktiviteleri, CLSI yönergeleri kullanılarak Kirby Bauer'in disk difüzyon yöntemi ve agar kuyusu yöntemi ile bazı

patojenik bakterilere karşı in vitro taraması yapılmıştır. Sonuçlar, standart antibiyotiğin (Gentamisin) inhibisyon bölgesi (mm cinsinden) temelinde değerlendirilmiştir. Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC) da değerlendirilmiştir. Etanollü ekstrenin su ekstresine kıyasla daha fazla etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. *E. coli* ATCC 25922 karşı inhibisyon zonu sulu ekstrede 12.4 ± 0.60 mm, etanollü ekstrede ise 15.8 ± 0.37 mm iken; *P. aeruginosa* ATCC 25619 suşuna karşı sulu ekstrede 6.4 ± 0.24 mm, etanollü ekstrede ise 19.8 ± 0.20 mm'dir (Gentamisin 14.0 ± 0.54 mm). *E. coli* ve *P. aeruginosa* karşı etanol ekstresinde MİK değeri >500 mg/mL, MBC değeri ise 2500 mg/mL olduğu bildirilmiştir (150).

S. chirata'nın tüm bitki kısımlarından petrol eteri, kloroform, aseton ve metanol ekstresi elde edilmiştir. Bu ekstreler *Staphylococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* bakterilerine karşı agar disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktivite açısından değerlendirilmiştir. Petrol eteri ve kloroform ekstreleri tüm mikroorganizmalara karşı etkisiz bulunmuştur. Aseton ekstresinde *S. epidermis* karşı 12 mm zon ve 20 mg/mL MİK; metanol ekstresinde *S. aureus* karşı 12 mm zon ve 10 mg/mL MİK, *S. epidermis* karşı 15 mm zon ve 10 mg/mL MİK değeri hesaplanmıştır. *E. coli* üzerinde ise tüm ekstreler etki göstermemiştir (151).

Antibakteriyel test çalışma bulgularımızın literatürde yer alan veriler ile uyumlu olduğu görülmektedir. Ekstrelerin *Escherichia coli* NRRL B-3008, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Serratia marcescens* NRRL B-2544, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine karşı antibakteriyel etki göstermediği görülmüştür.

5.7.2.2. Antikandidal Aktivite Sonuçları, Tartışma ve Öneri

Tez materyallerine ait ekstreler *Candida utilis* NRRL-Y-900 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşlarına karşı kuyu difüzyon yöntemi ile antikandidal özellikleri araştırılmıştır. Mikrodilüsyon yöntemi ile *C. albicans* ATCC 10231, *C. utilis* NRRL Y-900, *C. albicans* ATCC 90028, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258 suşlarına karşı MİK değeri belirlenmiştir. *C. utilis* NRRL-Y-900 suşuna karşı tüm örneklerde zon oluşumu görülmüştür. *C. parapsilosis* ATCC 22019 karşı ise sadece *S. longifolia*'nın %70 lik etanol ekstresi 10 mm çapında zon oluşturmuştur. 16000-15

$\mu\text{g/mL}$ aralığında dilüe edilen numuneler, yapılan deney sonucunda 31.25-1000 $\mu\text{g/mL}$ MİK aralığında etkiler göstermiştir. Standart antikandida madde Ketokonazol ile karşılaştırıldığında örneklerin, *Candida*'lara karşı zayıf inhibitör etkileri olduğu belirlenmiştir.

S. chiriyata'nın yapraklarından hazırlanan metanol ekstresinin, oral kaviteden alınan *C. albicans*'a karşı biyoaktivitesini araştırmak için, disk difüzyon ve broth dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. 5 mg/mL konsantrasyonunda oluşturduğu zon çapı 10 ± 0.43 mm, MİK değeri ise 16 ± 0.43 mg/mL olarak ölçülmüştür (152).

S. chirata metanol ekstresinin antikandida aktivitesi, 5 *Candida* türü üzerinde Griseofulvin karşı kuyu difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Örneklerin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) Broth mikrodilüsyon seyreltme yöntemi ile *C. albicans*, *C. albicans* ATCC 0383, *C. galbrata*, *C. tropicalis*, *C. kruzei* karşı belirlenmiştir. MİK değerleri sırasıyla *C. albicans* karşı 128 mg/mL, *C. albicans* ATCC 0383 karşı 120 mg/mL, *C. galbrata* karşı 100 mg/mL, *C. tropicalis* karşı 10 mg/mL, *C. kruzei* karşı 42 mg/mL ölçülmüştür (147).

S. trichotoma'nın yapraklarının metanol, diklorometan, hekzan ve aseton ekstraktları *C. albicans* karşı seri seyreltme deneyi kullanılarak MİK değerleri belirlenmiştir. *S. trichotoma*'nın MİK değerleri 0.02-0.46 mg/mL aralığındadır. Metanol ekstresinde 0.02 mg/mL MİK değeri ile en yüksek, hekzan ekstresinde ise 0.40 mg/mL MİK değeri en düşük antifungal etki göstermiştir (153).

Yapılan çalışmalarda kullanılan bitki kısımları ve çözücü polaritelerinin değişkenliği ekstraktların antibakteriyel, antikandida ve antioksidan aktivitelerini etkilediği görülmüştür. Çalışma sonuçları literatür verileri ile küçük farklılıklar ile uyumlu olduğu görülmüştür. *S. iberica* ve *S. longifolia* türlerinin biyolojik aktivite çalışmalarının kısıtlı olması sebebiyle çalışmamız bu alanda önem kazanmaktadır.

5.7.3 Nöroprotektif Aktivite Sonuç, Tartışma ve Öneri

S. iberica'nın ana metanol ekstresi, alt fraksiyonları ve her iki türün aynı yöntemle hazırlanmış 5 farklı ekstresinin sitotoksikite ve nöroprotektif etkisi MTT testi kullanılarak BV-2 hücre hattında incelenmiştir.

Türlere ait hekzan ekstraktlarının çalışılan konsantrasyonlarda nöroprotektif etki göstermediği görülürken, *S. iberica* ait etil asetat ve metanol ekstraktlarının hücre

canlılığını azaltmayan konsantrasyonlarından 3.125 ve 6.25 µg/mL konsantrasyonlarda etki gösterdiği, %70 etanol ekstresinin 12.5 µg/mL ve altındaki konsantrasyonlar etki gösterdiği, su ekstresinin ise 1.562 µg/mL gibi çok küçük konsantrasyon hariç çalışılan tüm konsantrasyonlarda etki gösterdiği görülmektedir. *S. longifolia* ait etil asetat ekstralarının hücre canlılığını azaltmayan konsantrasyonlarından 3.125 µg/mL konsantrasyonda, metanol ekstresinin 1.562 ve 3.125 µg/mL konsantrasyonlarda, %70 etanol ekstresinin 25 µg/mL ve altındaki konsantrasyonlar etki gösterdiği, su ekstresinin ise 6.25 ve 50 µg/mL konsantrasyonları arasında nöroprotektif etki gösterdiği görülmektedir.

12.5 µg/mL konsantrasyonda BV-2 hücre hattı üzerinde *S. iberica*'nın etanol ve su ekstralarının etkileri bilinen bir nöroprotektif ajan olan sodyum valproat ile kıyaslandığında sodyum valproat kadar etki gösterirken; aynı konsantrasyonda *S. longifolia* türünün ise sadece su ekstresinin sodyum valproat kadar etki gösterdiği görülmektedir.

S. iberica 'nın ana metanol ekstresi ve alt fraksiyonlarının ait sonuçların, test edilen tüm ekstraların BV-2 hücrelerinde skopolamin kaynaklı hücre hasarını iyileştirdiğini, ancak su ve *n*-butanol fraksiyonlarının özellikle 12.5-50 µg/mL dozlarında anlamlı etkiye sahip olduğunu göstermektedir ($p<0.001$). Bu çalışma, *S. iberica* ekstralarının nörodejeneratif hastalıkları ve beyin yaşlanmasını önlemek için kullanılabilecek nöroprotektif bir ajan olabileceğini düşündürmektedir. Bu sebeple fitokimyasal çalışmaların öncelikli olarak *n*-butanol ekstresi üzerinde devam edilmiştir.

Swertia türlerinin farklı kısımlarından çeşitli ekstraların ve fitokimyasalların çok çeşitli biyolojik aktive gösterildiği çeşitli çalışmalar ile kanıtlanmıştır. *Swertia* cinsi, antikanser, anti-diyabetik, antibakteriyel, antioksidan, anti-hepatit, antelmintik, anti-leishmanial, nöroprotektif aktivite dahil olmak üzere çok çeşitli etkilere sahiptir (42,154,155).

S. longifolia'nın herba ve köklerinden hazırlanan hekzan, kloroform, etil asetat, metanol, metanol:su (1:1) ve su ekstraları MDBK, MCF7, HepG2, A549 ve HT29 hücre hatlarında MTT testi kullanılarak sitotoksitesi incelenmiştir. Sonuç olarak tüm hücre hatlarında 100 µg/mL'den daha düşük konsantrasyonlarda sitotoksitesi göstermediği görülmüştür (141).

S. punicea'dan izole edilen 3 bileşik H₂O₂ ile uyarılan PC12 hücrelerine karşı nöroprotektif aktivitesi MTT testi yöntemiyle incelenmiştir. Ksanton grubu bileşikler olan puniceaside B, swertiabisxanthone-I 8'-O-β-D-glucopyranoside ve 3-O-

demethylswertipunicoside bileşiklerinin nöroprotektif aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (156).

S. pseudochinensis toprak üstü kısmından izole edilen bileşikler, nöroprotektif etkileri SH-SY5Y hücrelerinde MTT testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ksanton yapısındaki bellidifolinin oksidatif stresi azaltarak SH-SY5Y hücre hattında önemli nöroprotektif potansiyel etki bildirildi. Bileşiklerin sitotoksik etkilerini ilk olarak MTT tahlilini kullanarak incelendiğinde sonuçlar, bileşiklerin hiçbirinin 20-100 mM konsantrasyon aralığında belirgin bir toksisiteye sahip olmadığını göstermiştir. Aynı zamanda 6, 1.0 mM MPP⁺ ile işlenmiş SH-SY5Y hücrelerinin hayatta kalma oranını (yaklaşık %91) önemli ölçüde artırdığı görülmüştür ($P<0.05$). Bileşik gentiakaulein, norswertianolin, 1-hidroksi-3,5,8-trimetoksiksanton ile tedavi edilen hücrelerin canlılığı önemli oranda artmıştır. Apoptoz yolunun ve oksidatif stres hasarının inhibisyonu yoluyla nöroprotektif etki gösterdiği görülmüştür (157).

İridoid glikozitleri sınıfında yer alan Swertiamarin, nöroinflamasyon üzerindeki nöroprotektif aktivesi incelenmiştir. BV-2 hücre hattı üzerinde LPS kullanarak oluşturulan inflamasyon, 10, 25, 50 µg/mL swertiamarin bileşiğiyle tedavi edilen deney sonuçlarına göre bu bileşiğin IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını doza bağımlı bir şekilde inhibe edebildiğini gösterilmiştir (158).

Son zamanlarda *Swertia* cinsi üzerinde yapılan nöroprotektif etki çalışmaları *S. iberica* ve *S. longifolia* türlerinin daha kapsamlı araştırılmasının gerektirdiğini düşündürmektedir. Bu sebeple bu iki türe ait daha kapsamlı çalışmalar planlanmaktadır.

5.8 Fitokimyasal Çalışma Sonuçları, Tartışma ve Öneriler

Swertia cinsi, Antartika kıtası hariç ılıman bölgelerde doğal olarak yayılış göstermektedir. Cins, morfolojik ve ekolojik farklılıklar sergileyen genel olarak çok yıllık olmak üzere tek yıllık bitkilerde içermektedir. *Swertia* türleri, fitokimyasal açıdan zengin bir bileşen profiline sahiptir. Major sekonder metabolit grubu olarak ksanton ve iridoitleri bulundurmaktadır. Bununla birlikte bu cinste triterpenoitler, sekoiridoitler ve flavonoidler gibi biyoaktif bileşikler de tespit edilmiştir. Bu sekonder bileşiklerin birçok farmakolojik etkisi bulunduğu bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar bu cinse ait türlerden elde edilen kimyasalların antioksidan, hepatoprotektif, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve nöroprotektif aktiviteleri üzerine çeşitli çalışmalar rapor edilmiştir (159).

Bu çalışmada, *S. iberica* ve *S. longifolia* türlerinin toprak üstü kısımlarında hazırlanan metanol ekstrelerin kromatografik ayrımı UPLC/Q-TOF-MS analiz sonucuyla incelendiğinde 2 tür arasında belirgin benzerlikler olduğu ve her iki türün de ksanton bileşikleri açısından zengin bir içeriğe sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bununla beraber bu türler arasında içerik profillerinde de farklılık görülmektedir. UPLC/Q-TOF-MS analizleri, söz konusu bitki ekstrelerinin, 1,3,5,8-tetrahidroksiksanton, norswertianin ve mangiferin dahil olmak üzere biyolojik aktiviteye sahip ksanton bileşikleri içerdiğini doğrulamıştır (Ek-1). Veriler karşılaştırıldığında benzer içerik profili sebebiyle izolasyon çalışmaları tek tür üzerinden devam etmiştir.

Yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda *S. iberica* türüne ait *n*-butanol ekstresinden 22 saf madde izole edilmiştir. 21 bileşiğin yapısı aydınlatılmamış olup, bu bileşikler için NMR analizleri tekrar gerçekleştirilecektir. Bu maddelerden sadece 1 bileşiğin yapısı aydınlatılmıştır. Literatür ile veriler karşılaştırıldığında bu bileşiğin ksanton yapısında 1-hidroksi-3,7,8-trimetoksiksanton, dekussatin isimli bileşik olduğu anlaşılmıştır.

S. alata C.B. Clarke, *S. bifolia* Batalin., *S. decora* Franch., *S. franchetiana* Harry Sm., *S. macrosperma* C. B. Clarke, *S. nervosa* (G. Don) C. B. Clarke, *S. punicea* Hemsl., *S. chirayita* (Roxb.) H. Karst. (Syn: *S. chirata* Buch.-Ham. ex Wall.) *S. calycina* Franch. *S. paniculata* Wall., *S. angustifolia* Buch.-Ham. ex D.Don, *S. lawi* Burkill., *S. bimaclulata* (Siebold & Zucc.) C. B. Clarke, *S. racemosa* (Wall. ex Griseb.) C.B. Clarke, *S. swertopsis* Makino, *S. cuneata* D.Don türlerinden dekussatin bileşiğinin elde edildiği bildirilmiştir (50,92-98).

Swertia iberica'nın toprak üstü kısımlarından izole edilen bileşikler literatürde bellidifolosid (5-O- beta -glukopiranosil-3-metoksi-1,8-dioksiksantin), mangiferin (2-C-beta-D-glukopiranosil-1,3,6,7-tetraoksiksantin) ve 1-O-beta-primverosil-3,7,8-trimetoksiksantin olarak tanımlanırken; köklerinden elde edilen ksanton bileşikleri ise swertiaperenin, dekussatin, gentiakochlanin, norswertianin, izogentiakochianin ve swertiaiberin olarak tanımlanmıştır (51,160).

Ksantonlar, dibenzo- γ -piron heterosiklik yapısına sahip oksijenli doğal bileşiklerdir. Bu bileşikler, hidroksil, metoksil, alkil ve glikozit gibi çeşitli fonksiyonel grupların bağlanmasıyla yapısal çeşitlilik gösterir. Ksanton türevlerinden biri olan dekussatin de bu grubun önemli bir üyesidir. Bu bileşikler, antimikrobiyal, antioksidan, antiülseratif, antihiperlipidemik, antikanser ve antienflamatuvar aktiviteler dahil olmak üzere geniş bir

biyolojik etki spektrumuna sahip olduklarından farmakolojik ve fitokimyasal araştırmalarda önemli bir ilgi odağı oluşturmaktadır (58,161-164).

Gentianaceae familyasında, *Swertia* cinsine ait Türkiye’de yetişen *S. iberica* ve *S. longifolia* türleri ilk defa detaylı şekilde incelenmiştir. Bu türlere ait çalışma bulguları Farmasötik Botanik ve Farmakognozi alanında literatüre katkıda bulunmuştur.



KAYNAKÇA

1. Christenhusz, M. J., Byng, J. W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, 261(3), 201-217.
2. Fonnegra F.G. Plantas Medicinales Aprobadas en Colombia. University of Antioquia; Antioquia, Colombia: 2007.
3. Van Wyk, B. E., Wink, M. (2004). Medicinal plants of the world. *Australian Journal of Medical Herbalism*, 16(1), 36-36.
4. Farnsworth, N. R., Soejarto, D. D. (1991). Global importance of medicinal plants. The conservation of medicinal plants, 26(26), 25-51.
5. WFO-<https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000037134>. Erişim tarihi: 29.01.2025
6. Bizimbitkiler.org.tr-<https://bizimbitkiler.org.tr/v2/hiyerarsi.php?c=Swertia>. Erişim tarihi: 29.01.2025.
7. Bramley, G., Trias-Blasi, A., Wilford, R. (2023). The Kew Temperate Plant Families Identification Handbook.
8. Ting-Nong, H. O., Chun-ying, X., Wei, W. (1994). The origin, dispersal and formation of the distribution pattern of *Swertia* L. (*Gentianaceae*). *Journal of Systematics and Evolution*, 32(6), 525.
9. Dictionary of Chinese Traditional Medicine, Jiyangsu College of New Medicine, Shanghai Peoples Press, Shanghai, 1977, p. 2565.
10. Song, W. Z. (1986). General survey on medicinal plants of the *Gentianaceae* family in China. *Zhong yao Tong bao* (Beijing, China: 1981), 11(11), 3-7.
11. Chopra, R. N., Nayar, S. L., Chopra, I. C. (1956). Glossary of Indian medicinal plants. Council of Scientific and Industrial Research. p.237.
12. Kumar, V., Van Staden, J. (2016). A review of *Swertia chirayita* (*Gentianaceae*) as a traditional medicinal plant. *Frontiers in Pharmacology*, 6, 308.
13. Joshi, P., Dhawan, V. (2005). *Swertia chirayita*—an overview. *Current science*, 635-640.
14. Japon farmakopesi- Japanese Pharmacopoeia 17th Edition, march,7,2016.
15. Rybczyński, J. J., Davey, M. R., & Mikula, A. (Eds.). (2014). The *Gentianaceae*-Volume 1: Characterization and Ecology. Springer Berlin Heidelberg.
16. POWO-<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30000253-2/general-information>. Erişim tarihi: 19.05.2025.
17. Struwe, L., Pringle, J. S. (2018). *Gentianaceae: Gentianaceae* Juss., Gen. Pl. 141 (1789), “Gentianae”, nom. cons. Flowering Plants. Eudicots: Apiales, Gentianales (except Rubiaceae), 453-503.
18. Struwe L, Kadereit JW, Klackenberg J, Nilsson S, Thiv M, von Hagen KB, Albert VA (2002) Systematics, character evolution, and biogeography of *Gentianaceae*, including a new tribal and subtribal classification. In: Struwe L, Albert VA (eds) *Gentianaceae: Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 21–309.
19. Timothy Utteridge & Gemma Bramley (2020). The Kew Tropical Plant Families Identification Handbook, Second Edition. Kew Publishing Royal Botanic Gardens, Kew
20. Li, J., Zhao, Y. L., Huang, H. Y., Wang, Y. Z. (2017). Phytochemistry and pharmacological activities of the genus *Swertia* (*Gentianaceae*): a review. *The American Journal of Chinese Medicine*, 45(04), 667-736.
21. Davis, P. (1982). Flora of Turkey and The East Aegean Islands. (Vol.6). Edinburgh Univ, Pres: Edinburgh.
22. GBIF- <https://www.gbif.org/species/2503>. Erişim tarihi: 21.01.2025.
23. Gentian Reseracher Network-<https://gentian.rutgers.edu/overview.htm>. Erişim tarihi: 19.05.2025.
24. Mirzaee, F., Hosseini, A., Jouybari, H. B., Davoodi, A., Azadbakht, M. (2017). Medicinal, biological and phytochemical properties of *Gentiana* species. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(4), 400-408.
25. IPNI (2025). International Plant Names Index. Published on the Internet <http://www.ipni.org>, The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries and Australian National Herbarium. [Retrieved 19 March 2025].
26. Kirpicznikov, M. E. (1969). The Flora of the U.S.S.R. *Taxon*, 18(6), 462-470 <https://doi.org/10.2307/1218928>
27. Tübives. <http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php>. Erişim tarihi: 19.05.2025.

28. Joshi, Kunjani (2008) "Swertia L. (*Gentianaceae*) in Nepal: Ethnobotany and Agenda for Sustainable Management," *Ethnobotanical Leaflets*: Vol. 2008: Iss. 1, Article 1. Available at: <https://opensiuc.lib.siu.edu/ebf/vol2008/iss1/1>
29. Yang, Y. C. (1991). Book of Tibetan medicine. Qinghai People's Press: Xining, 111-112.
30. Fan, G., Luo, W. Z., Luo, S. H., Li, Y., Meng, X. L., Zhou, X. D., Zhang, Y. (2014). Metabolic discrimination of *Swertia musotii* and *Swertia chirayita* known as "Zangyinchen" in traditional Tibetan medicine by ¹H NMR-based metabolomics. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 98, 364-370.
31. Kakiuchi, N., Iwaki, N., Mikage, M., Xiao, H., Wang, Z., Hattori, M. (2013). Yunnanese swertia bitkilerinden elde edilen ham ilaçların filogenetik incelemesi. *Journal of Natural Medicines*, 68(1), 206-210. <https://doi.org/10.1007/s11418-013-0776-x>
32. Ambasta, S. P. (Ed.). (1986). The useful plants of India. PID, CSIR, New Delhi, p 608.
33. Thapa, L., Chaturvedi, S. B., Joshi, G. P., Pant, D. R. (2024). Antidiabetic and antioxidant activities of two alpine species of *Swertia* l. *Nepal Journal of Botany*, 42-55. <https://doi.org/10.3126/njob.v1i1.66514>
34. Kimura, Y., Sumiyoshi, M. (2011). Effects of *Swertia japonica* extract and its main compound swertiamarin on gastric emptying and gastrointestinal motility in mice. *Fitoterapia*, 82(6), 827-833.
35. Yang, H., Ding, C., Duan, Y., Liu, J. (2005). Variation of active constituents of an important Tibet folk medicine *Swertia musotii* Franch. (*Gentianaceae*) between artificially cultivated and naturally distributed. *Journal of Ethnopharmacology*, 98(1-2), 31-35.
36. Awan, A. A., Murtaza, G., Awan, Z. I., Akhter, T., Minhas, F. A. (2013). Ethnobotanical study of some highly medicinal important wild plants of Leepa valley district Muzaffarabad. *World Appl Sci J*, 22(12), 1760-1765.
37. Singh, K. N. (2012). Traditional knowledge on ethnobotanical uses of plant biodiversity: a detailed study from the Indian western Himalaya. *Biodiversity: Research and Conservation*, 28, 63-77.
38. Kamble, S. Y., Patil, S. R., Sawant, P. S., Sawant, S., Pawar, S. G., Singh, E. A. (2010). Studies on plants used in traditional medicine by Bhilla tribe of Maharashtra.
39. Kumar A. (2017). Ethnobotanical diversity and conservation status of medicinal flora at high terrains of Garhwal (Uttarakhand) Himalaya, India: A case study in context to multifarious tourism growth and peri-urban encroachments. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, 11(5), 361–366.
40. Ahluwalia, V., Elumalai, S., Kumar, V., Kumar, S. and Sangwan, R.S., 2018. Nano silver particle synthesis using *Swertia paniculata* herbal extract and its antimicrobial activity. *Microbial Pathogenesis*, 114, 402–408.
41. Bajaj, S., Fuloria, S., Subramaniyan, V., Meenakshi, D. U., Wakode, S., Kaur, A., Fuloria, N. K. (2021). Chemical characterization and anti-inflammatory activity of phytoconstituents from *Swertia alata*. *Plants*, 10(6), 1109.
42. Kshirsagar P.R., Jagtap U.B., Gaikwad N.B., Bapat V.A. (2019). Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of the medicinally potent genus *Swertia*: An update. *South African Journal of Botany*, 124, 444–483
43. Panthari, D., Saklani, K., Chandra, S., Ghosal, P., Saklani, S., & Purohit, V. K. (2024). Exploring *Swertia*: Ethnobotanical Insights, Medicinal Potential, and Conservation Strategies.
44. Tamang, M., Pal, K., Kumar Rai, S., Kalam, A., Rehan Ahmad, S. (2017). Ethnobotanical survey of threatened medicinal plants of West Sikkim. *Int J Bot Stud*, 2(6), 116-25.
45. Shrestha, N., Shrestha, S., Koju, L., Shrestha, K. K., Wang, Z. (2016). Medicinal plant diversity and traditional healing practices in eastern Nepal. *Journal of Ethnopharmacology*, 192, 292-301.
46. Pangen, B., Bhattarai, S., Paudyal, H., Chaudhary, R. P. (2020). Ethnobotanical study of Magar ethnic community of Palpa district of Nepal. *Ethnobotany Research and Applications*, 20, 1-17.
47. Mahendran, G., Manoj, M., Prasad, K. R., Bai, V. N. (2015). Antioxidants, anti-proliferative, anti-inflammatory, anti-diabetic and anti-microbial effects of isolated compounds from *Swertia corymbosa* (Grieb.) Wight ex C.B. Clark—An in vitro approach. *Food Science and Human Wellness*, 4(4), 169-179.

48. Mahendran, G., Bai, V. N. (2013). Antioxidant and anti-proliferative activity of *Swertia corymbosa* (Griseb.) Wight ex CB Clarke. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 551-558.
49. MOBOT-<https://www.mobot.org/mobot/research/APweb/>. Erişim tarihi: 19.05.2025
50. Pant, N., Jain, D. C., Bhakuni, R. S. (2000). Phytochemicals from genus *Swertia* and their biological activities.
51. Denisova, O. A., Glyzin, V. I., Patudin, A. V., Fesenko, D. A. (1980). Xanthoness from the roots of *Swertia iberica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 16(2), 145-149.
52. Hajimehdipour, H., Dijoux-Franca, M.-G., Mariotte, A.-M., Amanzadeh, Y., Sadat-Ebrahimi, S.-E., Ghazi-Khansari, M. (2006). Two new xanthone diglycosides from *Swertia longifolia* Boiss. *Nat Prod Res*, 20(13), 1251-1257.
53. Hajimehdipour, H., Amanzadeh, Y., Sadat Ebrahimi, S. E., Mozaffarian, V. (2003). Three tetraoxygenated xanthoness from *Swertia longifolia*. *Pharm Biol*, 41(7), 497-499.
54. Menković, N., Šavikin-Fodulović, K., Bulatović, V., Aljančić, I., Juranić, N., Macura, S., Milosavljević, S. (2002). Xanthoness from *Swertia punctata*. *Phytochemistry*, 61(4), 415-420.
55. Šavikin, K., Aljančić, I. S., Vajs, V. E., Milosavljević, S. M., Jadranin, M., Dorđević, I., Menković, N. R. (2015). Bioactive secondary metabolites in several genera of *Gentianaceae* species from the central regions of the Balkan Peninsula. *The Gentianaceae-Volume 2: Biotechnology and Applications*, 319-347.
56. Saeidnia, S., Ara, L., Hajimehdipour, H., Read, R. W., Arshadi, S., Nikan, M. (2016). Chemical constituents of *Swertia longifolia* Boiss. with α -amylase inhibitory activity. *Res Pharm Sci*, 11(1), 23-32.
57. Hajimehdipour, H., Dijoux-Franca, M.G., Mariotte, A.M., Amanzadeh, Y., Sadat-Ebrahimi, S.E., Ghazi-Khansari, M., Mozaffarian, V. (2008). Phytochemical Study of *Swertia longifolia*. *Daru*. 16 (4), 245-249.
58. PUBCHEM.<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Erişim tarihi: 19.05.2025.
59. Zhua, B., Zhea, W., Duana, Y., Wanga, M., Gaobc, Y., Weib, G., Liaoac, T. (2012). Two new xanthoness from *Swertia angustifolia*. *J. Asian Nat. Prod. Res*. 14, 154-158.
60. Kaur, P., Pandey, D. K., Gupta, R. C., Dey, A. (2019). Assessment of genetic diversity among different population of five *Swertia* species by using molecular and phytochemical markers. *Industrial Crops and Products*, 138, 111569.
61. Tian, L., Chen, J., Huang, F., Fang, J. (2008). Simultaneous determination of four active components in *Swertia* by RP-HPLC. *Chin. J. Nat. Med*. 6, 444-449.
62. Samaddar, T., Chaubey, B., Jha, S., Jha, T.B. (2013). Determination of Swertiamarin and amarogentin content and evaluation of antibacterial activity in Eastern Himalayan species of *Swertia* L. *Pharmacol. Commun*. 3, 64-70.
63. Wang, Z., Ma, C., Tang, S., Xiao, H., Kakiuchi, N., Kida, H., Hattori, M. (2008). Qualitative and quantitative analysis of *Swertia* herbs by high performance liquid chromatography diode array detection-mass spectrometry (HPLC-DAD-MS). *Chem. Pharm. Bull*. 56, 485-490.
64. Tian, C.W., Zhang, T. (2006). HPLC determination of Swertiamarin and gentiopicroside contents in *Swertia* herb. *Zhongcayao* 37, 442-443.
65. Singh, M., Mohan, R., Mishra, S., Goyal, N., Shankar, K., Gupta, N., Kumar, B. (2019). Ultra performance liquid chromatography coupled with principal component and cluster analysis of *Swertia chirayita* for adulteration check. *J. Pharm. Biomed. Anal*. 164, 302-308.
66. Kshirsagar, P.R., Chavan, J.J., Umdale, S.D., Nimbalkar, M.S., Dixit, G.B., Gaikwad, N.B. (2015). Highly efficient in vitro regeneration, establishment of callus and cell suspension cultures and RAPD analysis of regenerants of *Swertia lawii* Burkill. *Biotechnol. Rep*. 6, 79-84.
67. Li, F., Zhou, Y., Zhou, M.H. (2007). Quantitative determination of the high purity Swertiamarin by HPLC. *Guangpu Shiyanshi*. 24, 944-948.
68. Li, Y.L., Shang, M.Y., Geng, C.A., Zhang, X.M., Chen, J.J., Cai, S.Q. (2013). Simultaneous determination of five constituents in eight Qingyedan species derived from *Swertia* plants by HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 38, 1394-1400.
69. Khanal, S., Shakya, N., Thapa, K., Pant, D.R. (2015). Phytochemical investigation of crude methanol extracts of different species of *Swertia* from Nepal. *BMC Res. Notes* 8, 821.

70. Gao, G.Y., Li, M., Feng, Y.X., Tan, P. (1994). Determination of effective constituents in 11 *Swertia* and related plants by HPLC. *Acta Pharm. Sin.* 29, 910–914.
71. Suryawanshi, S., Mehrotra, N., Asthana, R.K., Gupta, R.C. (2006). Liquid chromatography/ tandemmassspectrometric study and analysis of xanthoneand secoiridoid glycoside composition of *Swertia chirata*, a potent antidiabetic. *Rapid Commun. MassSpectr.* 20, 3761–3768.
72. Li, Y., Wang, L., Wang, X., Sou, Y., Chen, G., Hu, F., Du, Y., You, J. (2007). Separation and determination of the major active components in Tibetan folk medicinal species *Swertia franchetiana* by HPLC with DAD. *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.* 30, 1687–1696.
73. El-Sedawy, A.L., Hattori, M., Kobashi, K., Namba, T. (1990). Metabolism of sweroside from *Swertia japonica* by human intestinal bacteria. *Shoyakugaku Zasshi.* 44, 122–126.
74. Zhou, Y., Di, Y., Gesang, S., Peng, S., Ding, L. (2006). Secoiridoid glycosides from *Swertia mileensis*. *Helvet. Chem. Acta* 89, 94–102.
75. Huang, W., Xu, C., Zhou, D., Tong, L., Ye, Z. (2007). Determination of iridoidsand triterpenes in herb of *Swertia pseudochinesis* by RP-HPLC. *Zhongguo Zhongyao Zazhi.* 32, 2494–2496.
76. Kaur, P., Pandey, D.K., Gupta, R.C., Dey, A. (2019). Simultaneous microwave assisted ex traction and HPTLC quantification of mangiferin, amarogentin, and swertiamarin in *Swertia* species from Western Himalayas. *Indust. Crops Prod.* 132, 449–459.
77. Kikuzaki, H., Kawasaki, S., Kitamura, S., Nakatani, N. (1996). Secoiridoid glucosides from *Swertia mileensis*. *Planta Med.* 62, 35–38.
78. Li, J.C., Feng, L., Sun, B.H., Ikeda, T., Nohara, T. (2005). Hepatoprotective activity of the constituents in *Swertia pseudochinensis*. *Biol. Pharm. Bull.* 23, 534–537.
79. Xia, C., Liu, G., Zhang, H. (2007). Determination of four effective consitutents in *Swertia binchuanensis* by HPLC. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao* 38, 43–46.
80. Takino, Y., Kashioka, M., Kawaguchi, M., Higashino, M., Miyahara, T., Tanizuwa, H., Ishii, Y., Higashino, M., Hayashi, T. (1980). Quantitative determination of bitter components in *Swertia herba*. *Planta Med.* 38, 35–355.
81. Zhang, X., Tian, L., Hou, J., Chen, J., Liu, Y. (2006). Study on HPLC fingerprint of *Swertia punicea*. *Chin. J. Hosp. Pharm.* 26, 922–924.
82. Kshirsagar, P.R., Gaikwad, N.B., Panda, S., Hegde, H.V., Pai, S.R. (2016). Reverse phase-ultra low liquidchromatography-diode array detectorquantification of anticancerous and antidiabetic drug mangiferin from 11 species of *Swertia* from India. *Pharmacog. Mag.* <https://doi.org/10.4103/0973-1296.176105>.
83. Zhang, Y., Zheng, Y., Xu, X., Fu, S. (2007). Quantitative determination of mangiferin in dif ferent parts of *Swertia davidi* Franch by HPLC. *Shizhen Guoxi Guoyao* 18, 789–790.
84. Xia, C., Liu, G., Wang, Y. (2007). Quantitative determination of four effective components in *Swertia delavayi* by HPLC. *Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi* 27, 598–601.
85. Cao, Y., Wang, Y., Ye, J. (2005). Differentiation of *Swertia mussotii* Franch from *artemisiae capillaries herba* by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 39, 60–65.
86. Khan, T.A., Haqqani, M.H., Nisar, N.M. (1979). Chemical investigation of *Swertia alata*. *Planta Med.* 37, 180–181.
87. Shi, G., Lu, R., Yang, Y., Li, C., Yang, A., Cai, L. (2005). Crystal structure of 1,5,8-trihydroxy-3 methoxy xanthone from *Swertia chirayita*. *J. Chem. Crystallogr.* 35, 135–139.
88. Rahman, I.U., Mohammad, A., Reinecke, M.G., Ahmad, V. (2000). Anewxanthone glucopyranoside from *Swertia ciliata*. *J. Chem. Soc. Pak.* 22, 142–151.
89. Saraswathy, A., Ariyanathan, S., (2011). 1, 5, 8-Trihydroxy-3-methoxyxanthone from *Swertia corymbosa* (Griseb.) Wight ex.C.B. Clarke. *Int. J. Pharm. Life Sci.* 2, 976–977
90. Xu, K., Li, F., Tan, J., Zheng, Z., Huang, Z., Zeng, G., Hu, G., Tan, G., (2005). HPLC determination of main constituents in *Swertia davidi* Franch. *Yaowu Fenxi Zazhi.* 25, 14–16.
91. Xu, X., Yang, J. (2005). Chemical constituents of *Swertia pubescens*. *Zhongguo YaoxueZazhi.* 40, 657–659.
92. Karan, M., Bhatnagar, S., Wangtak, P., Vasisht, K. (2005). Phytochemical and antimalarial studies on *Swertia alata* Royle. *Acta Horticult.* 42, 139–145.

93. Ji, L. (2005). Study on chemical constituents of *Swertia bifolia*. Xibei Zhiwu Xuebao. 25, 161–163.
94. Xiao, H., Lu, Y., Chen, Z.N., Liu, G.M., Qian, J.F. (2001). Chemical studies on new xanthenes from *Swertia decora*. Zhongguo Yaoxue Zazhi. 36, 302–304.
95. Wang, S.S., Xiao, H.B., Liu, X.M., Du, Y.G., Han, X.W., Liang, X.M. (2003). Xanthenes from *Swertia franchetiana*. Chin. Trad. Herb. Drugs 34, 878–879.
96. Guan, D., Zhang, Y., Xie, O. (2007). Determination of the contents of effective constituents in *Swertia macrosperma*. Zhongguo Yaofang 18, 680–681.
97. Bhatia, A., Karan, M., Vasisht, K. (2004). Xanthenes from *Swertia nervosa* Wall. Ind.J. Pharm. Sci. 708–709.
98. Ming, X., Qiu, M.H., Nie, R.L., Zhang, G.L. (2000). A new monoterpene glycoside from *Swertia punicea*. Chin. Chem. Lett. 11, 709–710.
99. Xiao, H., Liu, G.M., Wang, Z., Rao, S.Z. (2007). Chemical constituents of *Swertia devlavayi*. Zhongguo Xiandai Yingyong Yaoxue. 24, 120–121.
100. Zhang, X., Tian, L., Chen, J., Liu, Y., (2007). Chemical components of *Swertia punicea* Hemsl. Zhongcaoyao 38, 1153–1154.
101. Zi, M., Fang, X., Xiao, Y., Zhang, H.P. (2000). Study on the bioactive chemical constituents in *Swertia yunnanensis*. Linchan Huaxue Yu Gongye. 20, 85–87
102. Mukherjee, B.B., Mukherjee, S.K. (1987). Blood sugar lowering activity of *Swertia chirata* (Buch-Ham) extract. Pharma. Biol. 25, 97–102.
103. Patro, B.S., Chintalwar, G.J., Chattopadhyay, S. (2005). Antioxidant activities of *Swertia decussata* xanthenes. Nat. Prod. Res. 19, 347–354.
104. Rastogi, R.P., Mehrotra, B.N. (1979). Compendium of Indian medicinal planta. (Vol. 2). Cen tral Drug Research Institute, Lucknow and Publications and Information Directorate, New Delhi, pp. 654–655.
105. Rana, V.S., Rawat, M.S.M. (2005). A new xanthone glycoside and antioxidant constituents from the rhizomes of *Swertia speciosa*. Chem. Biodiv. 2, 1310–1315.
106. Mahendran, G., Thamotharan, G., Sengottuvelu, S., Bai, V.N., (2014). Anti-diabetic activity of *Swertia corymbosa* (Griseb.) Wight ex CB Clarke aerial parts extract in streptozotocin induced diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 151, 1175–1183.
107. Sakamoto, I., Morimoto, K., Tanaka, O., & Inouye, H. (1983). Application of high performance liquid chromatography and field desorption mass spectroscopy to separative analysis of bitter secoiridoid glucosides of *Swertia* Herba. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 31(1), 25–30.
108. Komatsu, M., Tomimori, T., & Ito, M. (1967). Studies on the constituents of *Swertia japonica*. I. On the structures of swertisin and isoswertisin. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 15(3), 263–269.
109. Wu, T. S., Tlen, H. J., & Lin, C. N. (1976). Studies on the Constituents of Formosan Gentianaceous Plants: Part 1. Constituents of *Swertia randaiensis* Hayata. Journal of the Chinese Chemical Society, 23(1), 53–55.
110. Sheng, N., Zhi, X., Yuan, L., Zhang, Z., Jia, P., Zhang, X., Wang, X. (2014). Pharmacokinetic and excretion study of three secoiridoid glycosides and three flavonoid glycosides in rat by LC–MS/MS after oral administration of the *Swertia pseudochinensis* extract. Journal of Chromatography B, 967, 75–83.
111. Zhang, Y.M., Xu, X.D., Hou, C.Y., Yang, J., (1996). Studies on chemical constituents of *Swertia pubescens* Franch. China J. Chin. Mater. Med. 21, 103–104.
112. Baytop, A. (1998). Botanik Kılavuzu İngilizce Türkçe, İstanbul Üniversitesi Yayınları.
113. Metcalfe, G.R., Chalk, L. (1950). Anatomy of the Dicotyledons, Oxford University Press, London, vol 2, pp. 933–936.
114. Halbritter, H., Ulrich, S., Grímsson, F., Weber, M., Zetter, R., Hesse, M., Frosch-Radivo, A. (2018). Illustrated pollen terminology. Springer.
115. PALDAT.<https://www.paldat.org/terminology/tools>.Erişim tarihi: 19.05.2025.
116. White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18(1), 315–322.
117. Baser, K. H. C., Demirci, B., Demirci, F., Kirimer, N., Hedge, I. C. (2001). Microdistillation as a useful tool for the analysis of minute amounts of aromatic plant materials. Chemistry of Natural Compounds, 37, 336–338.

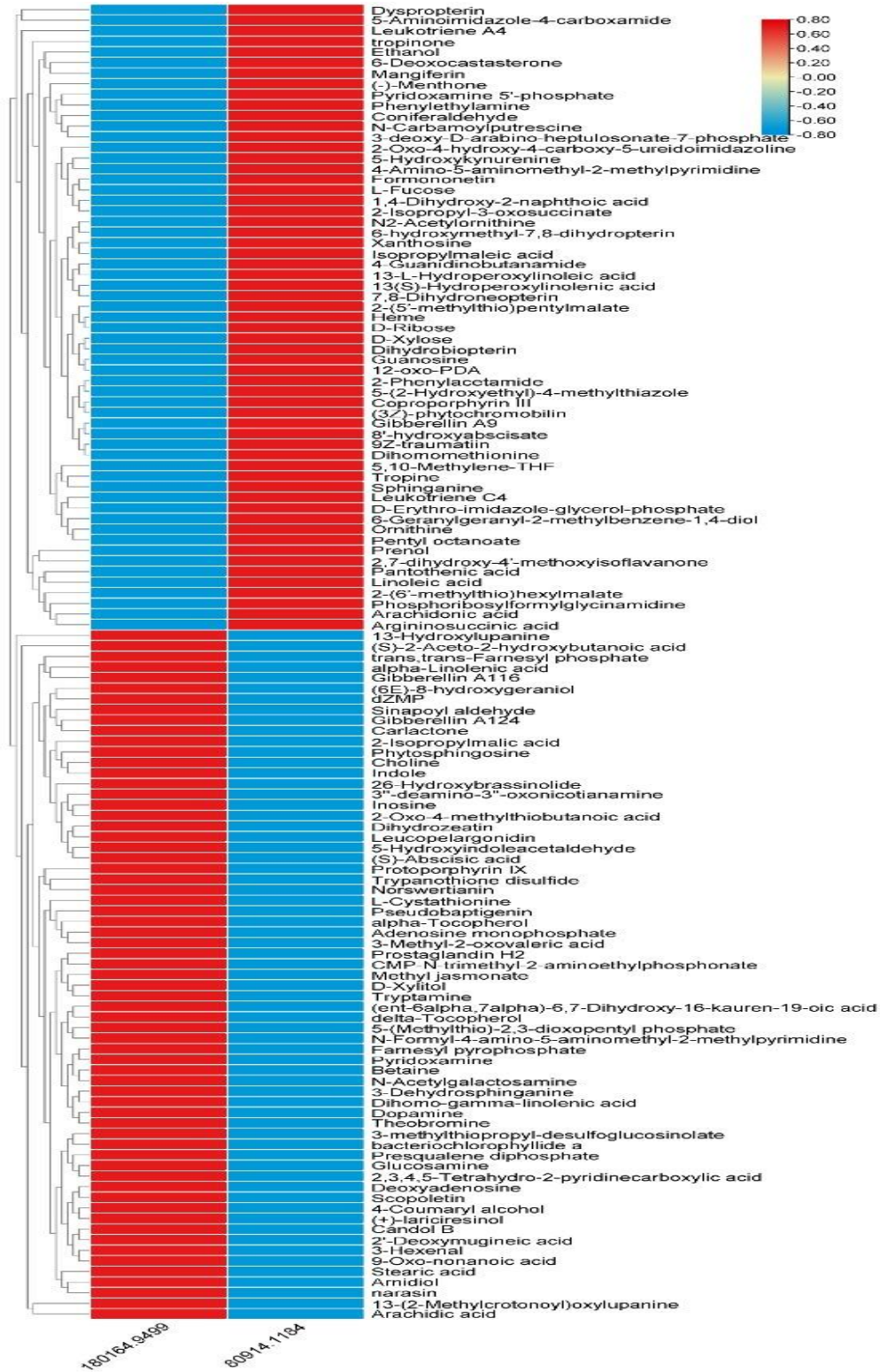
118. Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P.J., Jaspars, M., Nahar, L., Sarker, S.D. (2007). Screening seeds of some Scottish plants for free radical scavenging activity. *Phytother. Res.* 21 (7), 615-621. <https://doi.org/10.1002/ptr.2129>.
119. Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. *Method Enzymol.* 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
120. Sherma J. (2018). Review of the Determination of the Antioxidant Activity of Foods, Food Ingredients, and Dietary Supplements by Thin Layer ChromatographyDirect Bioautography, Spectrometry, and the Dot-Blot Procedure. *Journal of AOAC International*, 101(5), 1285–1294. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0116>
121. CLSI (NCCLS) M7-A7, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard, Seventh Edition, 2006
122. CLSI (NCCLS) M27-A2 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—Second Edition; 2002
123. Tolosa, L., Donato, M. T., Gómez-Lechón, M. J. (2014). General cytotoxicity assessment by means of the MTT assay. In *Protocols in in vitro hepatocyte research* (pp. 333-348). New York, NY: Springer New York.
124. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55-63.
125. Jia, J., Chen, T., Wang, P., Chen, G., You, J., Liu, Y., Li, Y. (2012). Preparative Separation of methylswertianin, swerchirin and decussatin from the Tibetan medicinal plant *Swertia mussoitii* using high-speed counter-current chromatography. *Phytochemical Analysis*, 23(4), 332-336.
126. Tang, L., Cui, J., & Zhou, S. X. (2009). Xanthones from *Comastoma pedunculatum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 45, 733-734.
127. Rijal, D. P., & Joshi, K. (2007). Study of Morphological Variation of Species of *Swertia* L. (*Gentianaceae*).
128. Mehta, A., Raina, R., Rana, R. C., & Pal, Y. (2017). Comparative morphological studies of some *Swertia* species. *J Pharmacogn Phytochem*, 6(1), 482-487.
129. Rijal, D. P. (2009). Taxonomic study of some medicinally important species of *Swertia* L. (*Gentianaceae*) in Nepal. *Botanica Orientalis: Journal of Plant Science*, 6, 18-24.
130. Chassot, P., & Von Hagen, K. B. (2008). Pollen morphology of the Swertiinae (*Gentianaceae*): phylogenetic implications. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 157(2), 323-341.
131. Rashid, S., Ahmad, M., Zafar, M., Sultana, S., Ahmad, S. N., Yaseen, G., Afza, R. (2019). Microscopic and phytochemical techniques as a tool for authentication of herbal drug chiraita: *Swertia cordata* (G. Don) CB Clarke. *Microscopy Research and Technique*, 82(7), 1092-1101.
132. Chandra, S., Kumar, V., Bandopadhyay, R., & Sharma, M. M. (2012). SEM and elemental studies of *Swertia chirayita*: a critically endangered medicinal herb of temperate Himalayas. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 6(3), 381-388.
133. Wang, S., Fu, W. L., Du, W., Zhang, Q., Li, Y., Lyu, Y. S., & Wang, X. F. (2018). Nectary tracks as pollinator manipulators: The pollination ecology of *Swertia bimaculata* (*Gentianaceae*). *Ecology and Evolution*, 8(6), 3187-3207
134. Hameed, A., Zafar, M., Ullah, R., Shahat, A. A., Ahmad, M., Cheema, S. I., Majeed, S. (2020). Systematic significance of pollen morphology and foliar epidermal anatomy of medicinal plants using SEM and LM techniques. *Microscopy Research and Technique*, 83(8), 1007-1022.
135. Jonsson, L. (1973). Pollen morphology in African species of *Swertia* L. (*Gentianaceae*). *Grana*, 13(2), 119-128.
136. Hedberg, O. (1957). Afroalpine vascular plants. A taxonomic revision. - *Symb. bot. Upsal.* 15.
137. Naik, D. G., Dandge, C., Puntambekar, H., & Deshpande, P. (2008). Chemical examination of *Swertia densifolia* leaf essential oil and its repellent activity towards *Apis cerana indica* F. *Journal of apicultural research*, 47(1), 63-67.
138. Naik, D. G., Vaidya-Kannur, H., Deshpande, P. V., Dandge, C. N., & Reddy, G. V. (2015). Potential use of an essential oil from the flower of *Swertia densifolia* as a repellent

- for *Apis florea* (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 108(1), 18-25.
139. Chandra, Deepak & Prasad, Dr & Bisht, G & Punetha, Vinay. (2015). Essential oil constituents of *Swertia ciliata* d.don ex g.don. from Kumaun Himalaya, Uttarakhand, India.
 140. Joshi, Shivani & Mishra, Devendra & Bisht, Ganga & Khetwal, Khadga. (2013). In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Swertia cordata* Aerial Parts. *The Open Natural Products Journal*. 3. 10.2174/2210315511303010012.
 141. Hajimehdipoor, H., Esmaeili, S., Shekarchi, M., Emrarian, T. Naghibi, F. (2013). Investigation of some biologic activities of *Swertia longifolia* Boiss. *Research in pharmaceutical sciences*, 8(4), 253.
 142. Wazir, A., Sherwani, S. K., & Ahmad, M. (2014). Antibacterial, Antifungal and antioxidant activities of some medicinal plants. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 27(6).
 143. Dilshad, R., Batool, R., & Jamil, N. (2018). Phytochemical screening and antibacterial potential of *Artemisia absinthium* L., *Swertia chirayita* and *Sphaeranthus indicus*. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 31(2).
 144. Das, J., Thapa, S., Pradhan, D., Thorat, S. S., Talukdar, N. C. (2013). Intra-specific genetic diversity, phytochemical analysis and antioxidant activities of a potential Himalayan *Swertia* (*Swertia bimaculata* Hook. F. & Thomas.). *Industrial Crops and Products*, 49, 341-347.
 145. Kshirsagar, P., Chavan, J., Nimbalkar, M., Yadav, S., Dixit, G., & Gaikwad, N. (2015). Phytochemical composition, antioxidant activity and HPLC profiles of *Swertia* species from Western Ghats. *Natural Product Research*, 29(8), 780-784.
 146. Tewari, D., Bawari, S., Mishra, S. T., Gupta, P., Cziáky, Z., Jeko, J., Zengin, G. (2024). Metabolomics-based pharmaceutical evaluation of different parts of *Swertia chirayita* (Roxb.) Buch. -Ham. ex CB Clarke from the western Himalayas. *Journal of Separation Science*, 47(1), 2300795.
 147. Laxmi, A., Siddhartha, S., & Archana, M. (2011). Antimicrobial screening of methanol and aqueous extracts of *Swertia chirata*. *Int J Pharm Pharm Sci*, 3(Suppl 4), 142-146.
 148. Roy, P., Abdulsalam, F. I., Pandey, D. K., Bhattacharjee, A., Eruvaram, N. R., & Malik, T. (2015). Evaluation of antioxidant, antibacterial, and antidiabetic potential of two traditional medicinal plants of India: *Swertia cordata* and *Swertia chirayita*. *Pharmacognosy research*, 7(Suppl 1), S57.
 149. Rizvi, Z. F., Mukhtar, R., Chaudhary, M. F., Zia, M. (2013). Antibacterial and antifungal activities of *Lawsonia inermis*, *Lantana camara* and *Swertia angustifolia*. *Pak. J. Bot*, 45(1), 275-278.
 150. Rehman, S., Latif, A., Ahmad, S., & Khan, A. U. (2011). *In vitro* antibacterial screening of *Swertia chirayita* Linn. against some gram-negative pathogenic strains. *Int J Pharm Res Dev*, 4, 188-194.
 151. Kweera, B., Sharma, N., Jadon, V., Negi, Y., Parcha, V. (2011). Phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of *Swertia chirayita* whole plant in different solvents. *Journal of Pharmacy Research*, 4(12), 4448-4449.
 152. Samadi, F. M., Suhail, S., Sonam, M., Sharma, N., Singh, S., Gupta, S., Pradhan, H. (2019). Antifungal efficacy of herbs. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 9(1), 28-32.
 153. Malabadi, R. B., Vijay Kumar, S. (2008). Evaluation of antifungal property of medicinal plants. *Journal of Phytological Research*, 21(1), 139-142.
 154. Panthari, D., Saklani, K., Chandra, S., Ghosal, P., Saklani, S., Purohit, V. K. (2024). Exploring *Swertia*: Ethnobotanical Insights, Medicinal Potential, and Conservation Strategies.
 155. Cao, T. W., Geng, C. A., Ma, Y. B., He, K., Wang, H. L., Zhou, N. J., Chen, J. J. (2013). Xanthones with anti-hepatitis B virus activity from *Swertia mussotii*. *Planta Medica*, 79(08), 697-700.
 156. Du, X. G., Wang, W., Zhang, S. P., Pu, X. P., Zhang, Q. Y., Ye, M., Guo, D. A. (2010). Neuroprotective xanthone glycosides from *Swertia punicea*. *Journal of natural products*, 73(8), 1422-1426

157. Xiang, K., He, Q., Chen, Y., Yang, D., Duan, Y., Li, H., Chen, L. (2021). Chemical constituents isolated from the aerial parts of *Swertia pseudochinensis* and their potential neuroprotective effects. *Acupuncture and Herbal Medicine*, 1(1), 59-64
158. Wang, G., Quan, J., Su, N., Li, P., Yu, Q. (2022). Proteomic analysis of swertiamarin-treated BV-2 cells and possible implications in neuroinflammation. *Journal of Oleo Science*, 71(3), 395–400.
159. Tovilovic-Kovacevic, G., Zogovic, N., & Krstic-Milosevic, D. (2020). Secondary metabolites from endangered *Gentiana*, *Gentianella*, *Centaurium*, and *Swertia* species (*Gentianaceae*): promising natural biotherapeutics. In *Biodiversity and Biomedicine* (pp. 335-384). Academic Press.
160. Denisova, O. A., Solov'eva, E. V., Glyzin, V. I., & Patudin, A. V. (1981). Xanthone glycosides from the aerial parts of *Swertia iberica*.
161. Tene, M., Tane, P., Kuate, J. R., de Dieu Tamokou, J., & Connolly, J. D. (2008). Anthocleistenolide, a new rearranged nor-secoiridoid derivative from the stem bark of *Anthocleista vogelii*. *Planta Medica*, 74(01), 80-83.
162. Ateufack, G., Nguelefack, T. B., Wabo, H. K., Tane, P., & Kamanyi, A. (2014). Antiulcerogenic Activity of 1-Hydroxy-3, 7, 8-trimethoxyxanthone Isolated from the Methanol Extract of *Anthocleista vogelii* Planch. in Rats. *Ulcers*, 2014(1), 172096.
163. Bao, L., Hu, L., Zhang, Y., & Wang, Y. I. (2016). Hypolipidemic effects of flavonoids extracted from *Lomatogonium rotatum*. *Experimental and therapeutic medicine*, 11(4), 1417-1424.
164. Ding, L., Liu, B., Qi, L. L., Zhou, Q. Y., Hou, Q., Li, J., & Zhang, Q. (2009). Anti-proliferation, cell cycle arrest and apoptosis induced by a natural xanthone from *Gentianopsis paludosa* Ma, in human promyelocytic leukemia cell line HL-60 cells. *Toxicology in Vitro*, 23(3), 408-417.

EKLER

EK-1.



ÖZ GEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve Soyadı: Fatmanur TUNÇ

Doğum Tarihi ve Yeri:

İletişim Adresleri:

Eğitim Durumu

Lisans: Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Yüksek Lisans: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Mesleki Deneyim

Araştırma Görevlisi, Anadolu Üniversitesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Yayınları

Gülcan, Z., Tunç, F., Saltan, N., Soyer, P., & Köse, Y. B. (2025). Antioxidant and antimicrobial activities of *Hypericum organifolium* Willd. var. *organifolium*. *Journal of Research in Pharmacy*, 29(2), 599-604.

Görev Aldığı Projeler: Bilimsel Araştırma Projesi BGT-2025-2885, Türkiye'deki *Thymelaea* Mill Cinsinin Taksonomik ve Biyolojik Özellikleri, Araştırmacı, (29.04.2025 devam ediyor).