



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***SESELI GUMMIFERUM* Pall. ex Sm. ve
SESELI CORYMBOSUM Boiss. & Heldr. subsp. *CORYMBOSUM*
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Sena Seren ASLAN

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Alev TOSUN**

2015-ANKARA

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***SESELI GUMMIFERUM* Pall.ex Sm. ve**
SESELI CORYMBOSUM* Boiss. & Heldr. subsp. *CORYMBOSUM
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Sena Seren ASLAN

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Alev TOSUN

2015-ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakognozi Yüksek Lisans Programı

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20.04.2015

Ankara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
(Jüri Başkanı)
Prof. Dr. Engin KARER

Gazi Üniversitesi
Fen Fakültesi
Prof. Dr. Hayri DUMAN

Ankara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Prof. Dr. Alev TOSUN
(Danışman)

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÖNSÖZ	vi
SÖZGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	xii
RESİMLER	xiv
ÇİZELGELER	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Botanik Bilgiler	4
2.1.1. Bitkinin Sistematikteki Yeri	4
2.1.2. Araliales (Apiales) Takımının Botanik Özellikleri	5
2.1.3. Apiaceae (Umbelliferae) Familyasının Botanik Özellikleri	5
2.1.4. <i>Seseli</i> L. Cinsinin Botanik Özellikleri	6
2.1.5. Türkiye’de YetiÇen <i>Seseli</i> L. Türleri	8
2.2. Fitokimyasal Çalışmalar	11
2.2.1. <i>Seseli</i> L. Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	11
2.2.1.1. Kumarinler	11
2.2.1.2. Uçucu Yağlar ve Terpenik Bileşikler	16
2.2.1.3. Flavonoidler	20
2.2.1.4. Diğer Bileşikler	20
2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	22
2.3.1. <i>Seseli</i> Türlerinin Biyolojik Aktivite Çalışmaları	22
2.3.1.1. Antimikrobiyal Etki	22
2.3.1.2. Sitotoksik Etki	25
2.3.1.3. Antioksidan Etki	26

2.3.1.4. Anti-inflamatuvar Etki	26
2.3.1.5. Kalsiyum Antagonisti ve Koroner Vazodilatatör Etki	28
2.3.1.6. Böcek Kaçırıcı Etki	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1. Gereç	30
3.1.1. Toplanan Örneklerin Tür Özellikleri	32
3.1.1.1. <i>Seseli corymbosum</i> Boiss. & Heldr. subsp. <i>corymbosum</i> Tür Özellikleri	32
3.1.1.2. <i>Seseli gummiferum</i> Pall. ex Sm. Tür Özellikleri	34
3.2. Yöntem	35
3.2.1. Uçucu Yağ Eldesi	35
3.2.2. Ekstrelerin Hazırlanışı	36
3.2.3. Kromatografik Yöntemler	36
3.2.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi	36
3.2.3.2. Gaz Kromatografisi (GC)	37
3.2.3.3. Gaz Kromatografisi/Mass Spektroskopisi (GC/MS)	37
3.2.4. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	38
3.2.4.1. Hücre Kültürü	38
3.2.4.2. MTT Deneyi	39
3.2.4.3. NO (Nitrik Oksit) Tayini	40
3.2.4.4. PGE ₂ (Prostaglandin E ₂) Ölçümü	42
3.2.4.5. NF-κB'nin SEAP Reporter Gen Analizi	43
3.2.4.6. Western Blot Analizi	45
3.2.4.7. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	46
4. BULGULAR	48
4.1. Uçucu Yağ Eldesine Ait Bulgular	48
4.2. Ekstraksiyona Ait Bulgular	48
4.3. Kromatografik Yöntemlere Ait Bulgular	49
4.3.1. İnce Tabaka Kromatografisine Ait Bulgular	49
4.3.2. Gaz Kromatografisi/Mas Spektroskopisine Ait Bulgular	59
4.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	62

4.4.1. MTT Deneyi'ne Ait Bulgular	62
4.4.2. NO ve PGE ₂ Ölçümüne Ait Bulgular	64
4.4.3. NF-κB'nin SEAP Reporter Gen Analizine Ait Bulgular	66
4.4.4. Western Blot Analizine Ait Bulgular	66
4.4.5. Antimikrobiyal Aktiviteye Ait Bulgular	67
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	72
ÖZET	75
SUMMARY	76
KAYNAKLAR	77

ÖNSÖZ

Apiaceae familyasına ait *Seseli* L. cinsi, 80’i Asya’da dağılım gösteren toplamda 135 tür ile temsil edilen, oldukça yükseklerde, genellikle de kayalıklarda yetişen çoğunlukla otsu türlere sahiptir. Yapılmış olan çalışmalardan anlaşılmaktadır ki, Türkiye’de yetişen *Seseli* türleri üzerinde yapılan araştırmalar hala çok fazla sayıda değildir. Bunun yanında; *Seseli* türleri içerikleri bakımından oldukça zengin ve önemli bileşimlere sahiptir. Özellikle, kumarin, terpenik bileşik ve uçucu yağ içeriği açısından oldukça zengin oldukları vurgulanmakta ve bu grup bileşiklerin önemli biyolojik etkilere sahip oldukları bilinmektedir. Bu nedenle, ülkemizde doğal olarak yetişen daha önce iki alt tür olarak Türkiye Florası’nda verilen, ancak daha sonra yapılan çalışmalara iki ayrı tür olduğu anlaşılan *Seseli gummiferum* (SG) ve endemik bir tür olan *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum* (SC) üzerinde çalışılması, söz konusu türlerin öncelikle uçucu yağ içeriklerinin incelenerek, bu uçucu yağların analizlerinin yapılması, bileşimlerinin karıştırılması, daha sonra da bu uçucu yağların biyolojik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Ölk olarak tez konumun belirlenmesinden başlayarak tez yazım çalışmalarımın sonuna kadar her türlü ilgi, destek ve yardımlarını esirgemeyen, her fırsatta bilgisine, deneyimlerine başvuramama olanak sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Alev TOSUN’a içten teşekkürlerimi sunarım.

Anabilim Dalı başkanımız sayın hocam Prof. Dr. Gülçin SALTAN başta olmak üzere Farmakognozi Anabilim Dalının tüm saygıdeğer hocalarına ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Seoul National University-Güney Kore’deki Prof. Dr. Yeong Shik KIM, Dr. Chemoo CHUN’a ve Dr. Salman Khan’a deneylerimizde sağladıkları imkân ve yardımlarından dolayı teşekkürlerimi iletirim. Ayrıca; gaz kromatografisi

analizlerinde yorumları ile bize katkıda bulunan Prof. Dr. Igor Jerkovic'e de teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında her türlü bilgi ve desteklerine başvurduğum, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen sayın hocalarım Yrd. Doç. Dr. Sinem ASLAN ERDEM ve Yrd. Doç. Dr. Alper GÖKBULUT'a ve arkadaşım Uzm. Ecz. AyÇenur YAZGAN'a teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım sırasında fakültemiz bünyesindeki herbaryum incelemelerim sırasında Farmasötik Botanik Anabilim Dalından yardımlarını gördüğüm değerli hocalarıma ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim. Bitki örneklerimin toplanması sırasında yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen başta eçim Ecz. Emre ASLAN, arkadaşım Ecz. Neziha BAĞDÖNKÇÜ'ye teşekkür ederim. Ayrıca, türlerin teşhisinde bize değerli bilgilerini sunan sayın hocam Prof. Dr. Hayri DUMAN'a ve Yrd. Doç. Dr. Ebru DOĞAN GÜNER'e de teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman olduğu gibi, tez çalışmalarım sırasında da her türlü sabır ve sevgilerini eksik etmeyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

°C	Centigrade
µg	Microgram
µL	Microliter
¹³ C-NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance
¹ H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
AEF	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
Al ₂ O ₃	Aluminium Oxide
AMT	Amitraz
ANK	Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
ATCC	American Type Culture Collection
CA	California
cAMP	Cyclic Adenosine Monophosphate
CBMN	Cytochalasin-B Blocked Micronucleus Assay
cm	Centimeter
CO ₂	Carbondioxide
COX-2	Cyclooxygenase-2
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DNA	Deoxyribonucleic acid
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
ED ₅₀	% 50 Effective Dose
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
EGTA	Ethylene Glycol Tetraacetic acid

EIA	Enzyme Immunoassay
EtOAc	Ethyl acetate
eV	Electronvolt
FBS	Fetal Bovine Serum
FID	Flame Ionization Detector
Foto.	Fotoğraf
g	Gram
GAZI	Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
GC	Gas Chromatography
GC/MS	Gas Chromatography/Mass Spectrometry
Griess	Distile su içinde % 0.1 nafetiletilediamin ve % 5 fosforik asit içinde % 1 sülfonilamid
h/a	Hacim/Ağırlık
h/h	Hacim/Hacim
H ₂ O	Su
H ₂ SO ₄	Sulfuric Acid
HEPES	2-[4-(Hidroksietil)-1-piperazin] etansülfonik asit
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HP-5MS	Kapiler Kolon (5% -phenyl)-methylpolysiloxane
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRP	Horseadish Peroxidase ile Konjuge Edilmiş Antikorlar
ILs	Interleukins
IR	Infrared
iNOS	Nitric Oxide Synthase
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
kg	Kilogram
KOH	Potassium Hydroxide
LD ₅₀	% 50 Lethal Dose

LPS	Lipopolysaccharide
m	Meter
m/z	Mass to Charge Ratio
MBC	Minimal Bactericidal Consantration
MeOH	Methanol
MI	Michigan
MIC	Minimum Inhibitor Consantration
mL	Mililiter
mm	Milimeter
MRSA	Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MTT	[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]
MUP	4-methylumbelliferyl phosphate
NaCl	Sodium Chloride
NaF	Sodium Fluoride
NED	N-(1-naftil) etylendiamin hydrochloride
NF-κB	Nuclear Factor kappa B
NIST98	Mass Spectral Library
nm	Nanometer
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NO	Nitric Oxide
NP-40	Nonionic Polyoxyethylene Surfactant
NPT	Neomycinphosphotransferase
NY	New York
PBS	Phosphate Buffered Saline
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PMSF	Fenilmetilsulfonilfluorid
Rf	Resolution Factor
RFU	Relative Fluorescence Units

RRI	Relative Retention Indices
Rt	Retention Time
SC ₅₀	% 50'sini süpürücü etki sağladığı konsantrasyon
SC	<i>Seseli corymbosum</i> Boiss. & Heldr. subsp. <i>corymbosum</i>
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SEAP	Secreted Alkaline Phosphatase
SG	<i>Seseli gummiferum</i> Pall. ex Sm.
Sin.	Synonym
TLC	Thin Layer Chromatography
TNF- α	Tumor Necrosis Factor Alfa
TPCK	Tosyl Phenylalanyl Chloromethyl Ketone
USA	United States of America
UV	Ultraviolet
VA	Virginia
α	Alfa
β	Beta
β -actin	Beta Actin Antibodies

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	<i>Seseli</i> L. Cinsinin Dünya Üzerindeki Yayılışı	7
Şekil 2.2.	<i>Seseli</i> L. Türlerinin Türkiye'deki Yayılışı	9
Şekil 3.1.	<i>Seseli corymbosum</i> subsp. <i>corymbosum</i> 'un Türkiye'deki Yayılışı	33
Şekil 3.2.	<i>Seseli gummiiferum</i> 'un Türkiye'deki Yayılışı	35
Şekil 3.3.	MTT'nin Formazana İndirgenme Reaksiyonu	39
Şekil 3.4.	NO'nun Hücre Üzerindeki Etkileri	41
Şekil 3.5.	Enflamasyon Sürecinde NO Üretimi	41
Şekil 3.6.	İndirgenen Nitritin Griess Reaktifi ile Ölçümü	42
Şekil 3.7.	iNOS ve COX-2 Enzimleri Tarafından Üretilen NO ve PGE ₂	43
Şekil 3.8.	Nf-κB'nin Aktive Olduğu Durumlar ve Organizmada Meydana Gelen Olaylar	44
Şekil 3.9.	Western Blot Yöntemi ve Uygulanışı	46
Şekil 4.1.	<i>S. gummiiferum</i> (a) ve <i>S. corymbosum</i> subsp. <i>corymbosum</i> (b)'un Uçucu Yağlarının Total Çözümleri Kromatogramları	60
Şekil 4.2.	SC ve SG'nin AGS (Gastrik Kanseri Hücreleri) Üzerindeki Sitotoksitesi	62
Şekil 4.3.	SC ve SG'nin HCT 116 (Kolon Kanseri Hücreleri) Üzerindeki Sitotoksitesi	63
Şekil 4.4.	SC ve SG'nin Caco-2 (Kolon Kanseri Hücreleri) Üzerindeki Sitotoksitesi	63
Şekil 4.5.	SC ve SG'nin RAW 264.7 Makrofaj Hücreleri Üzerine Sitotoksitesi	64
Şekil 4.6.	SC ve SG'nin, LPS ile Stimüle Edilmiş RAW 264.7 Hücrelerinde NO Üretiminin İncelenmesi Üzerine Etkisi	65

- Şekil 4.7.** SC ve SG'nin, LPS ile Stimüle Edilmiş RAW 264.7 Hücrelerinde PGE₂ Üretiminin İnhibisyonu Üzerine Etkisi 65
- Şekil 4.8.** SC ve SG'nin, LPS ile Stimüle Edilmiş RAW 264.7 Hücrelerindeki NF-κB Transkripsiyonel Aktivitesinin İnhibisyonu Üzerine Etkisi 66
- Şekil 4.9.** SC ve SG'nin LPS ile Stimüle Edilmiş RAW 264.7 Hücrelerindeki iNOS ve COX-2 Protein Ekspresyonunun İnhibisyonu Üzerine Etkisi 67

RESİMLER

Resim 3.1.	<i>Seseli gummiiferum</i> Pall. ex. Sm. Çiçekli Görünümü	31
Resim 3.2.	<i>Seseli gummiiferum</i> Pall. ex. Sm. Çiçekli Görünümü	31
Resim 3.3.	<i>Seseli corymbosum</i> Boiss. & Heldr. subsp. <i>corymbosum</i>	32
Resim 4.1.	SG ve SC'nin Toprak Üstü ve Toprak Altı Ekstrelerinin UV 366 nm'deki Görüntüsü: <i>n</i> -hekzan:etil asetat (4:1)	50
Resim 4.2.	SG ve SC'nin Toprak Üstü ve Toprak Altı Ekstrelerinin Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1), UV 366 nm'deki Görüntüsü (<i>n</i> -hekzan: etil asetat 4: 1)	50
Resim 4.3.	SG ve SC'nin Toprak Üstü ve Toprak Altı Ekstrelerinin Reaktif Sonrasında Isı Muamelesi (100 °C) ile UV 366 nm'deki Görüntüsü: <i>n</i> -hekzan:etil asetat (4:1)	51
Resim 4.4.	SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1), Gün Iğğındaki Görüntüsü: <i>n</i> -hekzan:etil asetat (7:3)	52
Resim 4.5.	SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1), UV 366 nm'deki Görüntüsü: <i>n</i> -hekzan:etil asetat (7:3)	52
Resim 4.6.	SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1), UV 254 nm'deki Görüntüsü: <i>n</i> -hekzan:etil asetat (7:3)	53
Resim 4.7.	SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Eğiğinde: metanol:sülfürik asit (1:1), Isı ile Muamele (100 °C) Sonrasında Gün Iğğındaki Görüntüsü: <i>n</i> -hekzan:etil asetat (7:3)	53
Resim 4.8.	SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Eğiğinde: metanol:sülfürik asit (1:1), Isı ile Muamele (100 °C) Sonrasında UV 366 nm'deki Görüntüsü: <i>n</i> -hekzan:etil asetat (7:3)	54

- Resim 4.9.** SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif EÇiğinde: metanol:sülfürik asit (1:1), Isı ile Muamele (100 °C) Sonrasında UV 254 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (7:3) 54
- Resim 4.10.** SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının UV 254 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (8:2) 55
- Resim 4.11.** SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının UV 366 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (8:2) 55
- Resim 4.12.** SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1), Gün IĞğındaki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (8:2) 56
- Resim 4.13.** SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1), UV 366 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (8:2) 56
- Resim 4.14.** SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1), UV 254 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (8:2) 57
- Resim 4.15.** SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif EÇiğinde: metanol:sülfürik asit (1:1), Isı ile Muamele (100 °C) Sonrasında Gün IĞğındaki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (8:2) 57
- Resim 4.16.** SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif EÇiğinde: metanol:sülfürik asit (1:1), Isı ile Muamele (100 °C) Sonrasında UV 254 nm'deki Görüntüsü (*n*-hekzan: etil asetat 8: 2) 58
- Resim 4.17.** SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif EÇiğinde: metanol:sülfürik asit (1:1), Isı ile Muamele (100 °C) Sonrasında UV 366 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (8:2) 58

ÇİZELGELER

Çizelge 4.1. Elde Edilen Ekstrelerin Miktarları	48
Çizelge 4.2. <i>S. gummiferum</i> ve <i>S. corymbosum</i> subsp. <i>corymbosum</i> Uçucu Yağlarının Bileşimi	61
Çizelge 4.3. Örneklerin Çalışılan Mikroorganizmalara Karşı Ekileri	68

1. GİRİŞ

Genellikle ılıman bölgelerde yayılığ gösteren yaklaşık 455 cins ve 3751 civarında türe sahip olan Apiaceae (daha önceki ismi ile Umbelliferae) familyası, Davis'in Türkiye Florası'na göre (1972), Türkiye'de 102 cins ve 451 tür ile temsil edilmektedir. Daha sonra Türkiye Florası'na 4 cins ve 53 tür daha ilave edilmiştir (Davis, 1972; Crowden ve ark., 1969; Davis, 1988; Pimenov ve Leonov, 1993; Duman, 2000; Erik ve Tarıkahya, 2004; Özhatay ve ark., 2009).

Bu familyaya ait türlerin ülkemizde yoğun olarak bulunduğu bölgeler Akdeniz, Ege Bölgesi, Doğu Anadolu Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi olarak bildirilmiştir. Apiaceae familyasına ait türler genellikle zengin uçucu yağ kaynakları olup, aynı zamanda reçine de taşımaktadırlar. Uçucu yağ; meyve, yaprak, kök veya bitkinin tüm kısımlarında bulunabilir. Bazı Apiaceae türleri hem baharat hem de gıda olarak kullanılmakta ve bu yüzden kültürleri de yapılmaktadır. Bu nedenle pek çok tür ekonomik değere sahip olup, ticari olarak önem taşımaktadır (Çağın, 2005).

Bundan dolayı, Apiaceae familyası üyeleri dünyada ekonomik olarak değerlendirilen türler arasındadır. Özellikle besin kaynağı olarak hem sebze, hem de hayvan yemi olarak kullanılırlar. Park ve bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılan türleri de bulunmaktadır. Çerdikleri önemli bileşenler nedeniyle tıpta ve kozmetikte yaygın kullanım alanlarına sahiptirler (Güner, 2006). Apiaceae familyasına ait bitkiler üzerinde daha önce yapılan çalışmalarda da, bazı uçucu yağlarının solunum yolları, kütanoz ve mukozal mantar hastalıkları için potansiyel terapötik etki gösterdiği ortaya konmuştur (Tavares ve ark., 2008 ve 2010; Gonçalves ve ark., 2012). Bunun yanında Apiaceae familyasına ait türlerin uçucu yağlarının içerik ve etkileri üzerinde yapılmış pekçok çalışmaya da rastlamak mümkündür.

Apiaceae familyasına ait *Seseli* L. cinsi, 80'i Asya'da dağılım gösteren toplamda 135 tür ile temsil edilen, oldukça yükseklerde, genellikle de kayalıklarda yetişen

çoğunlukla otsu türlere sahiptir. Türkiye Florası'nda ise tür ve tür altı seviyesinde 12 taksonu kayıtlı olan *Seseli* cinsinin 4 türünün endemik olduğu belirtilmektedir (Hedge ve Lamond, 1972; Davis ve ark., 1988; Syed ve ark., 1989; Duman, 2000; Parolly ve Nordt, 2001; Aytaç ve Duman, 2013). Bununla birlikte yeni türler keşfedilmekte olup, bu türler literatüre geçmeye devam etmektedir.

Seseli cinsinin taksonlarının çiçeklenme dönemi Haziran ve Kasım ayları arasındadır. Taksonların bulunduğu habitatlar genellikle kayalıklar, yüksek dağ ve çayır stebi, meşe *Pinus sylvestris* L. ile *Picea orientalis* (L.) Link, ormanlarının açıklıklarıdır. Deniz seviyesinden 2500-3000 m yüksekliğe kadar yayılış gösterirler. Türkiye türlerinin çoğu geç meyveye geçer ve bu nedenle yetersiz bilinmektedirler (Hedge ve Lamond, 1972; Davis ve ark., 1988; Duman, 2000).

Seseli, Hippocrates tarafından Apiaceae familyasının oldukça çekici görünümleri olan bazı üyeleri için kullanılmıştır. Seski bir Yunan ismidir (Hamlyn, 1969). *Seseli* cinsinin bir çok türü çok eski tarihlerden beri halk arasında kullanılmaktadır (Dioscorides, 2002). Türkiye'de, *Seseli tortuosum*'un meyveleri emenagog olarak ve sindirim sistemi rahatsızlıklarında geleneksel kullanımda yer almaktadır (Baytop, 1999). Halk arasında bazı *Seseli* türlerinin gaz söktürücü ve adet söktürücü etkileri literatürde belirtilirken, Türkiye'nin bazı yörelerinde de sebze olarak tüketilen bitkiler arasında yer almaktadır (Baytop, 1994 ve 1999). Çin'de yetiştirilen bir *Seseli* türü olan *Seseli mairei* Wolff, geleneksel tıpta soğuk algınlığı, ağrı, romatizma, grip ve inflamasyonda kullanılmaktadır (Hu ve ark., 1990). Hindistan'da geleneksel olarak kullanılan *Seseli indicum*'un tohumlarının antihelmintik, karminatif, stomaçik ve stimulan etkilerine sahip olduğu rapor edilmiştir (Tandan ve ark., 1990). Daha önce yapılan çalışmalarda, *Seseli indicum*, *S. libonatis* ve *S. montanum* subsp. *tommasinii*'nin uçucu yağlarının insanlarda patojenik mikroorganizmalara karşı etkisi kanıtlanmıştır (Singh ve ark., 2002; Öztürk ve Erciği, 2006; Adams ve ark., 2009; Siljegovic ve ark., 2011).

Seseli türleri üzerinde yapılan kimyasal çalışmaların daha çok kumarinler üzerinde yoğunlaştığı, farklı etken madde grupları üzerinde yapılmış bazı çalışmaların da

bulunduğu rapor edilmiştir (Tosun ve Özkal, 2003). Bu farklı etken madde grupları; sinnamik asit türevleri (Banerjee ve ark., 1987), seskiterpen laktonlar ve fenilpropanoidlerdir (Barreero ve ark., 1992, 1994; Muckenstrum ve ark., 1997). Ayrıca uçucu yağları üzerinde yapılmış pek çok çalışmada bulunmaktadır (Bader ve ark., 2003; Habibi ve ark., 2003, Tosun ve ark., 2005; Tosun ve ark., 2006b; Milosavljevic ve ark., 2007; Janakovic ve ark., 2011; Silijegovic ve ark., 2011).

Seseli türlerinin uçucu yağları üzerinde daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda, bu uçucu yağların gaz kromatografisi ile analizleri yapılarak içerikleri aydınlatılmış bazı majör bileşiklerine ait biyolojik aktivite çalışmaları da yapılmıştır (Bağcı ve ark., 1997; Kaya ve ark., 2003; Tosun ve ark., 2005; Tosun ve ark., 2006b; Öztürk ve Erciğil, 2006; Milosavljevic ve ark., 2007; Kaya ve ark., 2010; Silijegovic ve ark., 2011; Gonçálves ve ark., 2012).

Yapılmış olan çalışmalardan anlaşılmaktadır ki, Türkiye’de yetiğen *Seseli* türleri üzerinde yapılan araştırmalar hala çok fazla sayıda değildir. Ancak, yine yapılan çalışmalardan anlaşılmaktadır ki; *Seseli* türleri içerikleri bakımından oldukça zengin ve önemli bileşiklere sahiptir. Özellikle, kumarin, terpenik bileşik ve uçucu yağ içeriği açısından oldukça zengin oldukları vurgulanmakta ve bu grup bileşiklerin önemli biyolojik etkilere sahip oldukları bilinmektedir. Bu nedenle, ülkemizde doğal olarak yetiğen daha önce iki alt tür olarak Flora’da verilen, ancak daha sonra yapılan çalışmalarda 2 ayrı tür olduğu anlaşılan *Seseli gummiferum* (SG) ve endemik bir tür olan *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum* (SC) üzerinde çalışması, söz konusu türlerin öncelikle uçucu yağ içeriklerinin incelenerek, bu uçucu yağların analizlerinin yapılması, bileşiklerinin karıştırılması, daha sonra da bu uçucu yağların etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu iki türle ilgili böyle bir çalışmanın daha önce yapılmamış olması hem de uçucu yağların son zamanlarda kozmetik, parfümeri ve gıda sanayinde kullanımlarının yaygınlaşması, bunun yanında önemli biyolojik etkilere sahip olmaları bizi bu çalışmayı yapmaya yöneltmiştir (Bakkali ve ark., 2008; Bhalla ve ark., 2013). Bu çalışmada ilk defa *Seseli* cinsine ait bu iki türün, *Seseli gummiferum* (SG) ve *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum* (SC), uçucu yağları ilk defa gaz kromatografisi ile incelenerek bileşikleri tespit edilmiş ve biyolojik aktivite yönünden de incelenerek önemi ortaya konmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Bitkinin Sistematikteki Yeri

Seseli gummiferum ve *S. corymbosum* subsp. *corymbosum*'un TÜBÖVES (Türkiye Bitkileri Veri Servisi)'e göre sistematik olarak sınıflandırılması:

Alem	: Plantae
Altalem	: Tracheobionta
Bölüm	: Spermatophyta
Altbölüm	: Angiospermae
Sınıf	: Dicotyledones
Altsınıf	: Aralianae
Takım	: Apiales
Familya	: Apiaceae (Umbelliferae)
Alt Familya	: Apioideae
Tribüs	: Seselieae
Alt Tribüs	: Seselinae
Cins	: <i>Seseli</i> L.
Tür	: <i>Seseli gummiferum</i> Pall. ex. Sm. <i>Seseli corymbosum</i> Boiss. & Heldr. subsp. <i>corymbosum</i>

2.1.2. Araliales (Apiales) Takımının Botanik Özellikleri

Çoğu ılıman iklim kuşaklarında, bazıları tropik ve subtropiklerde yayılığ gösterir. Otsu, çalı veya ağaç formundadır. Yapraklar parçalı alternat, nadiren karşılıklıdır. Çiçekler küçük, genel olarak basit veya bileşikumbella durumunda toplanmış, erdiği veya tek eğeli, aktinomorf veya zigomorftur. Sepallar 5, bileşik, petaller 5-10, serbest veya birleşik, stamenler petal sayısı kadar veya nadiren çok sayıdadır. Ovaryumların, alt durumlu, 2 karpelli, 2 tohum taslaklı oluşu bir ya da çok lokuluslu oluşu tipik özelliklerindendir (Lawrence, 1969).

2.1.3. Apiaceae (Umbelliferae) Familyasının Botanik Özellikleri

Apiaceae familyası botanikçiler tarafından ilk olarak 16. yüzyılda tipik çiçeklenme şekli ile dikkati çekmiştir. Ancak bu familyanın insanlık tarihindeki etkisi çok eskilere dayanmaktadır. Öyle ki, eski Roma ve Çin’de, Apiaceae familyasına ait farklı droglar kullanılmış ve bu ülke kültürlerinin gelişiminde etkili olmuştur (Sağiroğlu, 2005).

Apiaceae familyası, çoğunlukla ılıman bölgelerde yayılığ gösteren, yaklaşık 455 cins ve 3600-3751 kadar türe sahip bir familyadır. Davis’in 1972’de yayınlanan Türkiye Florası’na göre, 102 cins ve 451 tür ile temsil edilmektedir. Daha sonra Türkiye Florası’na 4 cins ve 53 tür daha ilave edilmiştir (Davis, 1972; Crowden ve ark., 1969; Lawrence, 1969; Pimenov ve Leonov, 1993; Duman, 2000; Erik ve Tarıkahya, 2004; Özhatay ve ark., 2009). Böylece cins sayısı 106’ya, tür sayısı da 504’e ulaşmıştır. Ülkemizde Apiaceae familyası cins sayısı ile Poaceae ve Asteraceae’den sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Davis ve ark 1988; Güner ve ark 2000; Güner, 2006). Bu cinslerden 53’ü sadece 1 türe sahiptir. Aynı zamanda 4 endemik cins ve 42 cinse ait 140 endemik türe sahiptir (Pimenov ve Leonov, 2004). Türkiye’de bulunan 451 türün 159’u endemik olarak kayıtlıdır (Özhatay ve ark., 2008).

Bu familya; bir, iki veya çok yıllık otsu, nadiren çalimsı bitkileri içerir. Yapraklar genellikle alternat, nadiren dairesel veya hemen hemen karGılıklı diziliGi, palmat veya pinnat parçalı ya da basit, genellikle stipulasızdır. GeniG okreanın gövdeyi sarması bu familya için tipik bir özelliktir. Çiçek durumu genellikle bileGik, nadiren basit umbella, kapitat veya indirgenmiGsimozdur. Brakte ve brakteoller vardır ya da bulunmamaktadır. Çiçekler erdiGi veya tek eGylidir. Sepal bulunmaz veya çok küçük, petal 5, beyaz, sarı, sarımsı yeGiİ soluk mavi ya da pembe renklidir. Stamen 5 (uzun filamentli), pistil 1, ovaryum alt durumlu, 2 lokuluslu ve genellikle 2 karpelli (ovüller her lokulusta 1 adet), stilus 2, tabanda geniGlemiGiİ. Meyve genellikle olgunlukta, her biri 1 tohum taGyan, 2 merikarpa ayrılan Gızkarptır. Merikarplar birbirine ince bir karpofor ile bağılıdır. Her bir merikarp 5 kosta taGırve kostaların Gkili ve mezokarptaki salgı kanallarının sayısı, cins ve türlere göre deGiGmektedir. Tohumlarda embriyo küçük olup, yağ ve alöron taneleri bulunan endosperma ile sarılmıGiİ. Endospermada kalsiyum okzalat kristalleri olan druzlara rastlanır ancak niGastala bulunmamaktadır. Bu familya bitkileri arasında gıda, baharat, ilaç ve kozmetik sanayiinde kullanılanlar, ekonomik öneme sahip olarak da ön plana çıkmaktadır (Lawrence, 1969; Davis, 1972).

2.1.4. *Seseli* L. Cinsinin Botanik Özellikleri

Seseli L. (Sin.: *Libanotis* Hall.) cinsi Avrupa (Kuzey Batı, Batı, Orta, Güney Batı, Güney, Güney Doğu, Doğu), Asya (Güney Batı, Kuzey, orta ve merkez, Batı, Güney Doğu, Güney, Kafkasya), Afrika (Kuzey, Kuzey Batı, Tropikal bölgeler), Kuzey Amerika ve Avustralya'da yayılıG göstermektedir. Türkiye Florası'na göre *Seseli* cinsi, 11 tür ve 1 alt tür ile temsil edilmektedir (Schischkin, 1950; Heywood, 1968; Davis, 1972; Heywood, 1978; Pignatti, 1982; Rechinger, 1987; Pimenov ve Leonov; 1993 ve 2004). *Seseli* L. cinsinin Dünya üzerindeki dağılımı şekil 2.1'de verilmiGiİ.



Şekil 2.1. *Seseli* L. Cinsinin Dünya Üzerindeki Yayılış G

Türkiye türlerinin çoğu geç meyveye geçmeleri nedeni ile yetersiz bilinmektedirler (Hedge ve Lamond, 1972). *Seseli* cinsi taksonlarının çiçeklenme dönemi Haziran ve Kasım ayları arasındadır. Taksonların bulunduğu bölgeler genellikle kayalıklar, yüksek dağ ve çayır stebi, meşe ve çam ormanlarının açıklıklarıdır. Deniz seviyesinden 3000 m yüksekliğe kadar yayılış gösterirler (Hedge ve Lamond, 1972; Davis ve ark., 1988; Duman, 2000).

Bu cinse ait türler çok yıllık veya iki yıllık otsu bitkilerdir. Genelde tabanda ölü yaprakların saplarından oluşmuş lifli gövdeyi saran bir yapı (fibrous collar) bulunur. Bazı türlerde ise ölü yaprakların sapları kalıcıdır ama lifli yapı oluşturmaz. Bazen de hem lifli yapı hem de yaprak sapı şeklinde bulunur. Gövde tek ya da çok sayıda olabilir; dallanma tabandan ya da ortadan bağlar; gövde boyu 5-175 cm, bazı türlerde 3 m'ye kadar uzayabilir. Gövde genellikle belirgin sırtlı nadiren düzdür; genelde yeşil nadiren kırmızımsı-mordur; tüylü ya da tüysüz olabilir. Yapraklar 1-4 pinnat; tüylü ya da tüysüz; taban yaprakları gövde yapraklarından uzundur, daha fazla parçalanma gösterir; gövde yaprakları tabandan yukarı doğru sayıca azalır ve boyları küçülür, yaprak kını nadiren belirgin olarak bulunmaktadır. Çiçek durumu bileşik

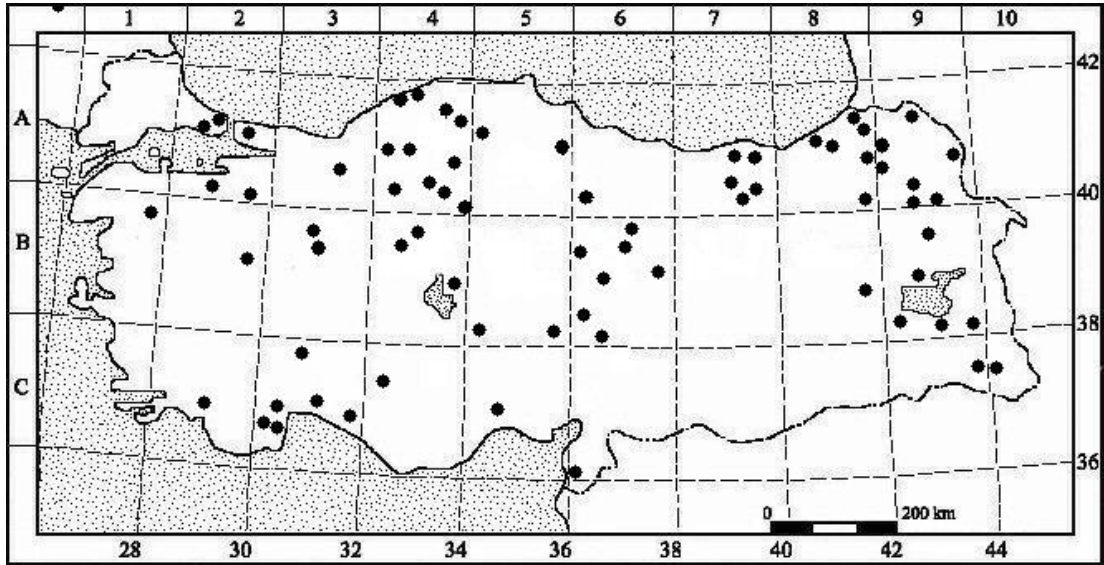
umbel; bazı türlerde ortadaki umbel yan umbellere göre daha gelişmiş olup ana umbel yapısı gösterir, ana umbelin ıçın sayısı yan umbellere göre fazla ve ıçın boyuda daha uzundur. ıçınlarskabrid, nadiren tüysüzdür. Braktenin varlığı türlere göre değiğır, var ise tüylüdür. Brakteol bütün türlerde mevcuttur, serbest ya da tabanda birleğık, yoğun tüylüdür. Sepal yok ya da 5 tane, çok küçüktürler. Petaller 5, genellikle tomurcukta açık ya da koyu mor, nadiren beyaz ya da sarı, çiçek açtığında beyaz, orta damar mor, çevresi beyaz ya da nadiren açık sarıdır; sırtta skabrid ya da tüysüzdür. Stamenler petallerle almaçlı dizilmiğ ve uzundur; beyaz ya da mor renklidir. Anterler versatil bağlı, sarı ya da mordur. Meyve oblong, oblong-ovoid, ovoid, linear-oblong, oblong-eliptik, eliptik-ovat Çekilli; 2-6,5 mm boyundadır; tüylü yada tüysüzdür; belirgin 5 sırtlı, nadiren düzdür (Güner, 2006).

2.1.5. Türkiye’de Yetişen *Seseli* L. Türleri

Seseli cinsinin, 2013 yılında yapılan revizyon çalışmasınınagöre Türkiye’de 14 tür ve tür altı seviyede takson yayılığgöstermektedir (Güner ve Duman, 2013). Bunlar:

1. *Seseli libanotis* (L.) W. Koch
2. *Seseli transcaucasicum* (Schischk.) Pimenov & Sdobnia
3. *Seseli petraeum* M. Bieb.
4. *Seseli gummiferum* Pall. ex Sm.
5. *Seseli corymbosum* Boiss.& Heldr. subsp. *corymbosum*
6. *Seseli corymbosum* Boiss.& Heldr. subsp. *phrygium* (Pimenov & Kljuykov) E. Doğan & H. Duman
7. *Seseli resinosum* Freyn & Sint.
8. *Seseli grandivittatum* (Somm. & Lev.) Schischkin
9. *Seseli tortuosum* L.
10. *Seseli campestre* Besser

11. *Seseli marashica* E. Doğan & H. Duman
12. *Seseli andronakii* Woronov
13. *Seseli serpentina* B. L. Burt ex H. Duman & E. Doğan
14. *Seseli hartvigii* Parolly & Nordt



Şekil 2.2. *Seseli* L. Türlerinin Türkiye'deki Yayılışı

2006 yılında Türkiye'de yapılan çalışmamasonucunda, Türkiye Florası'nın 4, 10 ve 11. ciltlerine göre 11 tür ve 1 alttür ile temsil edilen *Seseli* cinsinin takson sayısı bu çalışmaya sonucunda bir yeni kayıt, iki yeni tür ile 14 tür ve 1 alttür olarak toplam 15 taksona çıkmıştır. Türkiye'de yetişen *Seseli* türlerinin yayılışı haritada gösterilmiştir (Şekil 2.2). Söz konusu ilave edilen türler; *S. transcaucasicum*, *S. marashica* ve *S. serpentina*'dır. Böylece, ülkemizde *Seseli* cinsine ait endemik tür ve tür altı seviyede takson sayısı 4 olarak bilinirken, bu sayı 7'ye çıkmıştır. Bu türler arasındaki % 33 olan endemizm oranı ise % 50'ye yükselmiştir. Türkiye için yeni kayıt olan *S. transcaucasicum*, İran, Gürcistan, Ermenistan, Azerbaycan'da yayılışı gösterir. Ülkemizde, Doğu Anadolu'nun güneyinde yayılışı gösteren bu türün bulunduğu tüm bölgeler İran-Turan fitocoğrafik bölgesine dâhildir. Yeni türlerden *S. marashica*, Kahramanmaraş-Göksun ve Kayseri-Pınarbaşı civarında yayılışı göstermektedir. Bu fitocoğrafik bölgeye de dâhil olan Kahramanmaraş'ın ve Kayseri-Pınarbaşı ve İran-Turan fitocoğrafik bölgesi bu türün yayılışı gösterdiği bölümdür. Diğer yeni tür; *S.*

serpentina Akdeniz Bölgesinin kıyı kesimlerinde yayılığ gösterir. Bu bölge Doğu Akdeniz Fitocoğrafik bölgesi içinde yer almaktadır (Güner, 2006).

Daha sonraki yıllarda yapılan bir çalışmada ise araştırmacılar tarafından Ilgaz Dağı'nın kuzeyinde tespit edilen *Seseli paphlagonicum* ve Sakarya Vadisi'nde tespit edilen *Seseli phrygium* iki yeni tür olarak tanımlanmıştır. Aynı araştırmacılar, *S. peucedanoides* (M. Bieb.) Koso-Pol. ve *S. foliosum* (Sommier & Levier) Manden'i, *Gasparrinia* Bertol cinsine transfer edip, *S. campestre* Besser'in de *S. tortuosum*'un sinonimi olduğunu bildirmiştir (Pimenov ve Kljuykov, 2010).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmayla morfolojik incelemeler ve arazi çalışmaları sonucuna dayanarak, Türkiye'deki *Seseli* L. cinsi yeniden revize edilmiştir. Çalışmada iki yeni tür olarak kaydedilen *Seseli marashica* E. Doğan & H. Duman ve *Seseli serpentina* B. L. Burtt. ex H. Duman & E. Doğan'da ayrıca tanımlanmıştır. Daha önce yeni bir tür olarak değerlendirilen *S. paphlagonicum* Pimenov & Kljuykov, *S. gummiferum* Pall. ex Sm.'in sinonimi olarak değiştirilmiştir. Ayrıca yine daha önce ayrı bir tür olarak değerlendirilen *S. phrygium*, alt tür sınıfına geçirilerek *S. corymbosum* Boiss. & Heldr. ex Boiss. subsp. *phrygium* (Pimenov ve Kljuykov) E. Doğan & H. Duman, şeklinde tanımlanmıştır. *S. marashica* ve *S. serpentina* da iki yeni tür olarak kaydedilmiştir. Böylece, Türkiye'deki tür sayısı 13 olmuş (12 tür ve 1 alt tür), endemik tür sayısı da 4'ten 7'ye yükselerek endemizm oranı da % 53.8 olarak değişmiştir (Güner ve Duman, 2013).

Türkiye Florası'nda iki alt tür olarak tanımlanan *Seseli gummiferum* subsp. *gummiferum* ve *Seseli gummiferum* subsp. *corymbosum*, türleri birbirinden oldukça ayırıcı özellikler göstermektedir. Bu nedenle, yapılan morfolojik çalışmaların sonucunda, bu iki alt türün, *Seseli gummiferum* ve *Seseli corymbosum* olarak iki ayrı tür seviyesine yükseltilmesi uygun görülmüş ve bu şekilde düzeltilmiştir. Aynı çalışmada *Seseli phrygium*'un *Seseli corymbosum*'un alt türü olarak tanımlanmasının ardından *Seseli corymbosum*'un yeni adı *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum* olmuştur (Güner ve Duman, 2013).

2.2. Fitokimyasal Çalışmalar

2.2.1. *Seseli* L. Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Seseli L. türlerine ait yapılan fitokimyasal çalışmaların daha çok kumarinler üzerinde yoğunlaştığı, bunun yanında farklı etken madde grupları üzerinde yapılmış bazı çalışmaların da bulunduğu yapılan literatür incelemeleri sonucu görülmüştür

2.2.1.1. Kumarinler

Kumarinler, bitkilerde bulunan, oksijenli heterosiklik bileşiklerin bir grubunu oluşturan laktonlardır. Bu yapı, bitkilerdeki benzen ile α -piron halkasının kondensasyonu sonucu oluşmuş kumarin yapısını meydana getirmektedir. İlk kez 1822 yılında Semen Tonca (Tonka baklası) adı verilen drogdan izole edilmiş ve kumarin adı ilk o zaman verilmiştir (Murray ve ark., 1982; Nikhil ve ark., 2012). Kumarinler en çok, Apiaceae, Rutaceae, Fabaceae, Asteraceae ve Rosaceae gibi çok çeşitli farmasötik etki ve kullanımları olan familyalara ait bitkilerde bulunur. Bugüne kadar 1000'den fazla kumarin türevi, doğal kaynaklardan izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Tosun, 2012).

Doğal bir bileşik olan kumarinlerin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesinde; yüksek verimliliği ve etkin ayırım tekniğine sahip olması nedeni ile yaygın olarak kullanılan analiz yöntemleri arasında yüksek basınçlı sıvı kromatografisini (HPLC) örnek verebiliriz (Tosun ve ark., 2007b; Tosun ve Tomek, 2010). Yine kumarinlerin ayırımında farklı kromatografik yöntemler de kullanılmaktadır (Shehzada ve ark., 2013).

Seseli bocconi subsp. *bocconi* Guss. Sicilya'da kireçli topraklarda yetişen, *Seseli bocconi* subsp. *praecox* Gamisans ise Korsika, Capo, Caccia, Tavolara, S. Pietro ve Sardunya adalarında yetişen iki alt tür olarak kayıtlıdır. Her iki alt türde de farklı kumarin bileşikleri izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları, UV, IR, H-

NMR, C-NMR ve MS yöntemleri ile tayin edildiği belirtilmiştir (Bellino ve ark., 1986; Barrero ve ark., 1990).

Yapılan bir araştırmada, *Seseli campestre* Besser'in köklerinde bulunan pek çok kumarin bitkinin filizlenme ve gelişme dönemlerinde bulunmuştur. Bitkinin gelişimi ile, köklerdeki kumarin seviyesi hızla azalmış ve meyvelerinin olgunlaştığı zaman da minimum seviyeye düşmüştür. Meyve kumarinlerinin, bitkinin diğer kısımlarından izole edilen kumarinlerden farklı olduğu bulunmuştur (Murray ve ark., 1982).

Çalya'nın kuzeydoğu bölgesinde geniş bir yayılıma sahip *Seseli elatum aggregatum*'un da iki popülasyonunda furokumarinlere rastlanmıştır. Bu popülasyonlar, *S. elatum* subsp. *gouanii* (Koch) P.W. Ball ve *S. elatum* subsp. *elatum* [*S. elatum* subsp. *austriacum* (G. Beck) P.W. Ball] olarak bilinmektedir. Kromatografik ve spektrofotometrik analizlerin sonucunda çeşitli furokumarinler izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Ayrıca linear furokumarinlerin yanında, angular furokumarinler de teşhis edilmiştir. Bu iki alt türde de aynı kumarin bileşiklerine rastlanmakta, ancak furokumarinlerin miktarlarında önemli farklılıklar bulunmamaktadır (Coassini Lokar ve Delben, 1988; Barrero ve ark., 1990).

Seseli gummiferum Pall. subsp. *gummiferum*'un kökleri kumarin bakımından çok zengin olmasa da, dallarının lateksi kumarin içeriği bakımından oldukça zengindir. Silikajel üzerinde kolon kromatografisi ile kumarinlerin bir karışımı elde edilmiştir. Bitkinin dallarının eterli ekstresinden, bir marmesin anjelatı olan deltoin ile 3'(R)-(+)-3'-hekzanoiloksi-3'-+'-dihidrokseselin, 3'(R)-(+)-3'-oktanoiloksi-3'-4'-dihidrokseselin ve 3'(R)-(+)-3'-cis-oktanoiloksi-3'-4'-dihidrokseselin elde edilmiştir (Nielsen ve ark., 1970; Barrero ve ark., 1990). Yine aynı araştırmacının yaptığı bir başka çalışmada, 3'(R),4'(R)-3'-izovaleriloksi-4'-angeloiloksi, 3',4'-dihidrokseselin ve 3'(R),4'(R)-3'-senesioiloksi-4'-angeloiloksi, 3',4'-dihidrokseselin izole edilmiştir (Nielsen ve ark., 1971; Barrero ve ark., 1990).

Avrupa'nın birçok bölgesinde geniş bir yayılım gösteren *Seseli libanotis* (L.) Koch. üzerinde de yapılmış çalışmalara rastlanmıştır. *Seseli libanotis* (L.) Koch. subsp. eu-

libanotis Thellung köklerinin eterli ekstresi silikajel kolona uygulanarak; benzen, benzen:kloroform ve kloroform elüsyonu ile çeşitli furokumarin türevleri izole edilmiştir (Lemmich ve ark., 1966; Bohlman ve ark., 1968; Barrero ve ark., 1990). Aynı araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada petrol eteri ile yağlı maddelerinden arındırılmış *Seseli libanotis* (L.) Koch. subsp. *eu-libanotis* Thellung köklerinin metanollü ekstresinin, etil asetat ile yıkanması, elde edilen bu ekstrenin yoğunlaştırılıp, kurutulmasından sonra poliamit kolona uygulanması ve su:metanol sistemi kullanılarak yapılan elüsyon ile bazı polar kumarinler elde edilmiştir (Lemmich ve Shabana, 1984; Barrero ve ark., 1990).

Daha sonraki yapılan çalışmalarda, Doğu Avrupa ve Asya'da doğal olarak yetişen *S. libanotis* (L.) Koch subsp. *intermedium* (Rupr.) P.W. Ball'un (*Libanotis intermedia* Rupr.) köklerinin petrol eterli ekstresinden majör bileşik olarak izopösenidin ve bunun yanında libanotin de elde edilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları ^{13}C -NMR, ^1H -NMR ile aydınlatılmıştır (Glowniak ve ark., 1991).

Jamu ve Kaçmar dağlık bölgelerinden toplanan *Seseli sibiricum* Benth.'in kumarinleri üzerinde de pek çok çalışmayapılmıştır. Bitkinin köklerinin petrol eterli ekstresinden çeşitli bileşikler yanında basit bir kumarin olan ostol de elde edilmiştir (Kapoor ve ark., 1968; Barrero ve ark., 1990). Başka bir araştırmacı grup tarafından yapılan çalışmada umbellaların petrol eterli ekstresinden kolon kromatografisi ile ostol, imperatorin, bergapten, ve sibirisin elde edilmiştir. Apiaceae familyasında oldukça sık rastlanan bu bileşiklerin yapıları standart bileşiklerle karşılaştırılmak suretiyle ve IR, NMR, MS gibi spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır (Austin ve ark., 1968; Barrero ve ark., 1990). Yine aynı bölgeden toplanan *Seseli sibiricum* Benth. ile yapılan bir başka çalışmada kumarin yapısında bir çok bileşik elde edilmiştir (Kumar ve ark., 1978; Barrero ve ark., 1990). Banerjee ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, *Seseli sibiricum* Benth.'in umbellalarının hekzanlı ekstresinden basit yapıdaki kumarinler ile linear furokumarinler elde edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları yine spektroskopik yöntemlerle kanıtlanmıştır (Banerjee ve ark., 1980; Banerjee ve ark., 1987; Barrero ve ark., 1990).

Seseli tortuosum L.'un toprak üstü kısmının etanollü ekstresinden basit kumarinler yanında, angular tip piranokumarinler de izole edilmiştir (Gonzalez ve ark., 1979).

Yine *Seseli tortuosum* L.B.S. Eur'dan diğer *Seseli* türlerinde de rastlanan (-)-2'-senesioiloksi-1',2'-dihidroksantiletin ve (-)-2'-izovaleriloksi-1'-2'-dihidroksantiletin isimli linear piranokumarin aglikonları yanında, bitkinin toprak küstü kısmının asetonlu ekstresinden tortuozit (7-hidroksi-8-[(2'R)-hidroksi-3'-O-β-D-glikopiranozil-3'-metilbütill]-kumarin) isimli bir kumarin heteroziti de izole edilmiştir (Ceccherelli ve ark., 1990; Barrero ve ark., 1990).

Anadolu'dan toplanan *Seseli* türleri üzerinde yapılan çalışmada, kumarinler ve uçucu yağlar ön plana çıkmıştır. Güney Anadolu'dan toplanan ve endemik bir tür olan *Seseli gummiferum* subsp. *corymbosum* (Boiss & Heldr.) P. H. Davis (Syn: *S. corymbosum* Boiss. & Heldr.) (Apiaceae)' un toprak üstü kısımlarının *n*-hekzanlı ekstresinden; bilinen bir basit kumarin ile 4 angular piranokumarin ve korimbokumarin isimli yeni bir angular dihidropiranokumarin izole edilmiştir. Korimbokumarin'in yapısı (-)-(3'S,4'S)-3'-asetoksi-4'-isovaleriloksi-3',4'-dihidroseselin şeklinde tanımlanırken diğer kumarinlerin yapısı ise; (-)-(3'S,4'S)-3'-asetoksi-4'-angeloiloksi-3',4'-dihidroseselin, (+)-(3'S,4'S)-3'-hidroksi-4'-angeloiloksi-3',4'-dihidroseselin (d-laserpitin), (-)-(3'S,4'S)-3'-angeloiloksi-4'-hidroksi-3',4'-dihidroseselin, 3'-asetoksi-4'-izobütilloksi-3',4'-dihidroseselin ve osthon olarak belirlenmiştir (Tosun ve ark., 2003 ve 2005).

Türkiye'de Kuzey Anadolu bölgesinde yetişen bir tür olan *Seseli resinosum* Freyn et Sint.'un köklerinden hazırlanan *n*-hekzanlı ekstrede kumarinlerin varlığı tespit edilmiştir. Bitkinin köklerinden 3 angular tip piranokumarin ve 2 linear tip furokumarin izole edilmiştir. Bileşikler; samidin, anomalin, kalipteriksin, izoimperatorin ve deltoin olarak tanımlanmış ve yapıları çeşitli spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır (Tosun ve ark., 2006a). Yine, *S. resinosum* üzerinde yapılan bir diğer çalışmada, *Seseli resinosum* Freyn et Sint.'un toprak üstü kısımları ve köklerinden, kemometrik HPLC metodları kullanılarak bir piranokumarin olan (-)-anomalin ve deltoinin miktarı tayin edilmiştir (Tosun ve ark., 2007a).

Türkiye’de yetiğen *Seseli hartvigii* Parolly & Nordt (endemik)’nin toprak üstü kısımlarının *n*-hekzanlı ekstresinden, bir angular tip piranokumarin (izopteriksin) ve 2 basit kumarin (suberosin ve meksotisin) izole edilmiğtir. Söz konusu bileğiklerin yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmığtır (Tosun, 2006).

Yapılan bir HPLC ćalıĖmasında, Türkiye’de yetiğen 3 farklı *Seseli* türü olan; *S. gummiferum* subsp. *corymbosum*, *S. resinosum* ve *S. hartvigii*’nin toprak üstü ve toprak altı kısımlarının *n*-hekzanlı ekstralarında, normal faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile kumarinlerin varlığı arağtırılmığtır. Bu hususta, standart örnekler kullanılarak *S. gummiferum* subsp. *corymbosum*’un toprak üstü kısımlarından elde edilmiğ olan osthol ve korimbokumarin [(-)-(3’S,4’S)-3’-asetoksi-4’-isovaleroiloksi-3’,4’-dihidroseselin] varlığı diğer türlerde de arağtırılmığtır. Ayrıca; türler içinde varlığı saptanan kumarinlerin miktarları hakkında da bilgi edinilmiğtir (Tosun ve ark., 2007b).

Bir diğer ćalıĖmada Türkiye’de yetiğen *Seseli hartvigii* bitkisinin tüm kısımlarından, dört bilinen bileğik (tamarin, bergaptol, notoptol ve beta-sitosterol ile stigmasterol karığımı) ve bir yeni doğal kumarin olan 6-(3’-metil-2’-okso-3’-butenil)-7-metoksikumarin ile linear tip furokumarin olan 5-[(2’’E, 6’’S)-6’’-hidroksi-3’’,7’’-dimetilokta-2’’,7’’-dieniloksi]psoralen, ilk kez izole edilmiğ, bileğiklerin yapısı spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmığtır. Bu kumarinler, hartvigimarın A ve B olarak isimlendirilmiğtir (Zhang ve ark., 2010).

Yine Türkiye’de yetiğen bir tür olan *Seseli resinosum*’dan yüksek hızda ters akım kromatografisi (HSCCC) ile yöntemin optimize ve revize edilmesi ile tek seferde (akığ ve hızlı bir ćekilde yüksek saflıkta 8 kumarin türevi kantitatif olarak elde edilmiğtir. Bu kumarinlerin yapısı; d-laserpitin, (3’S,4’S)-3’-angeloiloksi-4’-hidroksi-3’,4’-dihidroseselin, (+)-samidin, (3’S,4’S)-3’-asetoksi-4’-angeloiloksi-3’,4’-dihidroseselin, deltoin, kalipteriksin, (3’S,4’S)-3’,4’-disenesioiloksi-3’,4’-dihidroseselin, (-)-anomalın olarak aydınlatılmığ ve miktarları belirlenmiğtir (Shehzada ve ark., 2013).

2.2.1.2. Uçucu Yağlar ve Terpenik Bileşikler

Terpenler iki izopren molekülünün (C_5H_8) kondensasyonu ile meydana gelen hidrokarbonlardır. Uçucu yağların temel bileşikleri olan terpenlerin ana yapısını oluşturmaktadır ve uçucu yağlar terpenik bileşiklerin kompleks bir karışımı olarak (monoterpenler ve bazı seskiterpenler) bilinmektedir. Uçucu yağların bileşimini yapılan gaz kromatografisi analizleri ile belirlenmektedir. Yine *Seseli* türleri üzerinde yapılmış uçucu yağları ile ilgili çalışmalar aşağıda özetlenmiştir. Ayrıca; terpenik bileşiklerinin izolasyonuna yönelik çalışmalara da değinilmiştir.

Seseli türlerinin uçucu yağları ile yapılmış çalışmalardan biri, *Seseli elatum* L. topraküstü kısmının uçucu yağı ile olan çalışmadır. *Seseli elatum* subsp. *gouanii* (Koch) P. W. Ball. (SeG), petrol eteri kullanılarak perkolasyonla ekstre edilmiş, çözücü uzaklaştırıldıktan sonra, kalan artık, buhar distilasyonuna tabi tutulmuş ve susuz Na_2SO_4 ile kurutulduktan sonra uçucu yağ miktarı % 0.8 olarak bulunmuştur. Bu uçucu yağın, analiz sonucunda seskiterpen hidrokarbonlarca çok zengin olduğu ortaya konmuştur (Coassini ve ark., 1986).

Güneydoğu İspanya'nın denize yakın kayalıklarından toplanan ve endemik bir tür olan *Seseli vayredanum* L. (*Athamantha vayredana*) üzerinde aynı araştırmacılar tarafından yayınlamış iki farklı çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalara göre bu türün toprak üstü kısmının Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan hekzanlı ekstresinden seskiterpen yapısında pek çok bileşik izole edilmiştir (Barrero ve ark., 1992 ve 1994).

Özbekistan'da yetişen bir tür olan *Seseli macrophyllum* Regel & Schmalh [*Athamantha macrophylla* Korov., *Medisia macrophylla* (Regel & Schmalh) Pimen.]'un toprak üstü kısmından hidrodistilasyonla % 0.07 oranında uçucu yağ elde edilmiş, bu uçucu yağın, GC/MS analizi sonunda uçucu yağının, başlıca % 27.23 *p*-simen, % 15.13 timol, % 12.52 karvakrol, % 8.17 pulegon, % 7.10 mirsen ve α -felandren'den oluştuğu anlaşılmıştır (Bağcı ve ark., 1997).

İspanya'nın endemik bir türü olan *Seseli farreynii* Molero & Pujadas'ın taze yapraklarının dietilesterli ekstresinin, GC/MS analizi sonucunda elde edilen uçucu karışımın seskiterpenik bileşikler yanında monotерpenler, tetradesilasetat, tetrakozanol, heksakozanol, oktakozanol gibi bileşiklerce de zengin olduğu görülmüştür (Muckensturm ve ark., 1997).

Diğer bir çalışma *Seseli campestre* Besser'in, meyve ve herbası üzerinde gerçekleştirilmiştir. Clevenger aparatı kullanılarak yapılan hidrodistilasyonda uçucu yağ miktarı, meyvelerinde % 1.5, toprak üstü kısmında ise % 1.0 olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağların GC/MS analizleri sonucu başlıca bileşiklerinin α -pinen ve daha önce *Peucedanum palustre* (L.) Moench'de de varlığı bilinen (E)-seskilavandulol olduğu saptanmıştır. Toprak üstü kısımlarında ve meyvelerde α -pinenin sırasıyla % 35.8 ve % 26.2; (E)-seskilavandulolün de sırasıyla % 3.2 ve % 11.8 oranlarında bulunduğu belirtilmiştir. *S. tortuosum*'un uçucu yağında ise % 35.9 α -pinen, % 8.8 sabinen, % 8.4 (E)-seskilavandulol ve % 7.0 β -pinen bulunduğu görülmüştür (Bağcı ve ark., 2000; Kaya ve ark., 2003).

Galıya kıyılarından toplanan *Seseli tortuosum* L.'un çiçek tepesi ve yapraklarından distilasyonla elde edilen uçucu yağın yapısı analiz edilmiş ve uçucu yağın bileşiminde başlıca mirsen (% 29.2), α -pinen (% 18.6), β -pinen (% 13.2) ve limonen (% 10.6) varlığı tespit edilmiştir. Seskiterpenlerin arasında yalnızca akorenon kantitatif olarak (% 6.3) tespit edilmiştir. Akorenon, ilk kez *Acorus calamus*'un uçucu yağından izole edilen ve nadir rastlanan bir seskiterpen olarak bilinmektedir (Bader ve ark., 2003).

İran'da yabani olarak yetişen *Seseli tortuosum* L. ssp. *Kiabii* Akhani'den hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi yine GC/MS ile analiz edilmiş ve uçucu yağın % 93.6'sı belirlenerek, başlıca monotерpenler olmak üzere 30 farklı bileşimden oluştuğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden başlıcaları; α -pinen (% 21.2), β -fellandren (% 14.9), β -pinen (% 14.2) ve sabinen (% 13.4) olarak gösterilmiştir (Habibi ve ark., 2003).

Türkiye’de yetiğen *Seseli gummiferum* subsp. *corymbosum* ve *Seseli gummiferum* subsp. *gummiferum*’un toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağların bileğini GC/MS ile belirlenmiştir. *S. gummiferum* subsp. *corymbosum* toprak üstü kısmının uçucu yağının % 94.72’sini oluşturan toplam 282 bileğinin yapısı aydınlatılmış ve majör bileğileri bisiklogermakren (% 11.92) ve germakren B (% 14.01) olarak bulunmuştur. *S. gummiferum* subsp. *gummiferum*’un toprak üstü kısmının uçucu yağının ise % 99.82’si analiz edilerek toplamda 259 bileğinin yapısı aydınlatılmış ve majör bileğini spatulenol (% 19.91) olarak bulunmuştur (Tosun ve ark., 2005).

Türkiye’de yetiğen *Seseli petraeum* M. Bieb. ve *Seseli andronakii* Woron.’un meyvelerinden hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağların yapısı GC ve GC/MS ile analiz edilmiştir. *S. petraeum*’un total uçucu yağının % 95.7’sini oluşturan 32 bileğinin yapısı aydınlatılırken, *S. andronakii*’nin total uçucu yağının % 91.5’ini oluşturan 30 bileğinin yapısı da belirlenmiştir. Bağılcı bileğiler; *S. petraeum* için, karotol (% 20.7), γ -terpinen (% 11.3), sabinen (% 9.5) ve germakren D (% 7.8) olup; *S. andronakii* için ise karotol (% 52.7) ve germakren D (% 8.7) olarak tespit edilmiştir (Tosun ve ark., 2006b).

Yine Türkiye’de yetiğen *Seseli resinosum* Freyn et Sint. ve *Seseli tortuosum* L.’nin meyvelerinden hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağların GC ve GC/MS ile analizleri yapılmıştır. *S. tortuosum*’un uçucu yağının % 98.3’ünde 27 bileğen, *S. resinosum*’un uçucu yağının tamamında 22 bileğen tespit edilmiştir. *S. resinosum*’un uçucu yağının ana bileğileri β -pinen (% 37.5), 4 α -hidroksigermakra-1-(10)-5-dien (% 21.7) ve α -pinen (% 13.7), *S. tortuosum*’un ise (E)-seskilavandulol (% 37.5), sabinen (% 19.7), α -pinen (% 13.5) ve β -fellandren (% 7.8) olarak aydınlatılmıştır (Tosun ve ark., 2006c)

Ülkemizde Van yöresinden toplanan *Seseli libanotis*’in toprak üstü kısımlarının uçucu yağında bağılcı bileğilerin; trans-karyofillen (% 20.39), spatulenol (% 11.89), (-)-karyofillen oksit (% 11.47), evasaron (% 10.66) ve γ -kadinen (% 9.16) olduğu rapor edilmiştir (Öztürk ve Erciğil, 2006).

Sırbistan’da yetiğen *Seseli peucedanoides*’in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın bileğini GC ve GC/MS ile belirlenmiştir. Uçucu yağın % 96.3’ünü tespit edilmiş olan 46 bileğin oluşturmakta ve bu bileğelerin bağlaları; α -pinen (% 69.4), β -pinen (% 4.9) ve limonen (% 4.6) olduğu ortaya konmuştur (Vanja ve ark., 2006). Yine Sırbistan’da yabancı olarak yetiğen *S. annuum*’un toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağın % 96.5’inin yapısı GC ve GC/MS ile aydınlatılarak, 43 bileğinin yapısı belirlenmiştir. En fazla miktarda bulunanlar sırasıyla; germakren D (% 29.8), sabinen (% 10.3), β -osimen Z (% 9.8) ve limonen (% 8.6) olarak rapor edilmiştir (Milosavljevic ve ark., 2007).

Bir diğer çalışmada Kuzey Batı Anadolu’da yetiğen *Seseli campestre* Besser’in toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyonu ile elde edilen uçucu yağların yapısı GC ve GC/MS yöntemleri ile araştırılmıştır. Yağların % 97.1 kadarını temsil eden 30 bileğiktanımınmıştır. Uçucu yağ ana bileğeleri; α -pinen (% 38.6 $\pm$ 0.5), β -pinen (% 17.5 $\pm$ 0.1) ve (E)-seskilavandulol (% 10.3 $\pm$ 0.8) olarak bulunmuştur (Kaya ve ark., 2010).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada ise, *Seseli montanum* L. subsp. *tommasinii* Reich. f.’den elde edilen uçucu yağın GC/MS çalışmaları sonucunda, β -pinen (% 30.2), germakren D (% 10.1), sabinen (% 8.0), α -pinen (% 7.2) ve limonen (% 6.6) ana bileğeler olarak belirlenmiştir (Silijegovic ve ark., 2011).

Bir başka çalışmada, Clevenger cihazı kullanılarak yapılan distilasyonla elde edilen *Seseli globiferum* Vis.’in toprak üstü kısımlarının uçucu yağı GC/MS ile analiz edilmiş % 99.4’ü tanımlanan uçucu yağın içeriğinde bağla bileğeleri; sabinen (% 38.0), α -pinen (% 21.2) ve β -fellandren (% 13.5) olarak teğhis edilmiştir (Janackovic ve ark., 2011).

Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada Portekiz’de yetiğen *Seseli montanum* subsp. *peixotoanum* ve *Seseli tortuosum* L.’un olgun meyvelerinden su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlarının bileğelerinin yapıları GC/MS ile aydınlatılmıştır. Her iki uçucu yağın ana bileğeni monoterpen hidrokarbonlar (% 79.2-85.4) olarak

tespit edilmiştir. *S. tortuosum*'un uçucu yağının en önemli monoterpenik bileşimleri, α -pinen (% 24.8-24.9), β -pinen (% 23.5-23.9) ve *Z*- β -osimen (% 13.3-16.0) olup, *S. montanum* subsp. *peixotoanum*'un ise α -pinen (% 36.0-37.1), β -pinen (% 22.5-23.6) ve limonen (% 7.7-8.8) olmuştur. *Z*- β -osimen ise minör bileşik olarak bu türde bulunmuştur. *S. montanum*'un farklı yerlerden toplanan iki örneği arasında β -elemen yine ana seskiterpenik bileşik olarak belirlenmiştir (Gonçalves ve ark., 2012).

2.2.1.3. Flavonoidler

Flavonoidler de yine bitkilerde çok sık rastladığımız önemli sekonder metabolitlerden biridir. Sarı renkli olmaları nedeniyle latince “sarı” anlamına gelen “flavus” sözcüğünden türetilmiştir olup, 15 karbon atomlu 2-fenil benzopiron (difenilpropan) yapısını gösterirler. Flavonoidlerin antioksidan özelliklerinin yanında anti-inflamatuvar, antiviral, antiallerjik, antitrombotik etki gibi bir çok etkisinin olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Kahraman ve ark., 2002).

Yapılan başka bir çalışmada *Seseli annuum*'un köklerinden prenilenmiş bir flavanonol türevi olan seselinonol izole edilmiş ve bu bileşiklerin yapıları da spektroskopik analizlerle aydınlatılmıştır (Vuckovic ve ark., 2010).

Yine farklı bir çalışmada Sırbistan'da yabani olarak yetişen *Seseli pallasii* Besser, *S. libanotis* (L.) Koch. ssp. *libanotis*, *S. libanotis* (L.) Koch. ssp. *intermedium* (Rupr.) P. W. Ball'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstraktlarında flavonoidlerin varlığı tespit edilip total fenolik madde içeriği ile total flavonoid miktarları ölçülmüştür (Matejic ve ark., 2012).

2.2.1.4. Diğer Bileşikler

Seseli sibiricum Benth.'in toprak üstü kısmının *n*-hekzan ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen yağlı artığın, nötral Al_2O_3 ile kromatografiye edilmesi sonucu, *n*-hekzan,

n-hekzan:benzen, benzen:kloroform ve kloroform ile devam eden elüsyon sisteminde, kumarin bileşiklerinin yanında sinnamik asit türevlerinden olan sesebrinik asitin de izole edildiği belirtilmiştir (Banerjee ve ark., 1987).

Fenilpropanoid yapısında bileşiklerin varlığı *Seseli varyedanum* L.'un toprak üstü kısmının hekzanlı ekstresinde miristisin, öjenolmetileter, elemisin, latifolon, elitro-1-hidroksi-2-anjeloiloksi-3', 4'-metilendioksi-5'-metoksi-1-fenilpropan, *treo*-1-hidroksi-2-anjeloiloksi-3',4'-metilendioksi-5'-metoksi-1-fenilpropan, laserin ve 2-epilaserin gibi bileşiklerin izole edilip saptandığı rapor edilmektedir (Barrero ve ark., 1992).

İspanya'da endemik bir tür olan *Seseli farreynii* Molero & Pujadas üzerinde yapılmış kinonik bileşiklerin izolasyonu ile ilgili olan bir çalışmada bu konu ile yapılan ilk çalışmadır. Bu araştırmada sonunda bitkinin taze yapraklarının dietileterli ekstresinin silikajel kullanılarak yapılmış kolon kromatografisi ve petroleteri:etil asetat elüsyonu ile 7-demetilplastokromenol-2, seskiterpen kinon (*Ligusticum chuangxiong*'dan izole edilip 2-farnesil-6-metil-benzokinon olarak isimlendirilmiş bileşik) ve bir hidrokinon izole edilerek, yapıları çeşitli spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır (Muckenstrum ve ark., 1997).

Leonti ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada Sardinya Adası'ndan toplanan endemik *Seseli praecox*'un kurutulmuş ve öğütülmüş dallarının diklorometanlı ekstresinden poliasetilenik bir alkol olan falkarinol izole edilmiştir. Falkarinol (diğer isimleriyle panaksinol veya karotatoksin), deride iritan özellik gösteren, havuç, fasulye, kereviz ve tıbbi bir bitki olan *Panax ginseng*'in içerisinde de bulunan bir flavonoid türevidir (Leonti ve ark., 2010).

2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.3.1. *Seseli* Türlerinin Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.3.1.1. Antimikrobiyal Etki

Seseli türleri üzerinde en çok yapılan biyolojik aktivite çalışmaları, antimikrobiyal aktivite tayini olarak ön plana çıkmaktadır. Bu konu üzerinde daha önce yapılmış olan çalışmalar aşağıda açıklanmıştır.

Seseli libanotis, *Ligusticum stewartii*, *Pycnocycla aucheriana*'dan elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal potansiyelleri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae* ve *Salmonella typhi* gibi patojen bakterilere karşı etkileri incelenmiştir. *Seseli libanotis*'in uçucu yağının, özellikle *Staphylococcus aureus*'a karşı çok etkili olduğu bulunmuştur (Syed ve ark., 1989).

Seseli libanotis'in tohumlarının uçucu yağı kullanılarak yapılan başka bir çalışmada 5 farklı bakteri türüne (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae* ve *Salmonella thypi*) karşı güçlü antibakteriyel etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Meena ve ark., 1989).

Pek çok uçucu yağın fungitoksik etkiye sahip olduğu da bilinmektedir. *Seseli indicum* W. & A.'un uçucu yağının da diğer bazı uçucu yağlarla karşılaştırıldığında daha yüksek bir fungitoksik aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Gıda olarak kullanılan bazı tohumların depolanması esnasında meydana gelebilecek bozulmalara karşı, *S. indicum* uçucu yağının, korunma amaçlı kullanılabileceği ve böylece doğal bir koruyucu olabileceği belirtilmiştir (Chaturvedi ve Tripathi, 1989).

Apiaceae familyasının pek çok türünde bulunmakla birlikte *Seseli* türlerinde de bulunan angular bir piranokumarin türevi olan suksdorfinin anti-HIV etkisi *in vitro* olarak denenmiş ve etkili olduğu görülmüştür (Huang ve ark., 1994).

Yapılan bağka bir çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan *Seseli* L. türlerinin (*Seseli gummiferum* Pall. ex. Sm. subsp. *corymbosum* (Boiss. & Heldr.) P. H. Davis, *Seseli gummiferum* Pall. ex. Sm. subsp. *gummiferum*, *S. resinosum* Freyn. & Sint ve *S. hartvigii* Parolly & Nordt) toprak üstü ve toprak altı kısımlarından elde edilen *n*-hekzanlı ekstrelerin ve toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağların Gram (–) bazı bakteriler (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), Gram (+) olanlar (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*) ve bir mantar (*Candida albicans*)'a karş agar disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteleri taranmıştır. *S. resinosum* ve *S. hartvigii*'nin toprak üstü kısımlarının *n*-hekzanlı ekstreleri ile *S. gummiferum* subsp. *gummiferum*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923, 29213)'un iki farklı suşuna karşı antimikrobiyal aktivite gsterdiēi belirlenmiştir. Bunun yanında, *S. resinosum*'un toprak altı kısımlarının *n*-hekzanlı ekstresinin de *S. aureus* (ATCC 25923)'a karşı antimikrobiyal etki gsterdiēi tespit edilmiştir. Bu etkilerin çok kuvvetli olmadıēından da söz edilmiştir (Tosun ve ark., 2004).

Bağka bir çalışmada Van yöresinden toplanan *Seseli libanotis*'in toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi eēili bakterilerin farklı suşlarına karşı antibakteriyel etkinliēi disk difüzyon yöntemi ile llmşve ekstrenin özellikle *Bacillus cereus*, *B. dipsauri*, *B. lentimorbus*, *B. sphaericus*, *B. subtilis*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Kocuria rosea*, *Neisseria subflava* ve *Micrococcus lylae*'e karşı geniş pktrumlu antibakteriyel aktiviteye sahip olduēu bulunmuştur. Aynı alışmada *S. libanotis*'in toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın GC/MS ile yapısı aydınlatılmış ve uçucu yağın minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) deēeri, mikrobrot dilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (ztrk ve Erciēli, 2006).

Sırbistan'da yabani olarak yetiēen *Seseli annuum*'un toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağın 15 farklı mantar üzerindeki antifungal etkisi araştırılmış, MIC deēerleri 12.5-50 μ L/mL olarak bulunmuştur (Milosavljevic ve ark., 2007).

Polonya’da yabani olarak yetien *Seseli libanotis*’in meyvelerinden elde edilen uçucu yağın standart bakteri suarına ve klinik *Staphylococcus aureus* izolatlarına karşı MIC (minimum inhibisyon konsantrasyonu) ve MBC (minimal bakterisidal konsantrasyon) değerleri bulunmuştur. Uçucu yağın, Gram (+) bakterilere karşı olan antibakteriyel etkinliğinin, Gram (–) bakterilere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Gram (+) bakteriler için MIC değerleri 0.15 ile 1.25 mg/mL arasında iken, Gram (–) bakteriler için 1.25 ile 2.5 mg/mL arasında bulunmuştur (Wozniak ve ark., 2010).

Seseli globiferum’un toprak üstü kısımlarından distilasyonla elde edilen uçucu yağın bakteri suarı ve mantarlar üzerindeki antimikrobiyal etkisi brot mikrodilüsyon metodu kullanılarak aratırılmıtır. Uçucu yağ, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus flavus*, *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* bakterileri ile *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus niger* ve *Trichoderma viride* mantar türlerine karşı aktivite göstermiştir (Janackovic ve ark., 2011).

Seseli montanum L. subsp. *tommasinii* Reich. f.’den izole edilen uçucu yağın antimikrobiyal etkisi, bitki ve hayvanlarda patojen olan, deri döküntülü mantar hastalığına sebep olan ve yiyeceklerle kontamine olan mantar ve bakteri türlerine karşı aratırılmıtır. Uçucu yağın söz konusu türlere karşı etkili olduğu anlaşılmıştır (Silijegovic ve ark., 2011).

Bir başka çalışmada, Sırbistan’da yabani olarak yetien *Seseli pallasii* Besser, *S. libanotis* (L.) Koch ssp. *libanotis* ve *S. libanotis* (L.) Koch ssp. *intermedium* (Rupr.) P. W. Ball’un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstrelerinin *in vitro* ortamda antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri aratırılmıtır. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi, çok yaygın olan insan gastrointestinal sistem üzerine patojen olan bakteriler ile “micro-well” dilüsyon yöntemi kullanılarak ölçölmüve söz konusu ekstrelerin bu türlerin bir kısmının gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Matejic ve ark., 2012).

Bir diğer çalışmada *Seseli tortuosum* ve *S. montanum* subsp. *peixotoanum*’un olgun iek durumları ve tohumlarından elde edilen uçucu yağların biyolojik etkileri aratırılmıtır. Uçucu yağların yapısı GC ve GC/MS ile aydınlatılırken, bira mayası,

dermatofitler ve *Aspergillus* cinsine karşı antifungal aktivitesi de ölçülmüştür. *S. tortuosum*'un uçucu yağının *S. montanum*'un uçucu yağından daha yüksek antifungal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Gonçalves ve ark., 2012).

2.3.1.2. Sitotoksik Etki

Seseli mairei Wolf.'un köklerinin etanollü ekstresinin fraksiyonlarının sitotoksik etkileri araştırılmıştır. KB, P-388, L-1210 tümör hücrelerine karşı (ED₅₀: 20 µL/mL) sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Hu ve ark., 1990).

Sırbistan'da yetiştirilen *Seseli annuum* üzerinde yapılan bir çalışmada bitkinin toprak üstü kısımlarından izole edilmiş olan seselinon ve ödesmin C6 sıçan glioma hücre kültürlerine karşı sitotoksik aktivite göstermiş ve bu aktivite MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] yöntemi ile ölçülmüştür. Bu deneyde referans olarak sisplatin kullanılmıştır (Vuckovic ve ark., 2007).

Seseli annuum'un köklerinden izole edilen seselinonol ve fellopterin, CBMN (Cytochalasin-B bloke edilmiş mikro çekirdek yöntemi) ölçüm yöntemi kullanılarak insan periferik lenfositlerindeki kromozom anormalliklerine karşı koruyucu etkisi *in vitro* olarak test edilmiştir. Bu bileşikler, insan lenfositlerindeki DNA hasarının azaltılmasında olumlu bir etki göstermiştir (Vuckovic ve ark., 2010).

Bir başka çalışmada, Hint kerevizi olarak da bilinen *Seseli diffusum* (Roxb. ex Sm.)'un tohumlarından hazırlanan % 80'lik MeOH:H₂O (metanol:su) ekstresinden bazı bileşikler izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerden, seselin ve antirisinol metil eter bazı maya ırklarına karşı seçici sitotoksik aktivite göstermiştir (Abbaskhan ve ark., 2012).

Portekiz'de yetiştirilen *Seseli tortuosum* ve *S. montanum* subsp. *peixotoanum*'un uçucu yağlarının insan keratinositleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi, yine MTT yöntemi ile tespit edilmiştir. Sonuç olarak, *S. tortuosum*'un uçucu yağının 0.64 µL/mL'den daha

yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında insan keratinositleri üzerinde sitotoksik etkinin varlığı ortaya çıkmıştır (Gonçalves ve ark., 2012).

2.3.1.3. Antioksidan Etki

Yapılan bir çalışmada *S. rigidum*'un çiçeklerinden elde edilen uçucu yağının antibakteriyel ve antifungal etkilerinin yanında antioksidan aktivite de gösterdiği tespit edilmiştir. Uçucu yağın serbest radikal süpürücü kapasitesi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi ile belirlenmiştir. Yağın DPPH'ın % 50'sini süpürücü etki sağladığı konsantrasyon, SC_{50} : 24.5 μ L/mL olarak bulunmuştur. Antioksidan aktivitesi, askorbik asit (SC_{50} : 4.1 μ L/mL) veya gallik asit (SC_{50} : 1.5 μ L/mL) ile kıyaslandığında ise serbest radikal süpürücü etkisinin daha düşük olduğu bulunmuştur (Stajkovic ve ark., 2009).

Seseli diffusum (Roxb. ex. Sm.) (Santapau & Wagh)'un tohumlarından hazırlanan metanollü ekstreden izole edilen izopimpinellin ve izorutarin düz kaslar üzerinde spazmolitik etki gösterdiği tespit edilirken, izorutarinin kuvvetli antioksidan aktivite gösterdiği de rapor edilmiştir (Abbaskhan ve ark., 2012).

2.3.1.4. Anti-inflamatuvar Etki

Çin'in Yun-Yan ve Si-Chuan bölgelerinde yetişen *Seseli mairei* Wolf.'ün kökleri, yaygın olarak halk arasında inflamasyon, Gıgık, romatizma, ağrı ve soğuk algınlığına karşı bıkisel ilaç olarak kullanıldığı kayıtlıdır (Hu ve ark., 1990).

Seseli indicum'un tohumlarından elde edilen seselinin, anti-inflamatuvar etkisinin yanında analjezik, antipiretik ve antikonvülzan etkileri de araştırılmıştır. Bunun sonucunda seselin bileğinin doza bağlı olarak gelişen anti-inflamatuvar etkisi, farelerde karrageninle indüklenen akut inflamasyonda gözlenmiştir. Bunun yanında, farelerde asetik asit ile indüklenmiş ağrıdan dolayı oluşan kıvranmalarda önemli bir

analjezik etkisinin olduğundan da söz edilmiştir (Tandan ve ark., 1990; Garcia-Argaez ve ark., 2000).

Türkiye’de yetiştirilen *Seseli* türlerinin, etil asetatlı ve metanollü ekstreleri *in vivo* ortamda anti-inflamatuvar ve antinosiseptif etkileri araştırılmıştır. *S. andronakii*, *S. campestre*, *S. gummiferum* subsp. *corymbosum*, *S. petraeum*, *S. resinosum* ve *S. tortuosum*’un etil asetatlı ekstreleri *p*-benzokinon ile indüklenmiş abdominal kasılma testinde sırasıyla % 30.1, 32.3, 36.9, 39.8, 35.1, 37.6 inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, *S. gummiferum* subsp. *corymbosum*, *S. petraeum*, *S. resinosum* ve *S. tortuosum*’un etil asetatlı ekstreleri; gastrik hasar oluşturmeyen dozlarda karageninle indüklenmiş arka pençe ödeminde referans ilaç olarak indometazin (% 41.8-44.8 inhibisyon) kullanılarak inhibisyon oranları sırasıyla % 24.5-29.7, 28.1-33.3, 17.4-27.5, 27.9-31.3 olarak kaydedilmiştir (Küpeli ve ark., 2006).

Seseli gummiferum Pall. ex Sm. subsp. *corymbosum* (Boiss. & Heldr.) P. H. Davis’un toprak üstü kısımlarından elde edilen *n*-hekzan ve etil asetat ekstreleri yanında, izole edilen kumarin türevlerinin de *in vivo* ortamda anti-inflamatuvar ve antinosiseptif etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Ekstrelerin, fareler üzerinde *p*-benzokinon ile indüklenmiş ağrıdan dolayı oluşan kıvranmalar ve karageninle indüklenmiş arka pençe ödeminde karşı belirgin inhibe edici aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Tosun ve ark., 2009).

Yapılan bir çalışmada *Seseli resinosum* Freyn et Sint.’un köklerinden elde edilen bir piranokumarin olan (–)-anomalinin (Tosun ve ark., 2006a), (Bir Çin bitkisi olan *Saposhnikovia divaricata*’da da bulunmaktadır) anti-inflamatuvar etkisi araştırılmıştır. Bunun sonucunda, anomalinin güçlü anti-inflamatuvar etki gösterdiği tespit edilmiş ve bu bileşiğin enflamasyonla ilgili hastalıkların tedavisinde de kullanılabileceği konusunda dayanak oluşturacağı kanısına varılmıştır. Konu ile ilgili patent çalışmaları ilgili araştırmacılar tarafından devam etmektedir (Khan ve ark., 2011).

2.3.1.5. Kalsiyum Antagonisti ve Koroner Vazodilatatör Etki

Seseli türlerinde kalsiyum antagonisti gibi hareket eden furokumarinler mevcuttur. Böylece kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanıldıklarına yönelik bilgiler de bulunmaktadır. Ostol ve ksantotoksin ile yapılmış bir çalışmada ostolün güçlü kalsiyum antagonisti olarak hareket ettiği anlaşılmıştır. Ayrıca (+)-cis-kellakton diesterlerinin de koroner vazodilatatör etkileri bilinmektedir (Kozawa ve ark., 1980; Ojala ve ark., 2001).

S. libanotis'ten elde edilen (+)-cis-kellakton-sülfatesterleri, dihidropirano kumarinlerin ve dihidrofuranokumarinlerin cAMP-fosfodiesterazı inhibe edici etkilerinden dolayı spazmolitik ve koroner vazodilatatör olarak etki gösterdikleri anlaşılmıştır (Lemmich ve Shabana, 1984). *Seseli libanotis*'in tohumlarının Pakistan'da kan basıncı kontrolü için kullanıldığı bilinmektedir (Syed ve ark., 1989).

2.3.1.6. Böcek Kaçırıcı Etki

Seseli indicum'un meyvelerinden hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağların, böcek kaçırıcı etkisi *Luvunga scandensi* ve *Nordostachys jatamansi* üzerinde incelenmiş bu uçucu yağların içerisinde en yüksek böcek kaçırıcı etki, *S. indicum*'un uçucu yağında bulunmuştur (Dixit ve ark., 1992).

Seseli elatum'a ait alt türlerden elde edilen izopimpinellinin yılanlara karşı öldürücü bir zehir olduğu, parazitik solucanlara karşı etkili olup, diüretik etkiye de sahip olduğu literatürde kayıtlıdır (Coassini ve Delben, 1988). *Seseli indicum*'un tohumlarının da karminatif, stomaçıkve stimülan etkileri yanında, antihelmintik bir etkiye sahip olduğu da bilinmektedir (Tandan ve ark., 1990).

Pakistan'dan toplanan Hint kerevizi olarak bilinen *Seseli diffusum* (Hint kerevizi)'un olgunlaşmamış tohumlarının etanollü ekstresi, bir sivrisinek türü olan *Aedes aegypti*

(L.) (Diptera:Culicidae)'ye karşı büyümei önleyici, larvisidal ve nörodavranısal toksik etkileri olduğu tespit edilmişti (Kabir ve ark., 2013).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Ankara'nın yakınında bulunan Ğris Dağı'ndan (1800 m), 10/Temmuz/2012 ve 1/Eylöl/2012 tarihinde toplanan *Seseli gummiferum* (Resim 3.1; Resim 3.2) ile Antalya'nın Akseki ilçesine bağı Pınarbağı Köyü yakınlarındaki Çataloluk mevki, (1650-1900 m) sarp kayalıklarından 5/Ağustos/2012 ve 25/Eylöl/2012 tarihlerinde toplanan *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum* 'un (Resim 3.3) toprak üstü, toprak altı kısımları ve meyveleri çalışmamateryali olarak kullanılmıştır. Toplanan bitkiler, Prof. Dr. Hayri Duman (Gazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Faköltesi, Biyoloji Bölümü) ve Prof. Dr. Alev Tosun (Ankara Üniversitesi, Eczacılık Faköltesi, Farmakognozi Anabilim Dalı) tarafından teğhisedilmiştir. Bitki örnekleri, uygun Ėekilde preslenip, kurutulup, derin dondurucuda yeterli süre bekletildikten sonra herbaryum örneğı haline getirilmiştir. Örnekler Ankara Üniversitesi Eczacılık Faköltesi Herbaryumu'nda muhafaza edilmektedir (AEF 26264 ve AEF 26262). Toplanan bitkiler uygun koğularda kurutulduktan sonra toprak üstü ve toprak altı kısımları birbirinden ayrılmış daha sonra bu kısımlar değirmende ayrı ayrı toz edilmiştir. Meyveler ise deneysel çalışmalara yapılana kadar buzdolabında (0-8 °C) saklanmıştır.



Resim 3.1. *Seseli gummiferum* Pall. ex. Sm.
Çiçekli Görünümü



Resim 3.2. *Seseli gummiferum* Pall. ex. Sm.
Çiçekli Görünümü



Resim 3.3. *Seseli corymbosum* Boiss. & Heldr. subsp. *corymbosum*

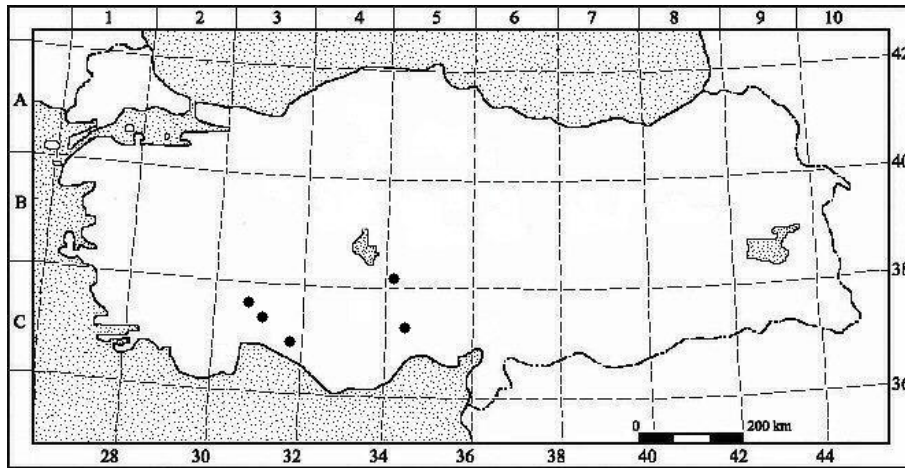
3.1.1. Toplanan Örneklerin Tür Özellikleri

3.1.1.1. *Seseli corymbosum* Boiss. & Heldr. subsp. *corymbosum* Tür Özellikleri

Bu tür, Davis'in Türkiye Florası'nda *Seseli gummiiferum* subsp. *corymbosum* Boiss. & Heldr. P. H. Davis olarak kayıtlıdır (Davis, 1972). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada detaylı morfolojik ve anatomik incelemeler sonucunda, bu alt türün, tür seviyesine yükseltilerek *Seseli corymbosum* olarak adlandırılmasına ve yine aynı çalışmada 2010 yılında Rus bilim adamları Pimenov ve Kljuykov'un, Eskişehir bölgesinden topladıkları ve yeni bir tür olarak tanımladıkları *Seseli phrygium*'un yine yapılan detaylı incelemelerin ardından *Seseli corymbosum*'un alt türü olduğuna karar verilmiş ve adı *Seseli corymbosum* subsp. *phrygium* olarak değiştirilmiştir. Bunun sonucu olarak *Seseli corymbosum*'un ismi, son hali olan *Seseli corymbosum* Boiss. & Heldr. subsp. *corymbosum* olarak kayıtlara geçirilmiştir (Pimenov ve Kljuykov, 2010; Güner ve Duman, 2013). *Seseli gummiiferum* subsp. *corymbosum* Boiss. & Heldr. P. H. Davis'in Türkiye Florası'nda yer alan tür özellikleri aşağıda verilmiştir.

Çok yıllık veya monokarpik, gövde birden fazla, tüysüz, silindirik, hafif çıkıntılı, 30-60 cm; gövde tabanı lifsiz. Taban yapraklar ovat veya oblong-ovat, c. 20x10 cm, 2-pinnat, donuk-mavimsi yeşil seyrek pubescent; uçtaki yaprak parçaları linear veya linear oblong, 20-30x1.5-3 mm; petiol, orta damara hemen hemen eşit üstteki gövde yaprakları kısa saplı. İçinler 15-30 adet, hemen hemen aynı boyda, 2.5-6 cm, sık pilos. Brakteler 0-1. Brakteoller c. 12, tabanda birleşik, 2.5x0.5 mm. Küçük umbellalar 60-80 çiçekli. Petaller beyaz. Pedisel 0-1 mm. Meyve oblong, c. 3 x 1-1.5 mm, sık tüylü, çiçeklenme zamanı 7-9. aylar. Kireçli kayalıklar, 1300-1700 m.

Tip. [Türkiye C3 Isparta] Tortçalar üstündeki Anamas Dağı çamlık bölge kayalıklarının çatlaklarında, 1220 m, 1845 Ağustos, *Heldrich* (K!) (Davis, 1972).



Şekil 3.1. *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum*'un Türkiye'deki Yayılışı

Seseli corymbosum subsp. *corymbosum*'un Türkiye'deki yayılışı Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Başlıca Güney Anadolu. C3. Isparta: d. Sütçüler, Sarp Dağlarının batı tarafında, D. 15787! Antalya: d. Gebiz, Bozburun Dağı, D. 15511! C5 Adana: d. Karaisalı, Gülek Boğazı, D. 16468! Niğde: d. Ulukışa, Alihoca ve Bulgar Madeni arası, 1300 m, D. 16419!

Endemik. E. Medit. Element (Davis, 1972).

AEF'de kayıtlı örnekler (AEF 21701), ANK'deki kayıtlı örnekler (ANK 15787, ANK 16468), GAZI'deki kayıtlı örnekler (GAZI 2970, GAZI 1584) görülmüştür.

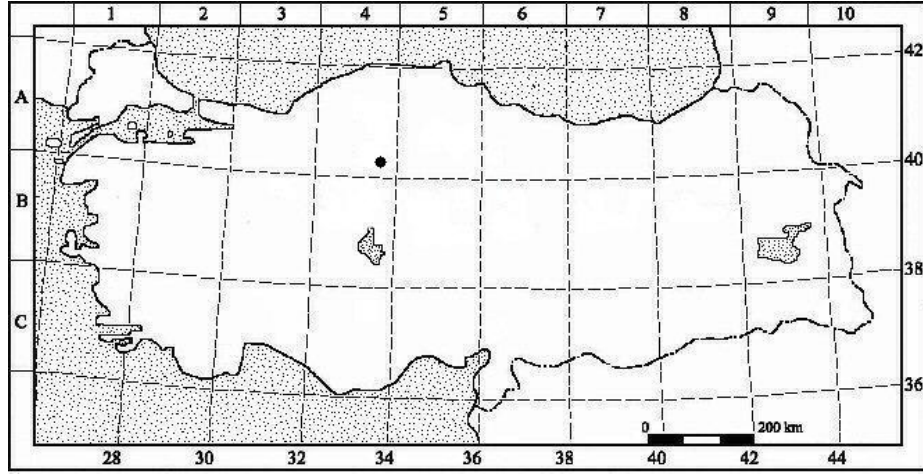
3.1.1.2. *Seseli gummiferum* Pall. ex Sm. Tür Özellikleri

Türkiye Florası'nda iki alt tür olarak tanımlanan *Seseli gummiferum* subsp. *gummiferum* ve *Seseli gummiferum* subsp. *corymbosum*, son yıllarda yapılan çalışmalarda birbirinden oldukça ayırıcı özellikler gösterdiği ve bu özelliklerin tür seviyesinde ayırıcı nitelikte olduğu tespit edilmiştir. Yapılan morfolojik çalışmaların sonucunda, bu iki alt türün, *Seseli gummiferum* ve *Seseli corymbosum* olarak iki ayrı tür seviyesine yükseltilmesi uygun görülüp bu şekilde düzeltilmiştir (Güner ve Duman, 2013). Bu sebeple yukarıdaki bağıklarda kullanılan tür isimleri, yeni düzenlenmişle verilmiştir.

Seseli gummiferum Pall. ex Sm., çok yıllıktır. Yapraklar, tabandan süregelen saplı fibröz ve non-fibröz. Gövde, 1 ya da daha fazla, tabanda dallanmış, 19-39 cm, tüysüz veya yumuşak tüylü soluk yeşil veya soluk mor. Taban yapraklarının anahatları ovatlansolat, 2-pinnat, 1.6-15x4.5 cm, tüysüz veya hafif tüylü, yaprak segmentleri lansolat, 4-10x1.5 mm. Gövde yaprakları, taban yapraklarına benzerlik gösterir, yukarı doğru eğimli, 1.1-3x1.5 cm, terminal yaprak segmentleri linear, 0.5-8x0.5-1 mm, kılıflar 1.5-2x0.8 cm. Ana umbel, 13-30 ışıklı, ışıklar 2-5 cm, eşit veya değil, yoğun tüylü veya nadiren tüysüz. Brakteeler (0-1-2)-8-16, lansolat veya filiform (iplik şeklinde), trifid (üçlü), 8-15x1-3 mm, hafif tüylü. Umbelluluslar 7.5-13 mm çapında, 60-70 çiçekli. Brakteoller tabanda bitişik, 11-20, lansolat, 5x2.5 mm, sivri, tüylü, kenarları beyaz zarlı veya derin dişli. Lateral (yan) umbeller, 15-20 ışıklı, ışıklar 6-25 mm. Brakteeler 5-7x2 mm. Umbelluluslar 5-8 mm çapında, 40-60 çiçekli. Brakteoller 2x1 mm. Saplar çok kısa, hafif tüylü. Sepaller beyazımsı, ovat, c.1 mm., meyvede devamlı. Petaller beyaz-lila, tüylü. Stilopodyum konik. Ovaryum tüylü. Meyveler oblong-eliptik, 3.5-4x2 mm, yoğun tüylü. Fl: 6-8. Habitatları: Kaya yarıkları, kireç taşları, 1500-2200 m (Güner ve Duman, 2013).

Türkiye Florası'na göre, *Seseli gummiferum* Pall. ex Sm. subsp. *gummiferum* [Sin: *S. paphlagonicum* Pimenov & Kljuykov, Flora of Mediterranean, 20:19-27, (2010)], *Seseli gummiferum* subsp. *corymbosum* (Boiss. & Heldr.) P. H. Davis'den (Resim 3.3) braktee sayısının 8-16 olması ile farklıdır. Çiçeklenme ve meyveye geçme

dönemleri 6-9. aylar. 1700 m (Duman, 2000). Yeni ismiyle verilen *Seseli gummiferum*'un Türkiye'deki yayılışı Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. *Seseli gummiferum*'un Türkiye'deki Yayılışı

Tip. Oxford Bot. Garden ve Hort. Lady Hume'de kültür.

Orta Anadolu. A4 Ankara: Hasanoğlu, Çarşı Dağı, Hasanoğlu'nun üstü, 1500-1600 m, N. Tanker ve ark. (AEF 16348!); ibid., Adilahmet Köyü üstü, 1700 m, M. Koyuncu 7756! (Duman, 2000).

Kırım Yarımadası (Duman, 2000)

AEF'de kayıtlı örnekler (AEF 16347, AEF 21699, AEF 16348), GAZI'deki kayıtlı örnekler (GAZI 1583) görülmüştür.

3.2. Yöntem

3.2.1. Uçucu Yağ Eldesi

Türkiye'nin farklı lokalitelerinden toplanan örneklerin, *Seseli gummiferum* (SG) ve *S. corymbosum* subsp. *corymbosum* (SC) meyveleri bitkinin diğer kısımlarından dikkatli bir şekilde ayrılarak ve temizlenerek kabaca toz edilmiştir. Meyvelerin uçucu

yağları, Clevenger cihazında (Avrupa Farmakopesi'ne göre hazırlanmış olan) hidrodistilasyon yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Bunun için, öğütülmüş örneklerden 30'ar gram tartılıp balonlara konularak, balonlar yarıya kadar distile su ile dolduruldu. Her iki balon ayrı ayrı Avrupa Farmakopesi'ne uygun Clevenger cihazına bağlanarak ve bu yöntem kullanılarak (Avrupa Farmakopesi, 2010), mantolu ısıtıcılar üzerinde 3 saat süreyle hidrodistilasyon yapıldı. Yapılan distilasyon sonucu her iki bitkinin meyvelerinden elde edilen uçucu yağların miktarları belirlenerek, uçucu yağ verimleri hacim/ağırlık (h/a) olarak hesaplandı.

3.2.2. Ekstrelerin Hazırlanışı

Seseli gummiferum ve *S. corymbosum* subsp. *corymbosum*'un uygun şekilde kurutulup toz edilen toprak üstü (herbasının) ve toprak altı kısımlarının (köklerinin) her birinden 40'ar gram tartıldı. Tartılan 4 farklı örnek ayrı ayrı Soxhlet apareyinde, *n*-hekzan, etil asetat ve metanol kullanılarak her biri ile 8'er saat boyunca mantolu ısıtıcı üzerinde devamlı sifon yapmaları sağlanarak ekstre edildi. Elde edilen ekstreler rotavapor (BÜCHI Rotavapor R-200) cihazı kullanılarak yoğunlaştırıldı. Yoğunlaştırılan ekstreler tartılarak, miktarları belirlendi. Bu ekstreler daha sonra kromatografik çalışmada kullanılmak üzere saklandı.

3.2.3. Kromatografik Yöntemler

3.2.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi

Çalışmamızda ekstrelerin ve uçucu yağların, ince tabaka kromatografisi (İTK) ile analizleri yapılmış ve fotoğrafları çekilmiştir (Olympus BX50 mikroskobuna bağlı fotoğraf makinası). Toplanan *Seseli gummiferum* ve *S. corymbosum* subsp. *corymbosum*'un toprak üstü ve toprak altı kısımlarından elde edilen *n*-hekzan, etil asetat ve metanollü ekstreler İTK plaklarına uygulandı. Kiesel G 60 F₂₅₄ (Merck 1.05554, 20x20) kaplı hazır plaklar kullanılarak *n*-hekzan:etil asetat'ın (4:1) oranında

hazırlanan solvan sistemi ile developpe edilen ekstratlar, hem gün ışığında, hem de UV 366 ve 254 nm’de incelendi. Çıkarım sırasında belirteç olarak MeOH:H₂SO₄ (1:1) ve % 10’luk KOH kullanıldı. Uçucu yağlar ise pentan içerisinde çözülüp yine Kiesel G 60 F₂₅₄ (Merck 1,05554, 20x20) kaplı hazır plaklar kullanılarak *n*-hekzan:etil asetat’ın hem (7:3) hem de (8:2) oranında hazırlanan solvan sistemleri ile ayrı ayrı developpe edildi. Plaklar hem gün ışığında hem de UV 366 ve 254 nm’de incelendi. Çıkarım sırasında belirteç olarak MeOH:H₂SO₄ (1:1) kullanıldı. Ayrıca, plaklar ısı ile muamele edildikten sonra, tekrar gün ışığı ve UV (366 ve 254 nm)’de incelenerek kontrol edildi (Stahl, 1967; Wagner ve Bladt, 1996).

3.2.3.2. Gaz Kromatografisi (GC)

Uçucu yağ numuneleri; *n*-pentan:dietil eter (1:2) h/h kullanılarak (1:100) h/h’e dilüe edilerek hazırlanmış, GC/FID (Gas Chromatography/Flame Ionization Detector) ve GC/MS (Gas Chromatography /Mass Spectroscopy) kullanılarak analiz edilmiştir. Gaz kromatografisi analizleri, Agilent (Palo Alto, CA, USA 7890A model gaz kromatografisi ve FID’si kullanılarak yapıldı. Kromatografik ayırım için 30 mx0.25 mm i.d. HP-5MS kapiler kolon [(5% -phenyl)-methylpolysiloxane, Agilent J & W., GC kolon, kaplanma kalınlığı 0.25 µm] kullanıldı. Fırın sıcaklık programı, 2 dakika 70 °C’de bırakılarak, daha sonra 200 °C’ye artırılıp (dakikada 3 °C/dak sıcaklık artırılarak işlem devam edildi), 15 dakika bu şekilde sürdürüldü. Helyum (1 mL/dak) taşıyıcı gaz olarak kullanıldı. Enjektör sıcaklığı 250 °C olarak ayarlandı. Dedektör sıcaklığı ise 300 °C’de tutuldu. Enjeksiyon hacmi (1 µL), split oranı 1:50 olarak ayarlandı GC/FID analizleri bu şekilde 3 kez tekrarlanarak gerçekleştirildi.

3.2.3.3. Gaz Kromatografisi/Mass Spektroskopisi (GC/MS)

Uçucu bileşiklerin analizi, Gaz kromatografisi (yukarıda belirtildiği gibi, Agilent 7890A model) ve Mass Spektroskopisi (5975C model Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) kullanılarak gerçekleştirildi. Mass dedektörü, 70 eV’luk elektron

vuruş iyonizasyonu şeklinde ayarlandı (Mass aralığı 30-300 m/z'dir). Gyon kaynağının sıcaklığı 280 °C olarak ayarlanırken, uçucu bileşiklerin ayrımı aynı kolonda ve aynı fırın sıcaklığı programı kullanılarak yapıldı. Bu şekilde de kantitatif analizler gerçekleştirildi (Analizler 3 kez tekrarlandı). Her bir pik, retansiyon zamanları karşılaştırılarak tayin edildi (C9–C25 *n*-alkan serisi HP-5MS kolonu için). Ayrıca, hem standart maddelerle karşılaştırarak, hem de literatür bilgisine dayanarak bileşikler tayin edildi (Adams, 2004; El-Sayed, 2007). Bunun yanında, mas spektrumları; Wiley 275 MS kütüphanesi (Wiley, New York, USA) ve NIST98 (Gaithersburg, Germany) mas spektral veritabanından da faydalanılarak kesinleştirildi (Bileşiklerin yüzdeleri hesaplamak için GC'den elde edilen pik alanlarının normalizasyon yöntemi kullanılmış olup, düzeltme faktörü kullanılmamıştır).

3.2.4. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Çalışmamızda, *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum* ve *S. gummiferum* türlerinden elde edilen uçucu yağ örnekleri, biyolojik aktiviteleri incelenmek üzere seçildi. Böylece, uçucu yağlar üzerinde biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirildi. Yapılan biyoaktivite çalışmaları arasında sitotoksik aktivite taraması için en temel yöntem olan MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] deneyi, anti-inflamatuvar aktivite tayinleri için; NO (Nitrik Oksit), PGE₂ (Prostaglandin E₂) Tayini, NF-κB (Nükleer Faktör kappa B)'nin SEAP (Secreted Alkaline Phosphatase) Reporter Gen Analizi, Western Blot Analizi yapıldı. Ayrıca yağların antimikrobiyal aktivite tayini için de Disk Difüzyon yöntemi kullanıldı.

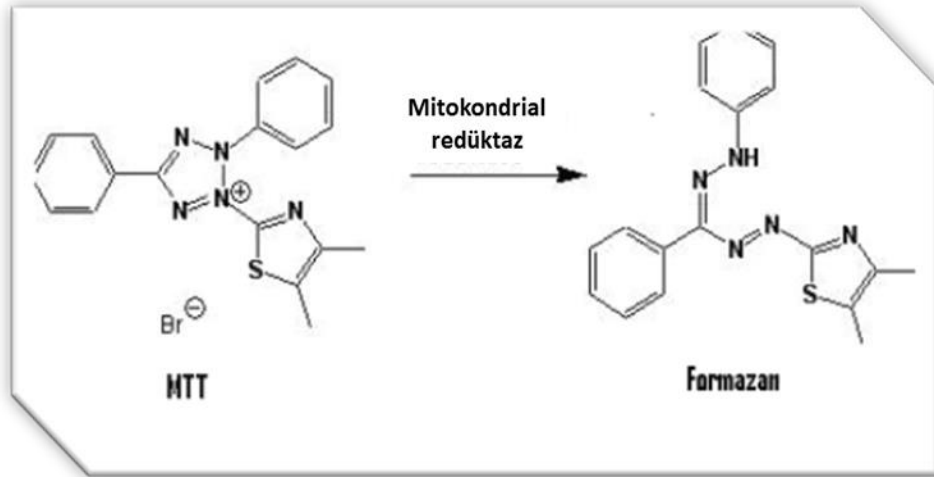
3.2.4.1. Hücre Kültürü

Murin (fare) makrofajlarından hazırlanmış olan RAW 264.7 olarak kodlanmış hücreler deneylerde kullanıldı (The American Type Culture Collection, Manassas, VA). Ök olarak hücreler, % 10 FBS (Fetal Bovine Serum), 100 U/mL penisilin ve

100 µg/mL streptomisin içeren DMEM (Dulbecco Modifiye Eagle Mediumu)'de 37°C de % 5 CO₂ oranına ayarlanmış inkübatörde bekletildi. Ayrıca, pNF-κB (SEAP)-NPT (Neomycinphosphotransferase) reporter ile beslenmiş RAW 264.7 hücreleri aynı şartlarda çoğaltıldı. Sadece, hücre kültürüne bu sefer 500 µg/mL genetisin ilave edildi (Moon ve ark., 2001).

3.2.4.2. MTT Deneyi

MTT yöntemi, hücre canlılığının belirlenmesi için oldukça sık kullanılan pratik bir yöntemdir. Sarı renkli MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] tuzu, hücrelere aktif olarak absorbe olan ve mitokondriye bağlı bir reaksiyon ile renkli, suda çözünmeyen mor formazana indirgenen bir maddedir (Şekil 3.3). Hücrelerin MTT'yi indirgeme özelliği hücre canlılığının ölçütü olarak alınır ve MTT analizi sonucunda elde edilen boya yoğunluğu spektrofotometrik olarak 540 nm'de ölçülür, yoğunluk oranı canlı hücre sayısı ile korelasyon gösterir (Kurt ve ark., 2010; Chun ve ark., 2013).



Şekil 3.3. MTT'nin Formazana İndirgenme Reaksiyonu

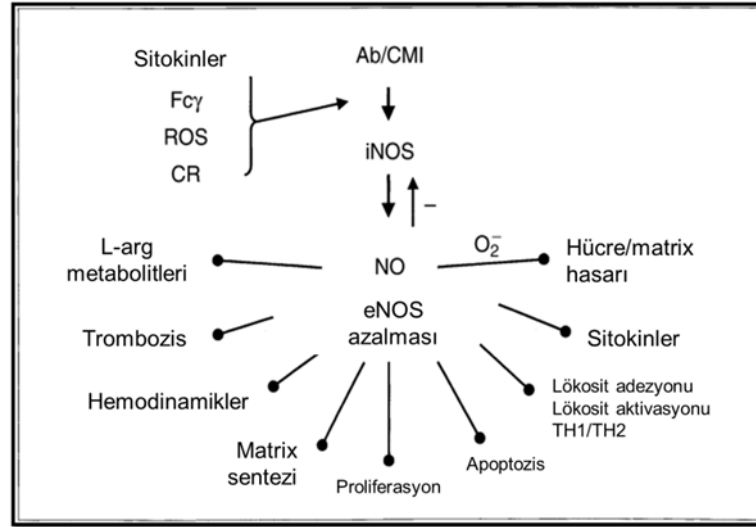
Bu çalışmada SG ve SC uçucu yağlarının hücre canlılığına etkisi AGS (gastrik kanser hücreleri), HCT (116 kolon kanser hücreleri), Caco-2 (kolon kanser hücreleri) üzerine etkisi MTT ölçüm yöntemi kullanılarak belirlendi. RAW 264.7 hücreleri,

öncelikle 96 gözlü plakalara her gözde 1×10^4 yoğunlukta olacak şekilde ekilerek, 37°C’de 24 saat süre ile inkübe edildi. Uçucu yağlar, her göze farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50 ve 100 µg/mL) ilave edildi, daha sonra hücreler, 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda, MTT çözeltisinden (0.5 mg/mL) her göze ilave edildikten sonra, 3 saat daha inkübasyona bırakıldı. Daha sonra oluğanformozan kristalleri, 100 µL DMSO (Dimetilsülfoksit)’da çözülerek, hücre canlılığı 540 nm’lik absorbansda ölçülüp değerlendirildi (EMax Microplate Reader-Molecular Devices, Sunnyvale, California).

3.2.4.3. NO (Nitrik Oksit) Tayini

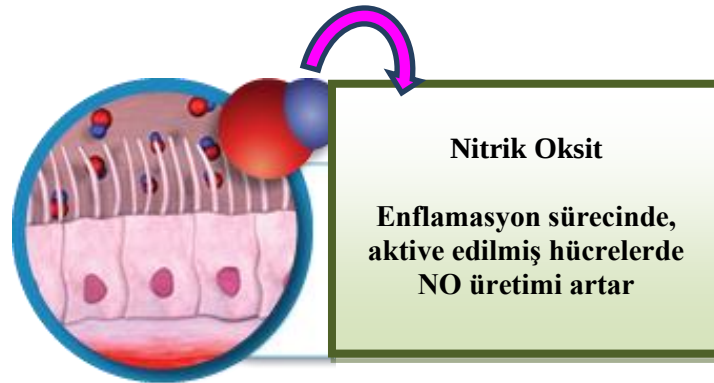
NO (Nitrik oksit), hem periferel dokularca hem de santral sinir sisteminde üretilen sinyalleri taşıyan ve ileten bir anahtar molekül olup, aynı zamanda iNOS (Nitrik oksit sentaz) olarak da bilinen bir enzimdir. Biyolojik sistemlerde, NO ve iNOS aktivitesinin ölçümü için kullanılan teknikler, NO ve NO türevli diğer bileşiklerin etkilerini göstermek için belirleyicidir (Nims ve ark., 1996; Marzinzin ve ark., 1997; Ghafouriar ve ark., 2008; Ekmekçi ve ark., 2011; Meng ve ark., 2013).

NO, immünite ve vücut savunmasındaki temel rollerinin yanında DNA (Deoksiribonükleik asit) hasarına yol açabilen mutajenik ve sitotoksik etkiler de gösterebilmektedir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. NO'nun Hücre Üzerindeki Etkileri

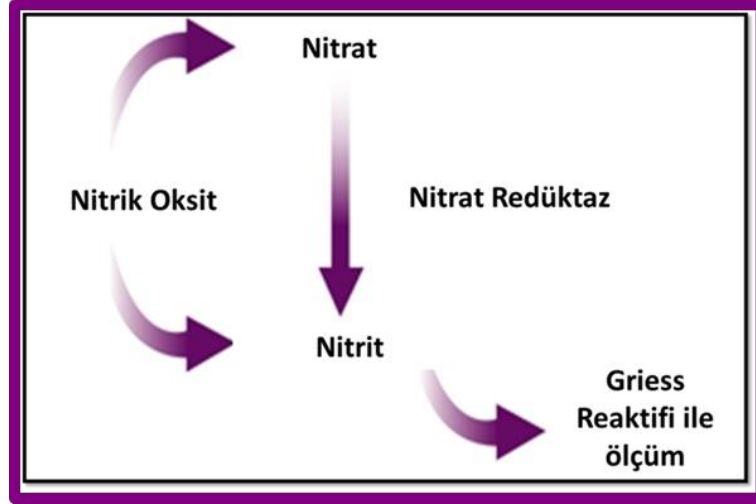
İndüklenebilen NO sentaz (iNOS), inflamasyon süresince NO üretimine (Şekil 3.5) neden olmaktadır (Lee ve ark., 2003). NO makrofaj aktivasyonu içermi sırasında kritik rol oynamakta ve bu mediatör (NO) akut ve kronik inflamasyonlarla ilişkilendirilmektedir (Salvemini ve ark., 1993; Zhou ve ark., 2008).



Şekil 3.5. Enflamasyon Sürecinde NO Üretimi

Canlı doku ve hücreler üzerinde NO düzeyi, total nitrit olarak Griess reaktifi ile spektrofotometrik olarak ölçülür (Şekil 3.6). Griess reaktifi, nitritin asidik ortamda primer bir aromatik amin ile (sülfonilamit) diazotizasyonu ve N-(1-naftil) etilendiamin hidroklorit (NED) ile mor renkli bir azo ürününü teşhis eder. Griess reaksiyonu, nitrit iyonlarına duyarlı olduğundan, ortamdaki nitratin nitrite indirgenmesi *in vivo* olarak oluşan NO'nun gerçeğe yakın miktarlarda ölçümüne

olarak tanımaktadır (Ghafouriar ve ark., 2008; EĞmekaya ve ark., 2011; Meng ve ark., 2013).



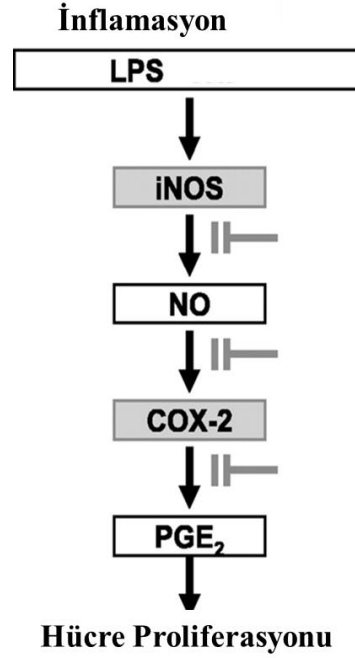
Şekil 3.6. Gindirgenen Nitritin Griess Reaktifi ile Ölçümü

Böylece, bizim çalışmalarımızda, kültür ortamındaki nitrit konsantrasyonunun tespiti, Griess reaktifi kullanılarak (bu reaktif NO indikatörüdür) gerçekleştirildi. Kısaca; RAW 264.7 hücreleri, 2 saat süre ile uçucu yağ örneklerinin farklı konsantrasyonları ile muamele edildi. AMT (Amitraz) pozitif kontrol olarak kullanıldı. Daha sonra, 18 saat LPS (Lipopolisakkarit) ile, 1 µg/mL dozda uyarıldı. Sonrasında, Griess reaktifi (distile su içinde % 0.1 nafetiletilediamin ve % 5 fosforik asit içinde % 1 sülfonilamid), 100 µL hücre kültürüne ilave edildi ve optik dansitesi 540 nm’de ölçüldü. Nitritin konsantrasyonu, daha önce sodyum nitritin bilinen konsantrasyonlarında hazırlanmış olan standart eğrisine göre hesaplandı.

3.2.4.4. PGE₂ (Prostaglandin E₂) Ölçümü

PGE₂ (Prostaglandin E₂) inflamasyon sırasında aktive olan makrofajlarda inflamatuvar cevabı desteklemek için üretilen pro-inflamatuvar mediatörlerden biridir. COX-2 (Cyclooxygenase-2) enziminin de çeşitli inflamasyon tiplerinde PGE₂ sentezinden sorumlu olduğuna inanılmaktadır (Lee ve ark., 2003). PGE₂ de NO gibi makrofaj aktivasyonu sırasında kritik rol oynamakta ve hem akut hem de

kronik inflamasyonlarla (Şekil 3.7) ilişkilendirilmektedir (Salvemini ve ark., 1993; Zhou ve ark., 2008).



Şekil 3.7. iNOS ve COX-2 Enzimleri Tarafından Üretilen NO ve PGE₂

Aktive edilen hücrelerin makrofajlarından üretilen PGE₂ miktarı, protokollere uygun olan PGE₂ (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI) için bir enzim immüno ölçüm kiti (EIA) kullanılarak hesaplandı. Kısaca, RAW 264.7 hücreleri farklı konsantrasyonlardaki uçucu yağlarla 2'G6 saat muamele edildikten sonra, COX-2'nin ekspresyonunu indüklemek için 18 saatlik ek süre ile 1µg/mL LPS ile aktive edildi. Hücre kültür ortamı toplanarak, 2 defa PBS (Phosphate Buffered Saline) ile seyreltilerek, PGE₂ antikorları ile kaplanmış olan EIA kitinden 96 gözlü plakaya aktarıldı. PGE₂ üretimi, her bir örnek için standart eğrisine göre hesaplandı. Karşılaştırma için pozitif kontrol olarak 50 µM selekoksib (Pfizer, New York, NY) kullanıldı.

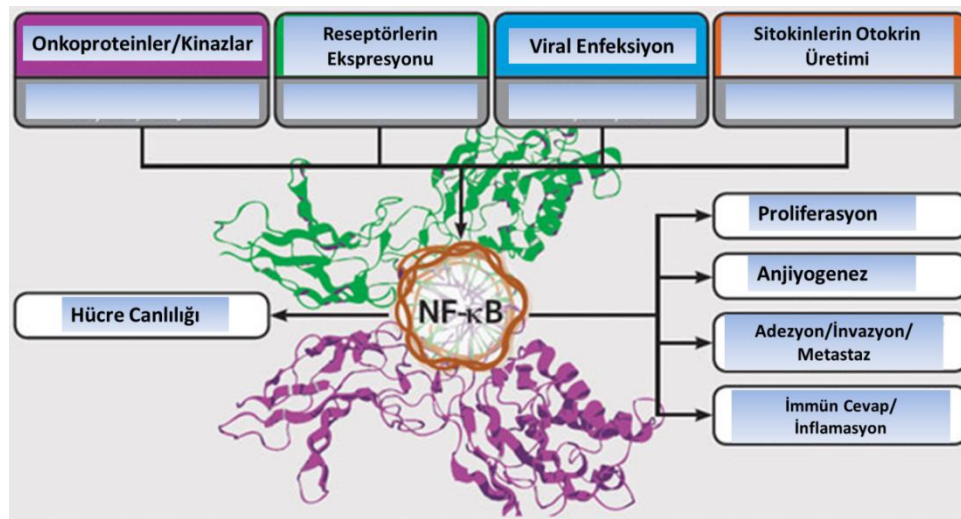
3.2.4.5. NF-κB'nin SEAP Reporter Gen Analizi

Nükleer Faktör kappa B (NF-κB), Ranjen Sen ve David Baltimore tarafından 1986'da B lenfositlerin nükleuslarında immunoglobulin kappa hafif zinciri geninde

çoğalmaya neden olan bölgesine bağlanan bir faktör olarak tanımlanmıştır (Sen ve Baltimore, 1986). Protein kompleksi yapısında olan ve DNA transkripsiyonu ile kontrol edilen NF- κ B, tüm hücrelerde sitoplazmada sessiz halde bulunmakta, nükleusa sadece aktif olduğunda geçmekte ve burada immün sistem, büyüme ve inflamasyonu denetleyen 200'ün üzerinde geni düzenlemektedir (Shishodia ve Aggarwal, 2004).

NF- κ B, hematopoetik veya solid pek çok tümör hücresi gelişiminde aktif rol oynamaktadır. Öte yandan NF- κ B normal hücrelerde nadiren aktiftir. Tümörlerde NF- κ B'nin baskılanmasının, proliferasyonu inhibe ettiği, hücre siklusunu durdurduğu ve apoptozise neden olduğu gösterilmiştir (Bharti ve Aggarwal, 2002).

Sonuç olarak, onkogenler, viral proteinler, karsinojenler, tümör promoterleri ve enflamatuvar uyaranlar NF- κ B'yi aktive etmekte, aktive NF- κ B de hematopoez, transformasyon, apoptozis, proliferasyon, immünite, invazyon, anjiogenez ve metastaz ile ilgili genleri denetim altında tutmaktadır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. NF- κ B'nin Aktive Olduğu Durumlar ve Organizmada Meydana Gelen Olaylar

Bir floresans saptama metodu olarak kullanılan SEAP (Secreted Alkaline Phosphatase) reporter gen analizi ile NF- κ B aktivitesi ölçülebilmektedir. SEAP'ın katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan ürünün renk yoğunluğu spektrofotometrik

olarak ölçülür, ölçülen yoğunluk NF- κ B aktivitesi ile doğru orantılıdır (Moon ve ark., 2001).

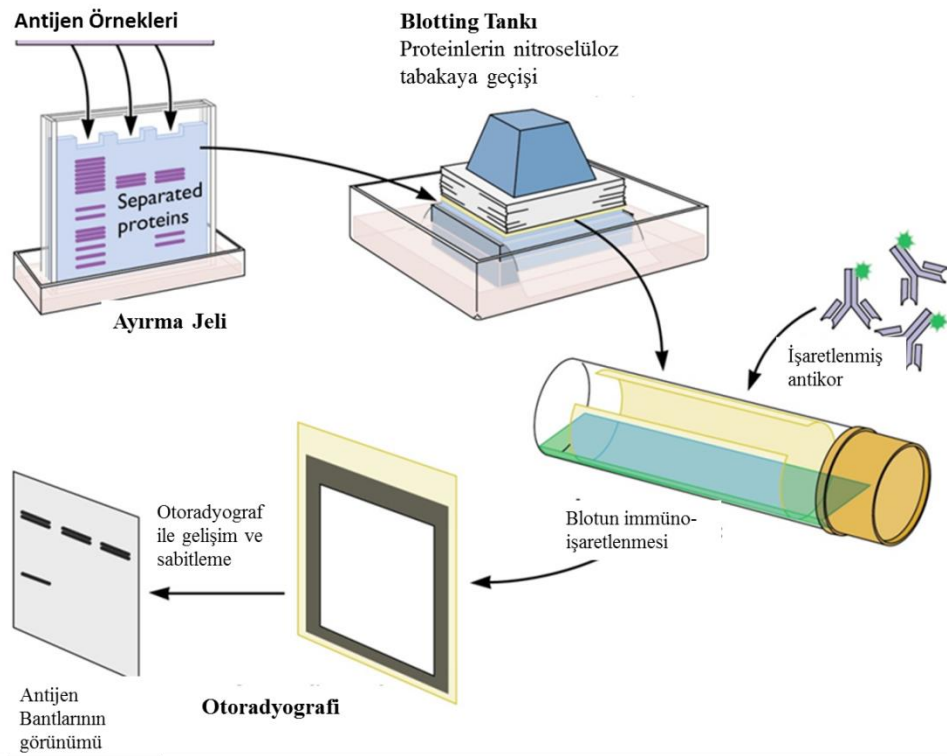
Kullanılan yöntemde pNF- κ B-SEAP-NPT plazmiti, NF- κ B aktivitesine cevap olarak, SEAP taşıyıcı genini aktive etmiş ve aynı zamanda, bu plazmit, taşıyıcı hücrelerdeki genetisin direnci için, NPT (Neomycin Phosphotransferase) genini içermiştir. Bu plazmit daha sonra, RAW 264.7 hücrelerine geçmiştir. Bu plazmiti bulunduran RAW 264.7 hücreleri, uçucu yağlarla 2 saat süre ile muamele edildikten sonra, 16 saat süre ile LPS (1 μ g/mL) ile uyarıldı. SEAP/MUP (4-methylumbelliferyl phosphate) reaksiyon ürününden oluşan floresans, RFU (Relative Fluorescence Units) olarak, 96-gözlü plaka (well-plate) florometresinde (Gemini XS, Molecular Devices; Sunnyvale, CA) 360 nm eksitasyon ve 449 nm emisyon dalga boyları kullanılarak ölçüldü. TPCK (Tosyl Phenylalanyl Chloromethyl Ketone) ise, NF- κ B'nin bir inhibitörü olarak, pozitif kontrol olarak kullanıldı.

3.2.4.6. Western Blot Analizi

Towbin tarafından, 1979 yılında tanımlanmış bir protein analiz yöntemidir. Jel ortamında ayırımı yapılmış proteinlerin membrana emdirilerek, ilgilenilen proteinin radyoaktif izotopla ya da başka şekilde işaretlenmiş özel antikor yardımıyla membran üzerinde belirlenmesidir (Şekil 3.9). Antikor spesifik antijenini tanıdığı için, bu yöntem “immüno-blotting” olarak da isimlendirilir. Western blotting, kompleks karışım içinden spesifik proteinin tanınması ve bu protein hakkında kalitatif ve semikantitatif veri elde edilmesinde kullanılır (Towbin ve ark., 1979).

Yapılan deneyde, RAW 264.7 hücreleri, uçucu yağlar ile 2 saat penetre edilerek, LPS (1 μ g/mL) ile 18 saat süre ile stimüle edildi. Inkübasyondan sonra, hücreleri eriten tampon çözelti içinde ve buz üzerinde, 30 dakika daha bekletilerek, protein ekstresinin tamamı eritildi [20 mM HEPES(2-[4-(Hidroksietil)-1-piperazin] etansülfonik asit) (pH 7.6), 350 mM NaCl, % 20 gliserol, 0.5 mM EDTA (Etilendiamin Tetraasetik Asit), 0.1 mM EGTA (Etilenglikol Tetraasetik Asit), % 1

NP-40 (Nonionic polyoxyethylene surfactant), 50 mM NaF, 0.1 mM PMSF (Fenilmetilsülfonil fluorid) ve bir proteaz inhibitör kokteyli]. Protein konsantrasyonu, Bradford protein deneyi kullanılarak ayarlandı. Proteinin eÇit miktarı, % 8 ve % 10 SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) poliakrilamit jele emdirilip ve yarı kuru olarak nitroselüloz membrana transfer edildi. Daha sonra, % 5'lik süt çözeltisi ile muamele edilen membranlar yıkanarak, oda ısısında 1 saat sekonder antitadilerle (HRP, horseeadish peroxidase ile konjuge edilmiÇ antikorlar) inkübe edildi. En sonunda, lekeler, Chemiluminescence kit (Abfrontier; Seoul/Korea) kullanılarak görünür hale getirildi.



Şekil 3.9. Western Blot Yöntemi ve UygulanıÇ

3.2.4.7. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

SC ve SG kodları ile bilinen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi, disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlendi (Rangkadilok ve ark., 2012). Antimikrobiyal aktivite tayini Gram (+) bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ve Gram (–) bakterilerden de

Escherichia coli ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* RSKK 574 suşları ve *Candida albicans* ATCC 10231 mayası üzerinde yapılmıştır.

Testten önce tüm ekstreler 0.45 µm membran filtreden geçirilerek sterilize edildi. Mc Farland 0.5 standardına uygun bakteri süspansiyonu katı besiyerine yayıldı. Her biri 6 mm olan boğkâğıt diskleri, 20 µL uçucu yağ ile emdirilerek ağıznmıçplaklara yerleştirildi. Plaklar, 4°C’de 2 saat bekletildikten sonra 24 saat boyunca 37°C’de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra inhibisyon zonları (mm) ölçüldü. Ampisilin (10 µg), siprofloksasin (5 µg) ve flukonazol (25µg) standart olarak kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Uçucu Yağ Eldesine Ait Bulgular

Seseli gummiferum ve *S. corymbosum* subsp. *corymbosum* meyveleri kabaca toz edilerek, uçucu yağları elde edilmiştir. Avrupa Farmakopesine (2010) göre 30 g bitki örneklerinden elde edilmiş olan uçucu yağ yüzdeleri kuru örnek üzerinden, her iki örnekte % 3.3 h/a olarak aynı oranlarda bulunmuştur.

4.2. Ekstraksiyona Ait Bulgular

Seseli gummiferum ve *S. corymbosum* subsp. *corymbosum*'un uygun şekilde kurutulup toz edilen toprak üstü (herbasının) ve toprak altı kısımlarından (köklerinin) tartılan 40 g'lık miktarlarından, ayrı ayrı Soxhlet aparatı kullanılarak, *n*-hekzan, etil asetat ve metanol çözücülerinin her biri ile 8'er saat boyunca mantolu ısıtıcı üzerinde devamlı sifon yapmaları sağlanarak ekstraktlar elde edilmiştir. Bu ekstraktlar aşağıda verilen tabloda görüldüğü gibi miktarları tartılarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Elde Edilen Ekstrelerin Miktarları

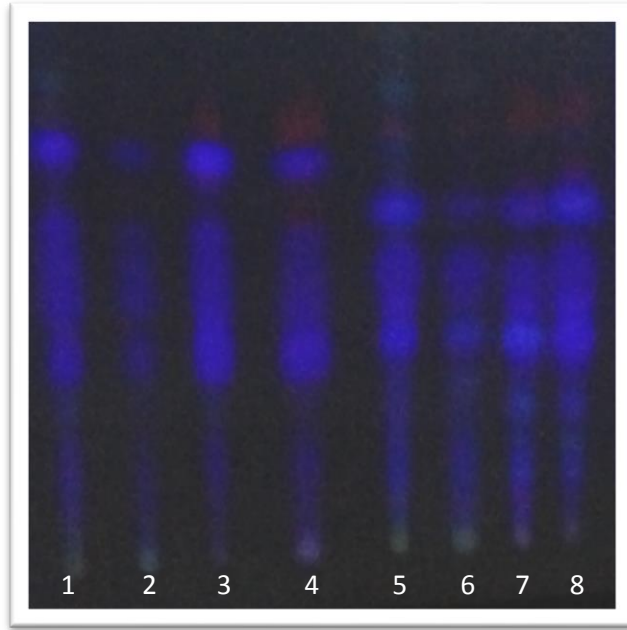
Örnekler	<i>n</i> -Hekzan ekstresi (g)	Etil asetat ekstresi (g)	Metanol ekstresi (g)
<i>Seseli gummiferum</i> Toprak üstü	2.9	1.6	3.1
<i>Seseli gummiferum</i> Toprak altı	4.7	1.2	4.3
<i>Seseli corymbosum</i> subsp. <i>corymbosum</i> Toprak üstü	3.3	1.4	3.4
<i>Seseli corymbosum</i> subsp. <i>corymbosum</i> Toprak altı	5.5	1.1	6.1

4.3. Kromatografik Yöntemlere Ait Bulgular

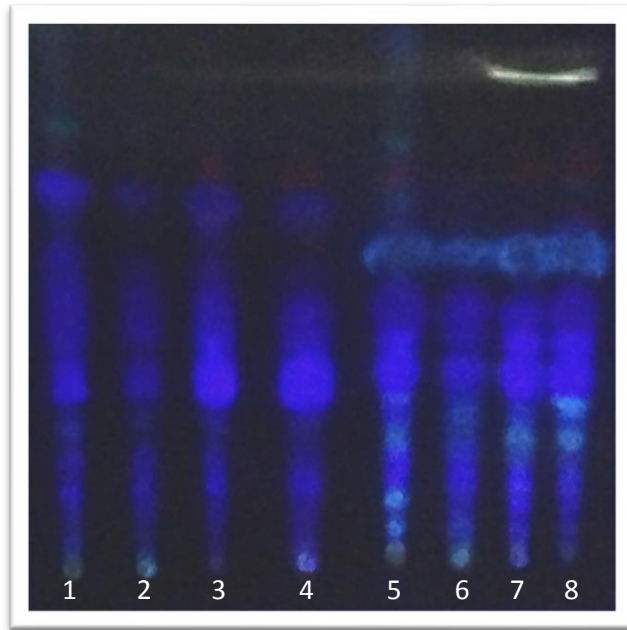
4.3.1. İnce Tabaka Kromatografisine Ait Bulgular

Çalışmamızda hem ekstreler, hem de uçucu yağlar ince tabaka kromatografisi ile incelendi. Aşağıda yapılmış olan bu çalışmaya ait ince tabaka plaklarının fotoğrafları verilmiştir. Ekstrelerin ve uçucu yağların ayrımı ince tabaka plağı kullanılarak yapıldı ve karşılaştırmalı analizleri Resim 4.1 - 4.17’de gösterildi. Bitkilerin hekzan ve etil asetat ekstrelerinde kumarin bileşikleri yapılarına bağlı olarak farklı renklerde gözlemlendi. Toprak altı ve toprak üstü kısımlarında bazı farklılıklar gözlemlense de birçok kumarinin hemen hemen aynı R_f değerine sahip olduğu bu nedenle aynı kumarin bileşikleri olabileceği sonucuna varıldı. Uçucu yağlarda ise yine aynı şekilde farklı renklerde terpenik bileşikler gözlemlendi. Lekelerin büyük olmasına göre, bazı terpenik bileşiklerin daha fazla miktarda olabileceği sonucuna varıldı. Yapılan uygulamalarda; hem ekstreler, hem de uçucu yağlar için uygulanan İTK’da hem gün ışığında, hem farklı UV dalga boylarında (366 ve 254 nm), hem de reaktif uygulandıktan sonra gün ışığı, UV yardımı ile; ayrıca yine aynı plağa ısı uygulanması ile olan değişiklikler de yine aynı şartlarda incelenip gözlemlenerek, lekelerin verdiği renklere göre, farklı terpenik bileşikler olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca İTK plağında parlak mavi renkte görülen bir lekenin kumarin yapısında bir bileşik ait olabileceği düşünüldü. Daha sonra yağlar gaz kromatografisinde analiz edilemek üzere buzdolabında saklandı.

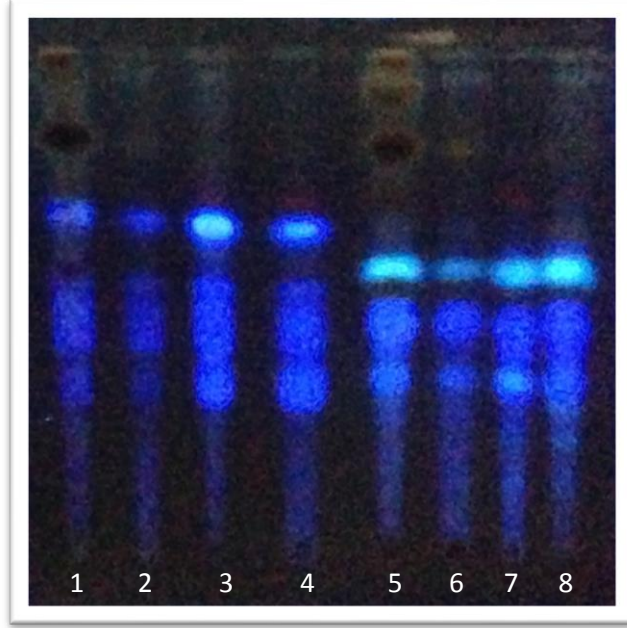
1. SG Toprak altı, *n*-Hekzane ekstresi
2. SG Toprak altı, EtOAc ekstresi
3. SG Toprak üstü, *n*-Hexane ekstresi
4. SG Toprak üstü, EtOAc ekstresi
5. SC Toprak altı, *n*-Hekzane ekstresi
6. SC Toprak altı, EtOAc ekstresi
7. SC Toprak üstü, *n*-Hexane ekstresi
8. SC Toprak üstü, EtOAc ekstresi



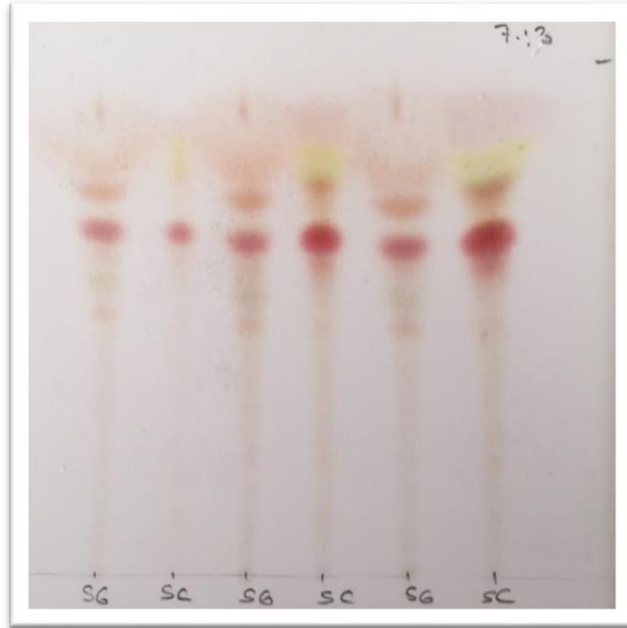
Resim 4.1. SG ve SC'nin Toprak Üstü ve Toprak Altı Ekstrelerinin UV 366 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (4:1)



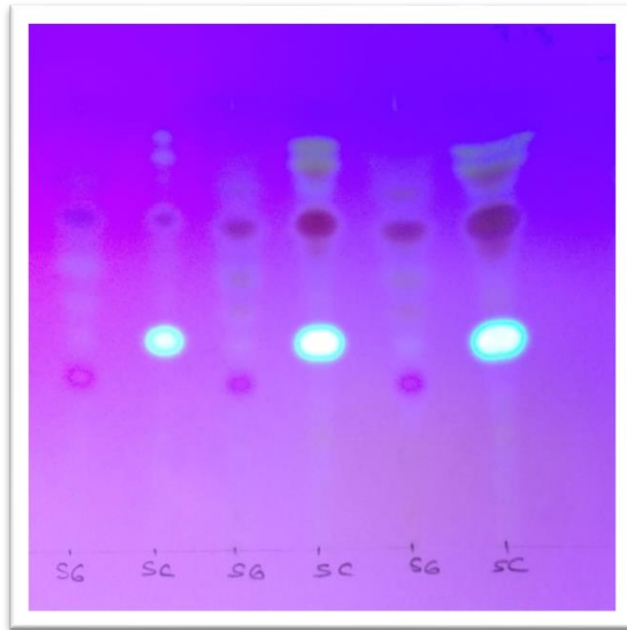
Resim 4.2. SG ve SC'nin Toprak Üstü ve Toprak Altı Ekstrelerinin Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1), UV 366 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (4:1)



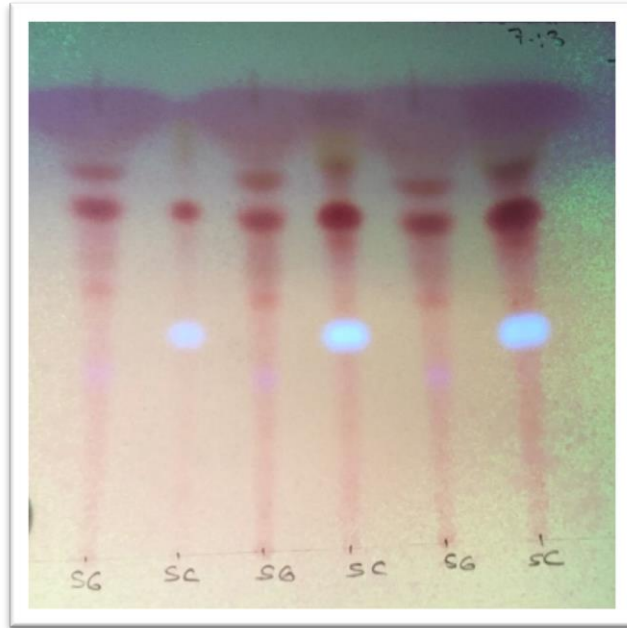
Resim 4.3. SG ve SC'nin Toprak Üstü ve Toprak Altı Ekstrelerinin Reaktif Sonrasında:
metanol:sülfürik asit (1:1), Isı Muamelesi (100 °C) ile UV 366 nm'deki Görüntüsü:
n-hekzan:etil asetat (4:1)



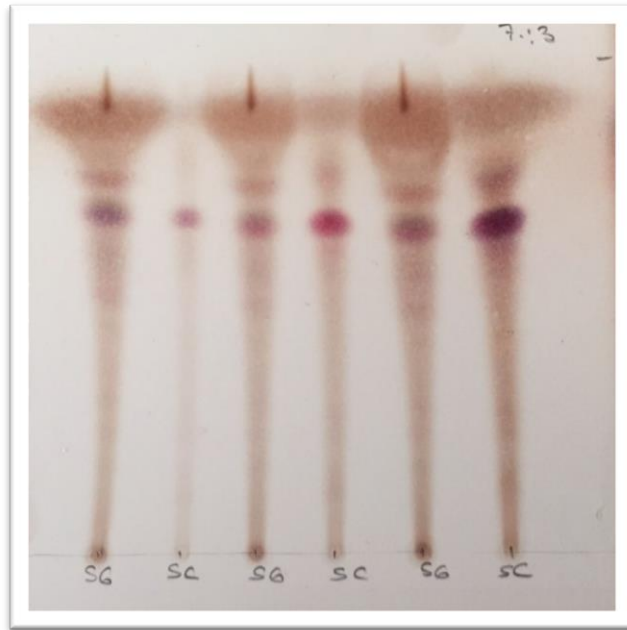
Resim 4.4. SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1),
Gün Işığındaki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (7:3)



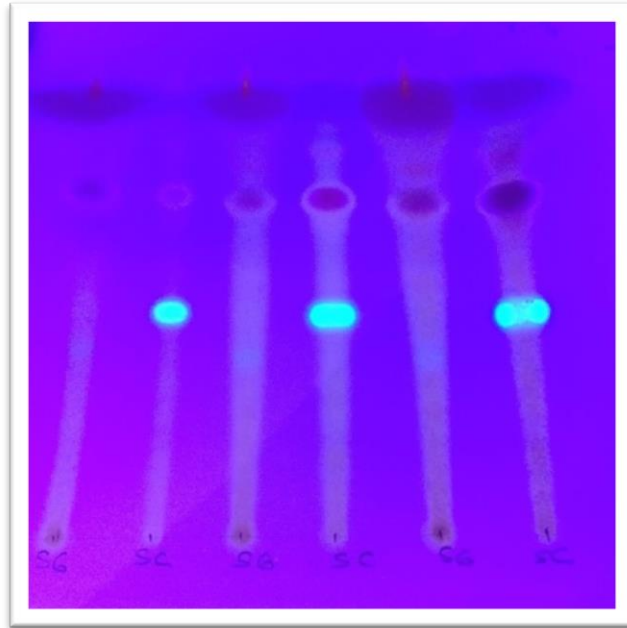
Resim 4.5. SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1)
UV 366 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (7:3)



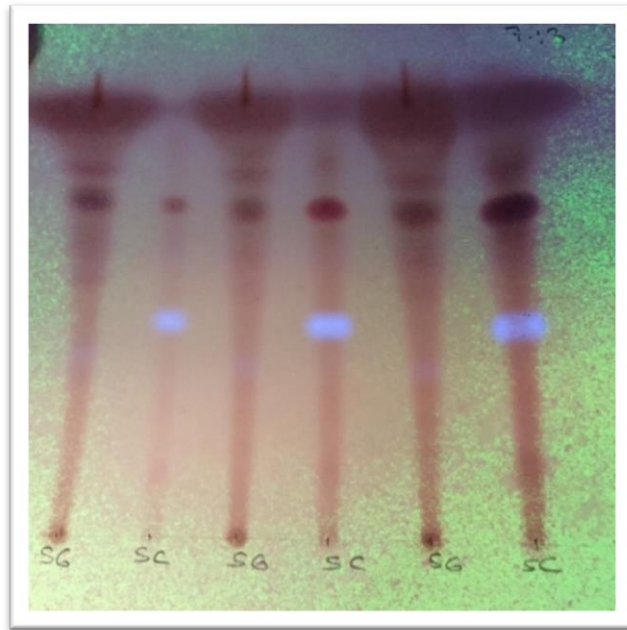
Resim 4.6. SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1), UV 254 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (7:3)



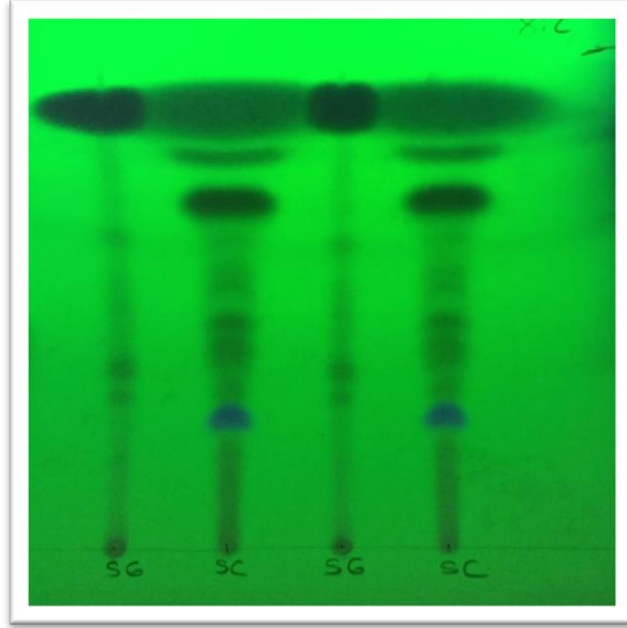
Resim 4.7. SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif EÇİĞİNDE: metanol:sülfürik asit (1:1), Isı ile Muamele (100 °C) Sonrasında Gün IĞĞINDAKİ Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (7:3)



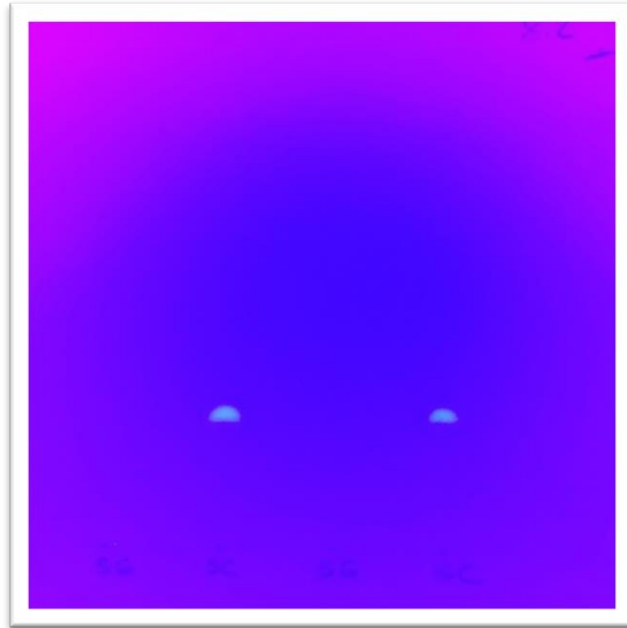
Resim 4.8. SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif EÇiğinde: metanol:sülfürik asit (1:1), Isı ile Muamele (100 °C) Sonrasında UV 366 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (7:3)



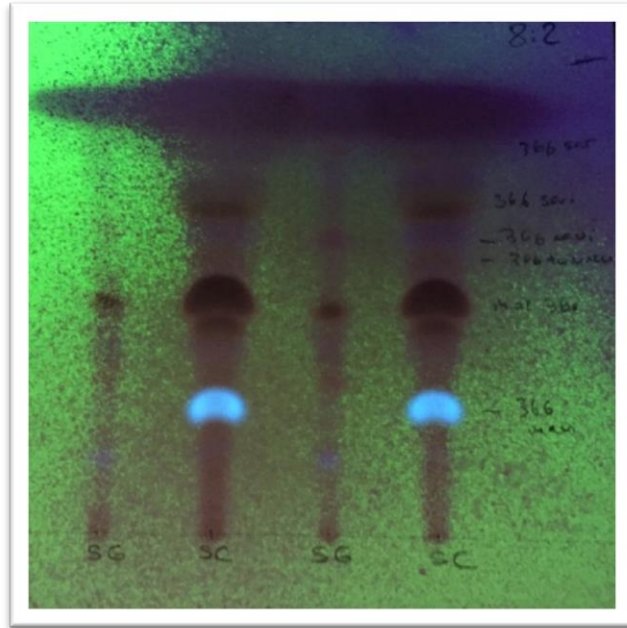
Resim 4.9. SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif EÇiğinde: metanol:sülfürik asit (1:1), Isı ile Muamele (100 °C) Sonrasında UV 254 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (7:3)



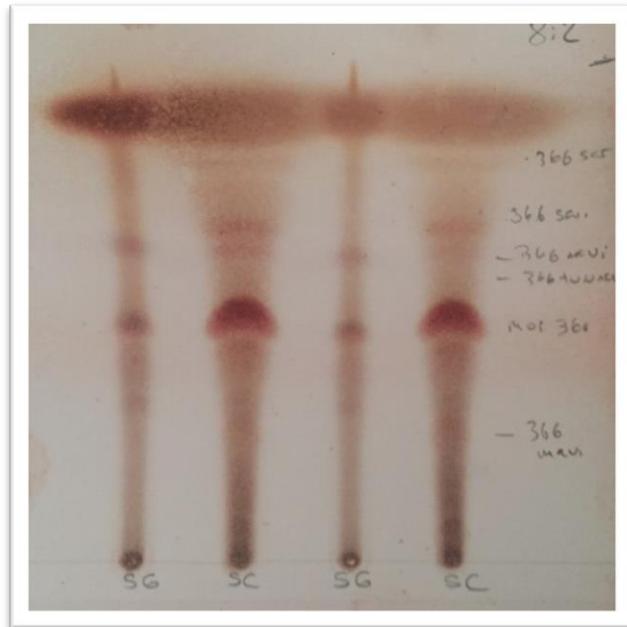
Resim 4.10. SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının UV 254 nm'deki Görüntüsü:
n-hekzan:etil asetat (8:2)



Resim 4.11. SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının UV 366 nm'deki Görüntüsü:
n-hekzan:etil asetat (8:2)



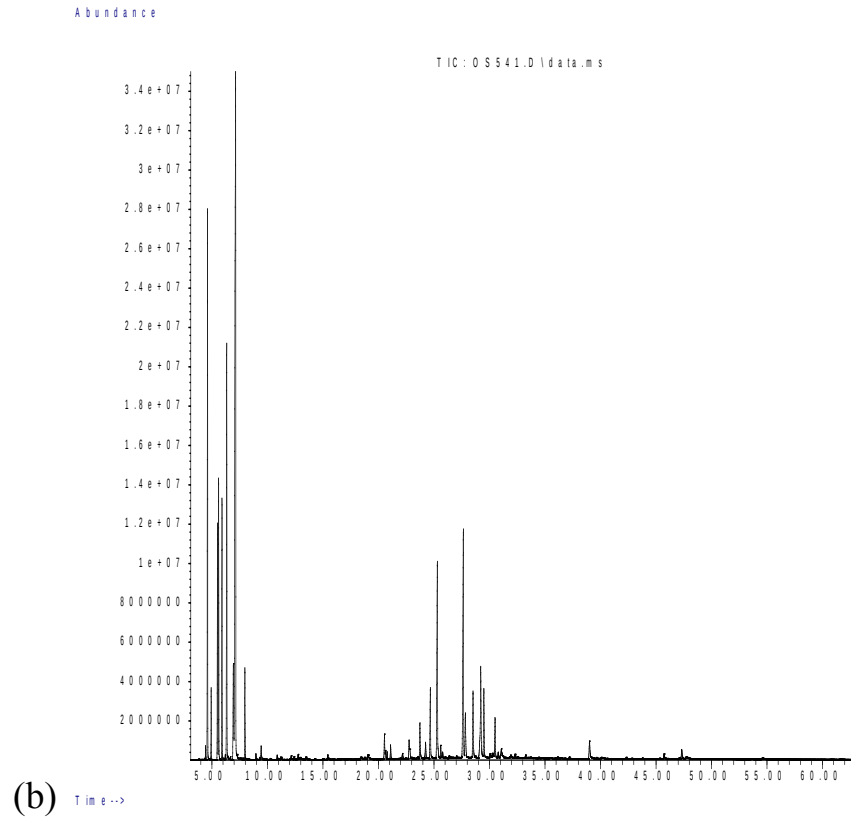
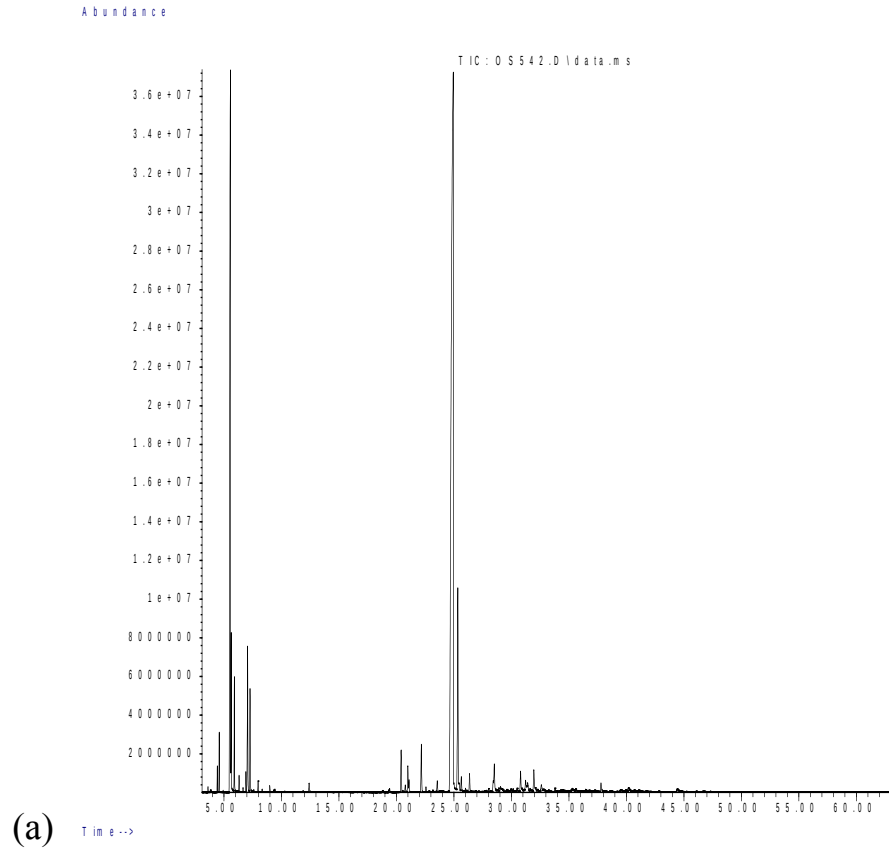
Resim 4.14. SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif Sonrasında: metanol:sülfürik asit (1:1), UV 254 nm'deki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (8:2)



Resim 4.15. SG ve SC Meyve Uçucu Yağlarının Reaktif EÇiğinde: metanol:sülfürik asit (1:1), Isı ile Muamele (100 °C) Sonrasında Gün Iğındaki Görüntüsü: *n*-hekzan:etil asetat (8:2)

4.3.2. Gaz Kromatografisi/Mas Spektroskopisine Ait Bulgular

Uçucu yağların analizi GC/FID ve GC/MS kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağlara ait total iyon kromatogramları şekil 4.1’de verilmiştir. GC/MS sonuçlarına göre; *Seseli gummiferum*’un meyvelerinden elde edilen uçucu yağın bileşimlerinin % 95.1’i tayin edilerek ana bileşimler; germakren D (% 54.1), sabinen (% 22.4), ve bisiklogermakren (% 5.0); *S. corymbosum* subsp. *corymbosum*’un meyvelerinden elde edilen uçucu yağın bileşimlerinin % 93.7’si tayin edilerek, ana bileşimleri; β -fellandren (% 29.2), α -pinen (% 9.7), α -fellandren (% 8.2), germakren B (% 7.4), bisiklogermakren (% 6.6), β -pinen (% 4.8) ve mirsen (% 4.7) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).



Şekil 4.1. *S. gummiferum* (a) ve *S. corymbosum* subsp. *corymbosum* (b)'un Uçucu Yağlarının Total Çıyon Kromatogramları (Dedektör:Mass; Kolon: HP-5MS)

Çizelge 4.2. *S. gummiferum* ve *S. corymbosum* subsp. *corymbosum* Uçucu Yağlarının Bileşimi

No:	Bileşenler	Rt	RRI	SG	SC
				Alan (%)	Alan (%)
1	Nonan	3.836	< 900	0.1	-
2	α -Tuyen	4.426	929	0.3	0.2
3	α -Pinen	4.592	938	0.8	9.7
4	Kamfen	4.935	953	0.1	1.1
5	Sabinen	5.502	977	22.4	4.1
6	β -Pinen	5.627	982	1.8	4.8
7	Mirsen	5.908	993	1.6	4.7
8	Izobutil 2-metilbutirat	6.200	1003	-	0.1
9	α -Fellandren	6.320	1008	0.3	8.2
10	α -Terpinen	6.663	1020	0.1	0.1
11	<i>p</i> -Simen	6.915	1029	0.3	2.6
12	β -Fellandren	7.138	1037	-	29.2
13	<i>trans</i> - β -Osimen	7.270	1041	1.7	0.1
14	γ -Terpinen	7.973	1063	0.2	1.8
15	α -Terpinolen	8.969	1091	-	0.2
16	Fenkon	8.986	1092	0.1	-
17	Undekan	9.312	1100	0.1	0.1
18	Linalol	9.438	1104	0.1	0.4
19	Terpinen-4-ol	12.408	1183	0.2	0.1
20	Kripton (4-izopropil-sikloheks-2-en-1-on)	12.768	1192	-	0.2
21	α -Fellandren epoksit	13.478	1209	-	0.1
22	5-Hidroksimetilfurfural	15.429	1259	-	0.2
23	α -Kopaen	20.407	1379	1.0	-
24	β -Burbonen	20.768	1387	0.2	-
25	β -Kübeben	20.997	1392	0.6	-
26	β -Elemen	21.100	1394	0.3	0.4
27	β -Karyofillen	22.170	1422	1.2	0.2
28	γ -Elemen	22.765	1437	-	0.5
29	α -Humulen	23.554	1457	0.3	0.1
30	<i>trans</i> - β -Farnesen	23.737	1461	-	1.1
31	Germakren D	24.939	1490	54.1	2.5
32	Bisiklogermakren	25.345	1499	5.0	6.6
33	Pentadekan	25.437	1500	0.3	-
34	Germakren A	25.643	1508	0.4	0.4
35	β -Bisabolen	25.786	1512	-	0.2
36	δ -Kadinen	26.364	1528	0.4	-
37	Germakren B	27.646	1561	-	7.4
38	Spatulenol	28.510	1583	0.8	2.2
39	Karotol	29.219	1601	-	3.5
40	Izospatulenol	30.793	1645	-	0.2
41	T-Murolol	31.416	1662	0.3	-
42	Heptadekan		1700	-	0.2
43	Oktadekan		1800	-	0.1
44	Nonadekan		1900	-	0.1
			Total	95.1%	93.7%

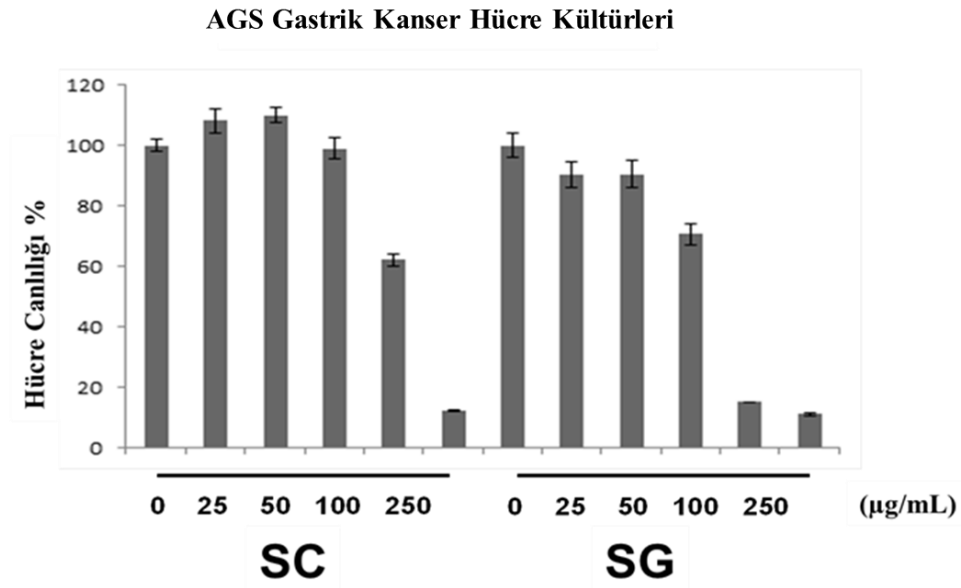
RRI: Bağlı Retansiyon Değerleri HP-5MS Üzerinde *n*-Alkanlara Karşı Belirlenen, FID verilerinden hesaplanan yüzdeler

SG: *Seseli gummiferum*, **SC:** *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum*

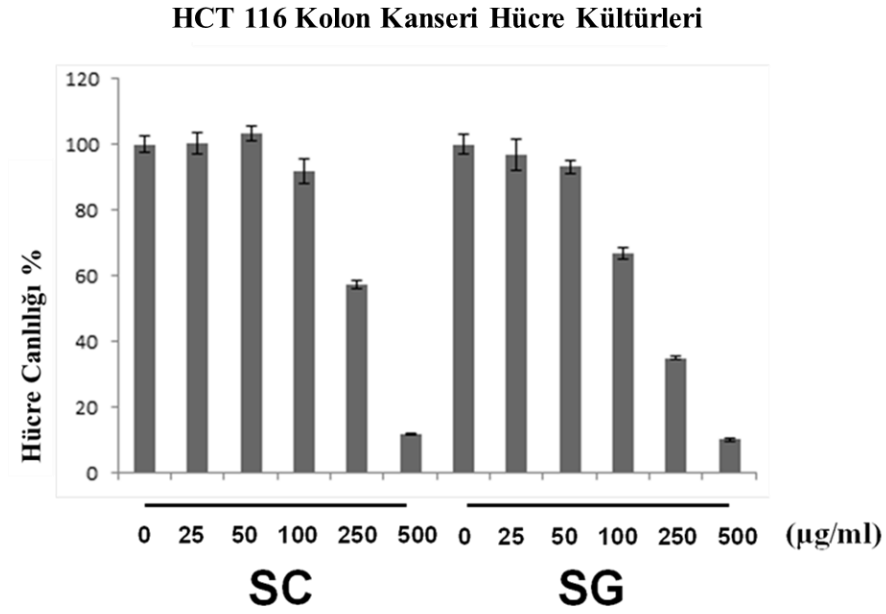
4.4. Biyolojik Aktivite Bulguları

4.4.1. MTT Deneyi'ne Ait Bulgular

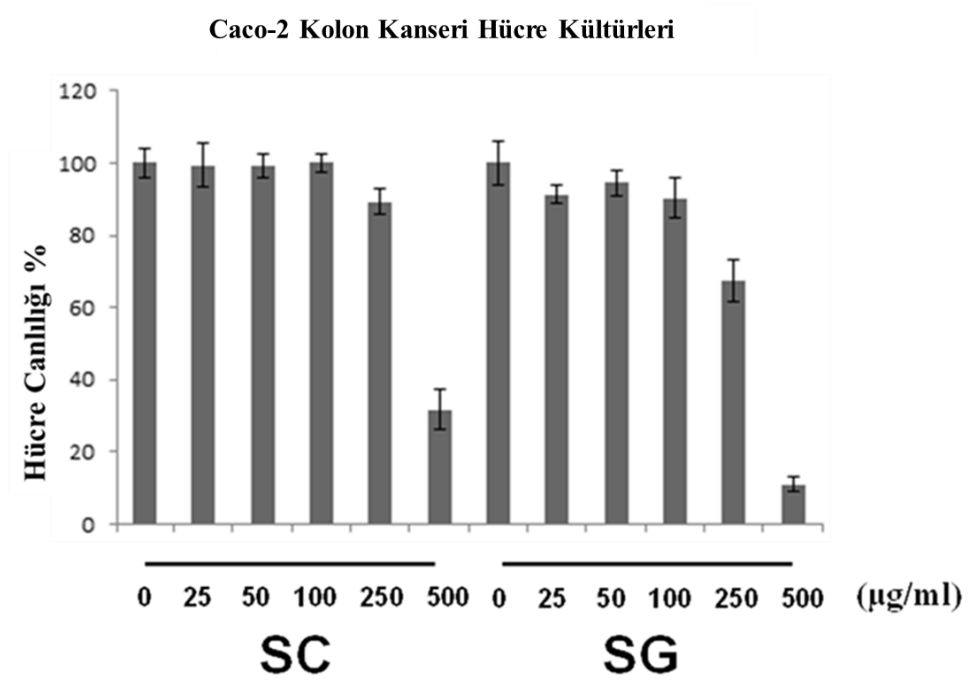
Çalışmamızda öncelikle, SC ve SG'nin uçucu yağlarının sitotoksik etkisi AGS (gastrik kanser hücreleri), HCT (116 kolon kanser hücreleri), Caco-2 (kolon kanser hücreleri) gibi farklı kanser hücre kültürleri üzerinde incelendi. Söz konusu olan sitotoksik etki yağların ancak yüksek konsantrasyonlarında gözlemlenebildi. AÇĞ'daki Çekillerde (gekil 4.2 - 4.4) uçucu yağların konsantrasyona bağlı olarak gösterdikleri etkilere ait sonuçlar grafikler halinde verilmiştir. Bu grafiklerden anlaşıldığı üzere düşük konsantrasyonlarda uçucu yağların herhangi bir sitotoksik etkisinin olmadığı gözlemlendi.



Şekil 4.2. SC ve SG'nin AGS (Gastrik Kanser Hücreleri) Üzerindeki Sitotoksitesisi



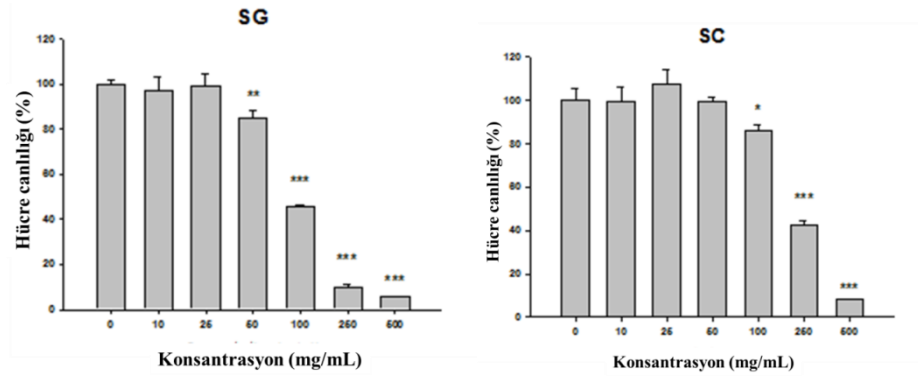
Şekil 4.3. SC ve SG'nin HCT 116 (Kolon Kanseri Hücreleri) Üzerindeki Sitotoksitesisi



Şekil 4.4. SC ve SG'nin Caco-2 (Kolon Kanseri Hücreleri) Üzerindeki Sitotoksitesisi

Aynı çalışma; RAW 264.7 makrofaj hücreleri üzerinde de gerçekleştirildi. Bu hücrelerle yapılan MTT deneyinde de yine sitotoksitenin ancak yüksek konsantrasyonda (500 mg/mL), bir miktar da daha düşük konsantrasyonda (250 mg/mL) ortaya çıktığı görüldü. Bu nedenle, bu hücre grubunun inflamasyonu yansıtması nedeniyle çalışmamıza anti-inflamatuvar etkiyi destekleyen diğer

deneylerle devam edildi. AĞırdaki grafiklerden de anlaııcağı üzere (ėekil 4.5), bu hücresel toksisitenin gözlenmemesi bu düğünüyü daha da güçlendirdi.



Şekil 4.5. SC ve SG'nin RAW 264.7 Makrofaj Hücreleri Üzerine Sitotoksitesi

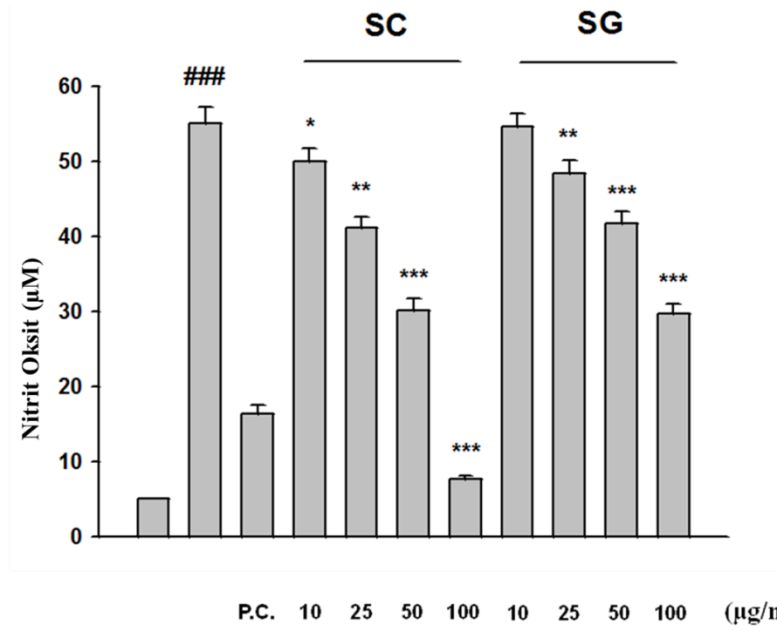
4.4.2. NO ve PGE₂ Ölçümüne Ait Bulgular

Uçucu yağlar üzerinde incelenen sitotoksik etkinin, yağların ancak yüksek konsantrasyonlarında gözlenebildiği, düşük konsantrasyonlarda uçucu yağların herhangi bir sitotoksik etkisine rastlanmadığı için, bu bölümde çalışmaya uçucu yağların muhtemel anti-inflamatuvar etkisini araştırmak üzere devam edildi.

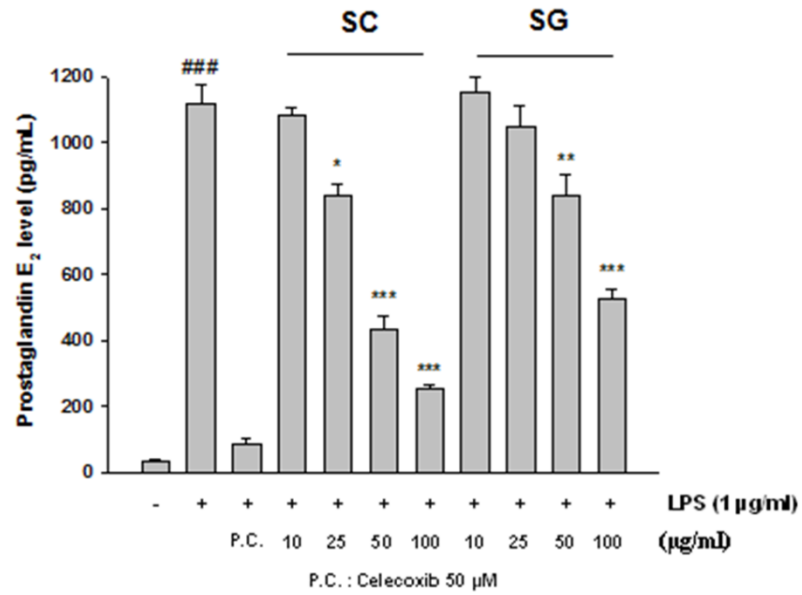
SC veya SG'nin anti-inflamatuvar etkilerinin olup olmadığını araştırmak için, LPS ile stimüle edilmiş RAW 264.7 hücrelerindeki NO ve PGE₂ üretimi üzerindeki inhibitör etkileri ölçülmüştür. Bu inhibitör etki, SG ve SC'nin sitotoksik olmayan konsantrasyonlarında gerçekleşmiştir (50-100 µg/mL).

Hücreler, 18 saatlik LPS (1 µg/mL) ile muamelenin ardından çeşitli konsantrasyonlardaki SC ve SG ile muamele edildi. LPS ile muamele, NO ve PGE₂ üretimini önemli ölçüde arttırırken, SC ve SG'nin doza bağlı cevapta LPS ile stimüle edilen RAW 264.7 hücrelerindeki NO ve PGE₂ üretimini önemli oranda inhibe ettiği gözlemlendi (ėekil 4.6 ve ėekil 4.7). Özellikle aynı konsantrasyonlarda SC'nin SG'den daha fazla oranda NO ve PGE₂ üretimini inhibe ettiği tespit edildi (100 µg/mL). Bu sonuçlar, SC ve SG'nin, inflamasyonun anahtar mediatörleri olarak NO ve PGE₂

üreten iNOS ve COX-2 enzimlerinin ekspresyonu üzerindeki inhibitör etkilerini araştırmak için bize yol gösterdi.

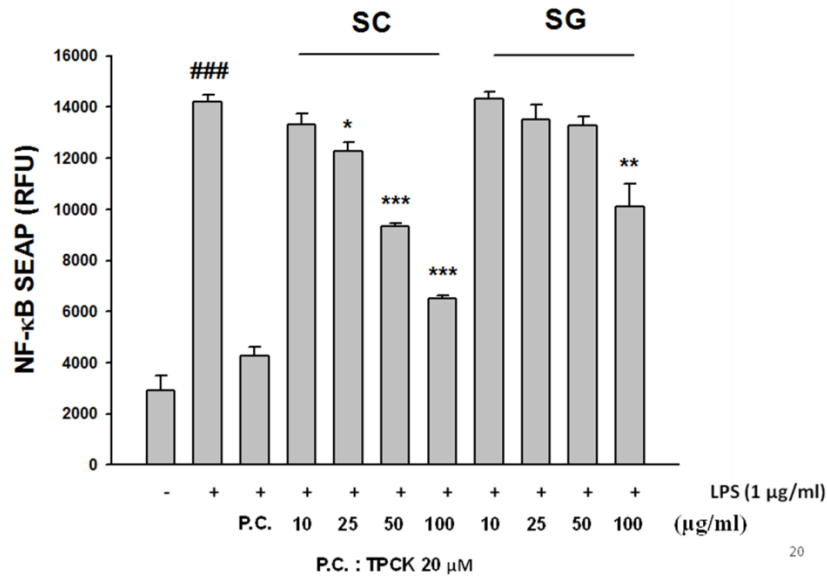


Şekil 4.6. SC ve SG'nin, LPS ile Stimüle Edilmiş RAW 264.7 Hücrelerinde NO Üretiminin İnhibisyonu Üzerine Etkisi



Şekil 4.7. SC ve SG'nin, LPS ile Stimüle Edilmiş RAW 264.7 Hücrelerinde PGE₂ Üretiminin İnhibisyonu Üzerine Etkisi

4.4.3. NF- κ B'nin SEAP Reporter Gen Analizine Ait Bulgular



Şekil 4.8. SC ve SG'nin, LPS ile Stimüle Edilmiş RAW 264.7 Hücrelerindeki NF- κ B Transkripsiyonel Aktivitesinin İnhibisyonu Üzerine Etkisi

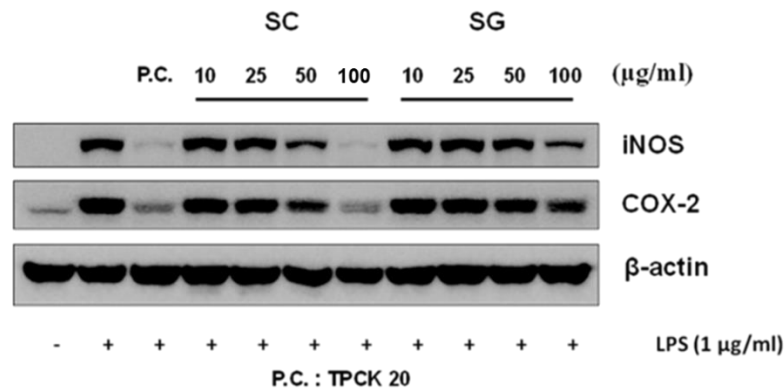
NF- κ B'nin aktif hale gelmesi, RAW 264.7 hücrelerindeki iNOS ve COX-2 içeren çeşitli inflamatuvar genlerin aktive olmasında çok önemli bir durumdur. Bu nedenle, LPS ile stimüle edilmiş RAW 264.7 hücrelerindeki NF- κ B aktivasyonu üzerine SC ve SG'nin etkisi incelendi. Bu etki, bir reporter gen aracılığı ile transfekte olan (gen transferi) makrofajlardaki NF- κ B'ye bağlı olan transkripsiyon ölçülerek belirlendi. LPS ile stimüle edilen makrofaj hücreleri; NF- κ B aktivitesinde önemli bir artışa neden oldu. Bu olay sonucunda gelişen söz konusu olan aktivite artışı SC ve SG tarafından doza bağlı olarak önemli ölçüde inhibe edildi (Şekil 4.8). Aynı konsantrasyonlarda SC'nin SG'den daha fazla oranda NF- κ B aktivitesini inhibe ettiği gözlemlendi (50-100 μ g/mL).

4.4.4. Western Blot Analizine Ait Bulgular

RAW 264.7 hücrelerinde, iNOS ve COX-2 protein ekspresyonları üzerinde SC ve SG'nin etkisi, western blot analizi yapılarak ölçüldü. iNOS ve COX-2 proteinlerinin ekspresyonu, LPS (1 μ g/mL)'e cevap olarak önemli ölçüde artmıştı. Yine bu

çalıŖmamızda da SC ve SG doza baēlı olan bu cevapta, proteinlerin (iNOS ve COX-2) ekspresyonunu inhibe etti (ēekil 4.9).

Benzer bir ēekilde, aynı konsantrasyonlarda, LPS ile stimüle edilmiē RAW 264.7 hücrelerindeki iNOS ve COX-2 protein ekspresyonlarının inhibisyonunda SC'nin SG'den daha etkili olduēu gözlemlendi (100 μg/mL).



ēekil 4.9. SC ve SG'nin LPS ile Stimüle Edilmiē RAW 264.7 Hücrelerindeki iNOS ve COX-2 Protein Ekspresyonunun İnhibisyonu Üzerine Etkisi

4.4.5. Antimikrobiyal Aktiviteye Ait Bulgular

SG ve SC uçucu yağlarının, antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak incelendi. Gram (+) bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ve Gram (–) bakterilerden de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* RSKK 574 suēları ve *Candida albicans* ATCC 10231 mayası üzerindeki antimikrobiyal etkisi araētırıldı ve ölçülen inhibisyon zonlarının çapları aēğıdaki tabloda verilmiēti (Çizelge 4.3). İnhibisyon zon çapının büyüklüēu ile antimikrobiyal etki doēru orantılı olarak arttıēı gözlemlendi.

Dolayısıyla çalıēın uçucu yağların kaydadeēer bir antimikrobiyal etkilerinin bulunmadıēı söylenebilir. Genel olarak bu uçucu yağ örneklerinin standartlarla karēılaētırıldığında, kısmen bir antimikrobiyal etkinin varlıēından bahsedilebilir.

Çizelge 4.3. Örneklerin Çalışılan Mikroorganizmalara Karşı Etkileri

	SA-1	SA-2	BS	EC	KP	PA	CA
1	-	-	7	8	8	8	-
2	-	-	7	8	8	8	-
3	-	-	-	7	7	-	-
4	-	-	-	7	7	-	-
5	7	8	7	8	8	9	7
6	7	-	7	8	8	9	7
7	-	-	-	7	7	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-
Ampisilin	11	34	20	22	32	-	-
Siprofloksasin	-	-	22	20	22	22	-
Flukonazol	-	-	-	-	-	-	28

SA-1 : *Staphylococcus aureus* 433300

SA-2 : *Staphylococcus aureus* 25923

BS : *Bacillus subtilis* 6633

EC : *Escherichia coli* 25922

KP : *Klebsiella pneumoniae* RSKK 574

PA : *Pseudomonas aeruginosa* 27853

CA : *Candida albicans* 10231

1: SC Stok

5: SG Stok

2: 500 µg/mL

6: 500 µg/mL

3: 200 µg/mL

7: 200 µg/mL

4: 100 µg/mL

8: 100 µg/mL

5. TARTIŞMA

Apiaceae familyasına ait *Seseli* L. cinsi 135 tür ile temsil edilmekte olup, 80 ve üzeri tür, Asya'da dağılım göstermektedir. Bu türler, oldukça yükseklerde, genellikle de kayalıklarda yetişen, otsu bitkiler olarak bilinir. Türkiye Florası'nda ise tür ve tür altı seviyesinde 12 taksonu kayıtlı olan *Seseli* cinsinin 4 türünün endemik olduğu belirtilmektedir (Hedge ve Lamond, 1972; Davis ve ark., 1988; Syed ve ark., 1989; Duman, 2000; Parolly ve Nordt, 2001; Aytaç ve Duman, 2013). Bununla birlikte yeni türler keşfedilmeye devam edilmekte olup, her geçen gün yeni bir tür kaydedilmektedir (Güner, 2006; Pimenov ve Kljuykov, 2010; Güner ve Duman, 2013).

Yapılmış olan çalışmalardan anlaşılmaktadır ki, Türkiye'de *Seseli* türleri üzerinde yapılan araştırmalar hala fazla sayıda bulunmamaktadır. Ancak, yine yapılan çalışmalardan anlaşılmaktadır ki; bu türler içerikleri bakımından oldukça zengin ve önemli bileşiklere sahiptir. Özellikle, kumarin, uçucu yağ ve terpenik bileşikler açısından oldukça zengindir. Bu bileşiklerin önemli biyolojik etkilere sahip oldukları bilinmektedir. Bu nedenle, ülkemizde doğal olarak yetişen *Seseli gummiferum* (SG) ve endemik bir tür olan *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum* (SC) üzerinde çalışılması, söz konusu türlerin uçucu yağ içeriklerinin incelenerek, bu uçucu yağların analizlerinin yapılması, bileşiklerinin karıştırılması, daha sonra da bu uçucu yağların etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu iki türle ilgili böyle bir çalışmanın daha önce yapılmamış olması, hem de uçucu yağların son zamanlarda oldukça ilgi çekici olmaları bizi bu konu üzerinde çalışmaya yöneltmiştir. Aslında önceden iki alt türün kimyasal ve etki bakımından karıştırılmaları amaçlanırken, daha sonraki çalışmalarda bunların iki farklı tür olduğunu ortaya koymuştur. Ancak; yine de çalışmamıza bu iki farklı *Seseli* türünün karıştırılmalı çalışmaları ile devam edilmiştir.

Bu amaçlarla yaptığımız çalışmamızda, ilk olarak *S. gummiferum* ve *S. corybosum* subsp. *corybosum*'a ait örnekler toplanmıştır. Toplanan örneklerden her bir türün toprak üstü ve toprak altı kısımlarından *n*-hekzan, etil asetat ve metanollü ekstraktları hazırlanmış ve bu ekstraktların ÇTK ile içerikleri çeşitli solvan sistemleri ve reaktifler ile incelenmiştir. Böylece, türlerin kumarin içerikleri yönünden genel bir bilgi edinilmiştir. Bunun yanında her iki türün meyvelerinden, Avrupa Farmakopesine (2010) uygun olarak hazırlanmış Clevenger cihazı ile yapılan hidrodistilasyon sonucu uçucu yağlar elde edilmiştir. Bu uçucu yağların hem ÇTK hem de GC/MS ile kimyasal içerikleri incelenerek karıştırılmıştır. Uçucu yağın ÇTK sonuçlarına göre terpenik bileşiklerin varlığı yönünden genel bir bilgi edinilmiştir. GC/MS sonuçlarına göre; *S. gummiferum*'un meyvelerinden elde edilen uçucu yağın bileşiminin % 95.1'i tayin edilerek ana bileşimler; germakren D (% 54.1), sabinen (% 22.4), ve bisiklogermakren (% 5.0); *S. corybosum* subsp. *corybosum*'un meyvelerinden elde edilen uçucu yağın bileşiminin % 93.7'si tayin edilerek, ana bileşimleri; β -fellandren (% 29.2), α -pinen (% 9.7), α -fellandren (% 8.2), germakren B (% 7.4), bisiklogermakren (% 6.6), β -pinen (% 4.8) ve mirsen (% 4.7) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Bunun yanında uçucu yağların biyolojik aktiviteleri de incelenmiştir. İlk olarak, MTT yöntemini (Kurt ve ark., 2010; Chun ve ark., 2013) kullanarak bazı kanser hücreleri (AGS, HCT 116 ve Caco-2) üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Söz konusu olan sitotoksik etki, yağların ancak yüksek konsantrasyonlarında gözlemlenmiştir (Şekil 4.2 - Şekil 4.4). Bu nedenle, uçucu yağlar düşük konsantrasyonlarda sitotoksik etki göstermediği için, ayrıca makrofaj hücrelerinde de aynı sonuçlara ulaşıldığı için çalışmalara uçucu yağların muhtemel anti-inflamatuvar etkisini araştırmak üzere devam edilmiştir (Şekil 4.5).

SC veya SG'nin anti-inflamatuvar etkilerinin olup olmadığını araştırmak için, LPS ile stimüle edilmiş RAW 264.7 hücrelerindeki NO ve PGE₂ üretimi üzerindeki inhibitör etkileri ölçülmüştür (Salvemini ve ark., 1993; Zhou ve ark., 2008; Ekmekçi ve ark., 2011). Bu inhibitör etki, SG ve SC'nin sitotoksik olmayan konsantrasyonlarında gözlenmiştir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7). Özellikle aynı

konsantrasyonlarda SC'nin SG'den daha fazla oranda NO ve PGE₂ üretimini inhibe ettiği tespit edilmiş olup, bu sonuçlar, SC ve SG'nin, inflamasyonun anahtar mediatörleri olarak NO ve PGE₂ üreten iNOS ve COX-2 enzimlerinin ekspresyonu üzerindeki inhibitör etkilerini araştırmak için bize yol göstermiştir.

Bunun üzerine, LPS ile stimüle edilen hücrelerde artan Nf-κB aktivitesi üzerinde SC ve SG'nin inhibitör etkisi incelenmiştir (Moon ve ark., 2001; Bharti ve Aggarwal, 2002; Shishodia ve Aggarwal, 2004). Söz konusu olan aktivite artışı SC ve SG tarafından doza bağlı olarak önemli ölçüde inhibe edilmiştir (Şekil 4.8).

Ayrıca, RAW 264.7 hücrelerinde, iNOS ve COX-2 protein ekspresyonları üzerinde SC ve SG'nin etkisi, western blot analizi yapılarak da ölçülmüştür (Towbin ve ark., 1979). iNOS ve COX-2 proteinlerinin ekspresyonu, LPS (1 µg/mL)'e cevap olarak önemli ölçüde artmıştır. SC ve SG doza bağlı olan bu cevapta, proteinlerin (iNOS ve COX-2) ekspresyonunu inhibe etmiştir (Şekil 4.9). Benzer bir şekilde, aynı konsantrasyonlarda, LPS ile stimüle edilmiş RAW 264.7 hücrelerindeki iNOS ve COX-2 protein ekspresyonlarının inhibisyonunda SC'nin SG'den daha etkili olduğu gözlenmiştir.

Pek çok literatürde uçucu yağların kuvvetli antimikrobiyal etkilerinden söz edilmektedir. Bu nedenle, elde edilen SG ve SC uçucu yağlarının muhtemel antimikrobiyal potansiyellerinin araştırılması için, disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir (Rangkadilok ve ark., 2012). İnhibisyona neden olan konsantrasyondaki zon çapları ölçülmüştür (Çizelge 4.3). Bu sonuçlara göre, uçucu yağların kayda değer bir antimikrobiyal etkilerine rastlanamamıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada *S. gummiferum* ve *S. corymbosum* subsp. *corymbosum*'un uçucu yağlarının bileşimini gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir. Çalıştığımız türlerin uçucu yağ bileşimleri, daha önceki yıllarda çalışılmış diğer *Seseli* türlerine ait uçucu yağların bileşimleri ile benzerlik göstermiştir. Bu çalışma, SG ve SC kodları ile belirttiğimiz türlerin, uçucu yağ bileşimlerinin aydınlatılmasına ait ilk çalışması nedeniyle orijinallik taşımaktadır.

Genel olarak uçucu yağların, ana bileşimlerinin daha güçlü farmakolojik etki göstereceği beklenmektedir. Oysa, bileşimde yer alan aromatik ve terpenik bileşimlerin sinerjik etkileri sonucu da biyolojik etkinin ortaya çıkabileceği ya da artabileceği göz ardı edilmemelidir. Uçucu yağların biyolojik etkilerine dair bilgiler Bakkali ve arkadaşlar tarafından ayrıntılı bir şekilde tartışılmıştır (Bakkali ve ark., 2008).

Farelerde LPS ile stimüle edilmiş RAW 264.7 hücreleri üzerinde, daha önce de SG ve SC kodları ile belirtilen bu uçucu yağların anti-inflamatuvar etkilerinin olduğu ortaya konmuştur.

LPS ile makrofajlar stimüle edildiğinde, aktive olan makrofajlar, inflamatuvar cevabı desteklemek için NO, PGE₂ ve proinflamatuvar sitokinler [tümör nekrozis faktör (TNF- α) ve interleükinler (ILs)] gibi birçok proinflamatuvar mediatörü üretmektedir. İndüklenebilir NO sentaz (iNOS) inflamasyon süresince NO üretimine neden olabilmektedir. COX-2 enziminin de çeşitli inflamasyon tiplerinde PGE₂ sentezinden sorumlu olduğuna inanılmaktadır (Lee ve ark., 2003). NO ve PGE₂, makrofaj aktivasyonu sırasında kritik rol oynamakta, ve her iki mediatör de akut ve kronik inflamasyonlarla ilişkilendirilmektedir (Salvemini ve ark., 1993; Zhou ve ark., 2008). Bu nedenle, COX-2 protein ekspresyonu ve iNOS'un inhibisyonu ile NO ve PGE₂

üretiminin baskılanması, anti-inflamatuvar ajanların gelişiminde çok önemli bir terapötik yaklaşımlaştırabilmektedir (Han ve ark., 2004).

Bizim çalışmamızda, *Seseli* türlerinin uçucu yağlarının LPS ile uyarılması RAW 264.7 hücrelerindeki inflamasyonun anahtar mediatörleri olarak NO ve PGE₂ üreten COX-2 ve iNOS enzimlerinin ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği ortaya konmuştur (muhtemelen iNOS ve COX-2 enzimlerinin inflamasyon sürecine dâhil olmaları nedeni ile). Bu nedenle, iNOS ve COX-2 tarafından baskılanan NO ve PGE₂ miktarı, inflamasyonun derecesini yansıtmakta ve inflamasyon süreci üzerinde farmakolojik ajanların etkilerini araştırmak için gereken bilgiyi elde etmeye olanak sağlamaktadır (Chen ve ark., 2001).

Nükleer faktör kappa B (Nf-κB) gibi transkripsiyon faktörleri tarafından regüle edilen makrofajlardaki iNOS ve COX-2 ekspresyonunu LPS'nin baskıladığı ispatlanmıştır (Jurenka, 2009). Bu nedenle, LPS ile stimüle edilen hücrelerde artan Nf-κB aktivitesi üzerinde, SC ve SG'nin inhibitör etkisi de incelenmiştir (Moon ve ark., 2001; Bharti ve Aggarwal, 2002; Shishodia ve Aggarwal, 2004). Söz konusu olan aktivite artışı SC ve SG tarafından doza bağlı olarak önemli ölçüde inhibe edilmiştir (ğekil 4.8). Bu inhibisyon oranı, yine inflamasyon süreci üzerinde ilerde yapılacak çalışmalara kaynak oluşturması ve diğer çalışmalara ışık tutması açısından önemlidir.

Aktivite çalışmamız arasında, uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon yöntemi ile araştırmak da yer almıştır. Söz konusu olan aktivitenin kayda değer düzeylerde gözlenememesi nedeniyle, bu aktiviteye dair uçucu yağların değerlendirilmesi üzerinde bir öneri getirmemize olanak sağlamamaktadır.

Günümüzde uçucu yağların önemi giderek artmaktadır. Ülkemizde, iklim şartları nedeni ile aromatik bitkilerce zengin bir ülke olduğu için, uçucu yağlar giderek daha da ilgi çekici bir konu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu bitkilerin, çok miktarda yetiştirilmesi önemini artırması bakımından sadece bir kıstas olarak gözükmemekte,

uçucu yağların hem kullanım alanlarının çok geniş olması hem de kuvvetli biyolojik etkilere sahip olmaları nedeniyle önem kazandığını vurgulamak gerekmektedir.

Kısaca, yaptığımız araştırmalar sonucunda uçucu yağ örnekleri üzerinde önemli sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçları, uçucu yağ bileşimlerinin gaz kromatografisi analizleri ile aydınlatılması ve uçucu bileşimlerin genel profillerinin belirlenmesi olarak değerlendirebiliriz. Ayrıca, yukarda anlatıldığı üzere, anti-inflamatuvar etkinin biyolojik etkiler arasında incelenmesi şeklinde de özetleyebiliriz.

Yaptığımız çalışmamızda, iki farklı tür olarak tanımlanan *Seseli gummiferum* ve *Seseli corymbosum* subsp. *corymbosum*'un uçucu yağ içerikleri aydınlatılarak, karşılaştırılmıştır. Yapılan GC/MS analizleri sonucunda, her iki türde de seskiterpenik bileşik olan bisiklogermakrenin ortak ana bileşiği olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, *S. gummiferum*'da % 54.1 oranında seskiterpenik bir bileşik olan germakren D bulunurken, % 29.2 oranı ile monosiklik bir monoterpen olan β -felandren, *S. corymbosum* subsp. *corymbosum*'da en yüksek oranlı bileşik olarak göze çarpmaktadır. Biyolojik etki bakımından da daha çok; SC kodlu uçucu yağın anti-inflamatuvar etkisinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ancak, yapılan araştırmalardan bu uçucu yağın majör bileşimlerinin anti-inflamatuvar etkisine dair yapılmış ve kanıtlanmış çalışmalara rastlanmamıştır. Dolayısıyla, bizim çalışmamızda, oluşan etkinin sinerjizm ile ortaya çıkabileceği düşünülmüştür.

Bunun yanında, her iki türe ait uçucu yağ bileşimlerinin birbirinden oldukça farklı olması ve gösterdikleri biyolojik aktivitedeki farklılıklar da, bu iki taksonun alt türden tür sınıfına geçirilmesinin kemotaksonomik açıdan önemini ortaya koymuştur.

Bu çalışmadan kazanılan bilgiler doğrultusunda, inflamatuvar hastalıklara karşı bir aday ajan olarak bu uçucu yağların kullanılması ve değerlendirilmesine yönelik ileride yapılacak çalışmalara ışık tutacak önemli veriler elde edilmiş ve bu araştırmada da ilk defa ortaya konmuştur.

ÖZET

***Seseli gummiferum* Pall. ex Sm. ve *Seseli corymbosum* Boiss. & Heldr. subsp. *corymbosum* Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar**

Apiaceae familyasından *Seseli* L. cinsine ait olan ve Türkiye’de yetişen iki farklı tür; *Seseli gummiferum* Pall. ex Sm. ve *Seseli corymbosum* Boiss. & Heldr. subsp. *corymbosum* üzerinde fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları yapılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda, bu türlerin uçucu yağları ve biyolojik etkileri incelenmiştir. Bu bitkiler üzerinde yapılmış çalışma sayısının az oluşu bizi bu araştırmaları yapmaya yöneltmiştir. İlk olarak *S. gummiferum* (SG) ve *S. corymbosum* subsp. *corymbosum*’a (SC) ait örnekler toplanmış ve herbaryum örnekleri hazırlanmıştır. Toplanan örneklerden her birinin toprak üstü ve toprak altı kısımlarından, *n*-hekzan, etil asetat ve metanollü ekstraktlar hazırlanmış ve bu ekstraktlar GC ile incelenmiştir. Bunun yanında her iki türün meyvelerinden Avrupa Farmakopesine (2010) uygun olarak hazırlanmış Clevenger cihazı ile yapılan hidrodistilasyon sonucu uçucu yağlar elde edilmiş, hem GC hem de GC/MS ile içerikleri incelenerek karıştırılmıştır. Ayrıca elde edilen uçucu yağların biyolojik aktiviteleri MTT, NO ve PGE₂ tayini, Nf-κB ve Western Blott yöntemleri kullanılarak araştırılmış ve disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal etkileri de incelenmiştir. GC/MS sonuçlarına göre; *S. gummiferum*’un meyvelerinden elde edilen uçucu yağın bileşenlerinin % 95.1’i tayin edilerek ana bileşenler; germakren D (% 54.1), sabinen (% 22.4), ve bisiklogermakren (% 5.0); *S. corymbosum* subsp. *corymbosum*’un meyvelerinden elde edilen uçucu yağın bileşenlerinin % 93.7’si tayin edilerek, ana bileşenleri; β-fellandren (% 29.2), α-pinen (% 9.7), α-fellandren (% 8.2), germakren B (% 7.4), bisiklogermakren (% 6.6), β-pinen (% 4.8) ve mirsen (% 4.7) olarak tespit edilmiştir. Biyolojik aktivite çalışmaları ise, SC ve SG uçucu yağları doza bağlı cevapta LPS ile stimüle edilen RAW 264.7 hücrelerindeki NO ve PGE₂ üretimini ve bu mediatörlerin üretilmesine neden olan iNOS ve COX-2 enzimlerini ayrıca artan Nf-κB aktivitesini de önemli oranda inhibe etmiştir. Ancak, SC ve SG uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesinde kayda değer bir sonuç elde edilememiştir. Bu çalışma, hem gelecekte yeni anti-inflamatuvar ajanların geliştirilmesine kaynak bilgi sağlaması ile öne çıkmakta, hem de çalışılan uçucu yağların önemli anti-inflamatuvar etkilerini de ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Apiaceae, MTT, Nf-κB, NO, PGE₂, *Seseli*

SUMMARY

Pharmacognostical Investigations on *Seseli gummiferum* Pall. ex Sm. and *Seseli corymbosum* Boiss. & Heldr. subsp. *corymbosum*

The aim of this study is to perform the phytochemical and biological activity studies on *Seseli gummiferum* Pall. ex Sm. and *Seseli corymbosum* Boiss. & Heldr. subsp. *corymbosum* which are growing in Turkey, from Apiaceae family. Because of the fact that there are limited studies on these species, analysis of the essential oils and biological activity studies have been carried out in this research. First of all, the material of the *S. gummiferum* and *S. corymbosum* subsp. *corymbosum* as our working samples were collected from the nature and authentic samples were deposited in the Herbarium of Ankara University Faculty of Pharmacy. The *n*-hexan, ethyl acetate and methanol extracts from the aerial parts and the roots of the each species were prepared. Then, these extracts were examined on thin layer chromatography (TLC). In addition, the essential oils of these species were obtained by hydrodistillation with a Clevenger type apparatus which is regulated according to the European Pharmacopoeia (2010). The composition of the oils were examined on TLC and then analyzed on GC/MS for the comparison of the oils composition. Moreover, the biological activity of the oils have been investigated by the methods of MTT, NO and PGE₂, Nf- κ B and Western Blotting; besides determination of the antimicrobial activity. Regarding to the GC/MS results; in total 29 compounds were characterized representing % 95.1 of the oil of the fruits from *S. gummiferum*. Germacrene D (% 54.1), sabinene (% 22.4) and bicyclogermacrene (% 5.0) were the major components in SG oil. On the other hand, in total 36 compounds were characterized representing % 93.7 of the fruits oil from *S. corymbosum* subsp. *corymbosum*. The main constituents were determined as β -phellandrene (% 29.2), α -pinene (% 9.7), α -phellandrene (% 8.2), germacrene B (% 7.4), bicyclogermacrene (% 6.6), β -pinene (% 4.8) and mircen (% 4.7). In the biological activity studies, the essential oils of the species inhibited production of NO and PGE₂, iNOS and COX-2 enzymes, and Nf- κ B in RAW 264.7 cells stimulated with LPS depend on the concentration. Nevertheless, the screening of the antimicrobial activity of the oils have no satisfied results. Therefore, this study provides important information regarding to use of the oils as a candidate agents against inflammatory disorders and the result related to this activity was debated in this work.

Key words: Apiaceae, MTT, Nf- κ B, NO, PGE₂, *Seseli*

KAYNAKLAR

- ABBASKHAN, A., CHOUDHARY M. I., GHAYUR, M. N., PARWEEN, Z., SHAHEEN, F., GILANI, A. U., MARUYAMA, T., IGBAL, K., TSUDA, Y. (2012). Biological Activities of Indian Celery, *Seseli diffusum* (Roxb. Ex. Sm.) Sant. & Wagh. *Phytotherapy Research*, **26**(5): 783-786.
- ADAMS, M., BERSET, M., KESSLER, M., HAMBURGER, M. (2009). Medicinal Herbs for The Treatment of Rheumatic Disorders- A Survey of European Herbals from The 16th and 17th Century. *J. Ethnopharmacol.*, **121**: 343-359.
- ADAMS, R. P. (2004). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/quadrupole Mass Spectroscopy, Carol Stream, III.: *Allured Pub. Corp.*
- AUSTIN, P. W., SESHADRI, T. R., SOOD, M. S., VISHWAPPAUL, M. S. (1986). Components of *Seseli sibiricum*; Constitution and Synthesis of Sibiricin, a New Coumarin. *Tetrahedron*, **24**: 3247-3253.
- AVRUPA FARMAKOPESİ 7.2. (2010). 7. Baskı. Strasbourg: Council of Europe.
- AYTAÇ, Z., DUMAN, H. (2013). A New Species and Two New Records from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, **37**: 1055-1060.
- BADER, A., CAPONI, C., CIONI, P. L., FLAMINI, G., MORELLI, I. (2003). Acorenone in The Essential Oil of Flowering Aerial Parts of *Seseli tortuosum* L. *Flavor and Fragrance Journal*, **18**: 57-58.
- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. (2008). Biological Effects of Essential Oils. *Rev. Food Chem. Toxicol.*, **46**: 446-475.
- BANERJEE, S. K., GUPTA, B. D., KUMAR, R., ATAL, C. K. (1980). New Coumarins from The Umbels of *Seseli sibiricum*. *Phytochemistry*, **19**: 281-284.
- BARRERO, A. F., HERRADOR, M. M., ARTEAGA, P. (1990). Cumarinas En Especies Del Genero *Seseli* (Fam. Umbelliferae). *Ars Pharm.*, **31**(3-4): 241-256.
- BARRERO, A. F., HERRADOR, M. M., ARTEAGA, P. (1992). Sesquiterpenes and Phenylpropanoids from *Seseli vayredanum*. *Phytochemistry*, **31**: 203-207.
- BARRERO, A. F., HERRADOR, M. M., ARTEAGA, P. (1994). Sesquiterpene Lactones and Other Constituents of *Seseli vayredanum*. *Phytochemistry*, **37**: 1351-1358.
- BAĞER, K. H. C., ÖZEK, T., KÜRKÇÜOĞLU, M., AYTAÇ, Z. (2000). Essential Oil of *Seseli campestre* Besser. *J. Essent. Oil Res.*, **12**: 105-107.
- BAĞER, K. H. C., ÖZEK, T., NURIDDINOV, KH. R., NIGMATULLAEV, A. M., KHADZIMATOV, K. KH., ARIPOV, KH., ARIPOV, KH. N. (1997). Essential Oils

- of *Mediasia macrophylla* (Regel et Schmalh.) Pimen. And *Foeniculum vulgare* Mill. From Uzbekistan. *J. Essent. Oil Res.*, **9**: 249-250.
- BAYTOP, T. (1994). Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, TDKY 3578, Ankara, TTK Basımevi, p.169.
- BAYTOP, T. (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Çaveli Çinci Baskı, Ankara, Nobel Tıp Kitapevi, p. 375.
- BELLINO, A., VENTURELLA, P., MARINO, M. L., SERVETTAZ, O., VENTURELLA, G. (1986). Coumarins from *Seseli bocconi*. *Phytochemistry*, **25(5)**: 1195-1199.
- BANERJEE, S. K., MUKHOPADHYAY, S., GUPTA, B. D., SINGH, K., RAJ, S. (1987). Sesebrinic Acid, A Cinnamic Acid Derivate from *Seseli sibiricum*. *Phytochemistry*, **26**: 1817-1820.
- BHALLA, Y., KUMAR GUPTA, V., JAITAK, V. (2013). Anticancer Activity of Essential Oils: A Review. *Society of Chemical Industry*, **93**: 3643-3653.
- BHARTI, A. C., AGGERWAL, B. B. (2002). Nuclear Factor- kappa B and Cancer; Its Role in Prevention and Therapy, *Biochem. Pharmacol.*, **64**: 883-888.
- BOHLMANN, F., BHASKAR RAO, V. S., GRENZ, M. (1968). Über Die Coumarine Aus *Angelica ursina* and *Seseli libanotis*. *Tetrahedron Letters*, **36**: 3947-3950.
- CARRETERO ACCAME, M. E., GOMEZ-SERRANILLOS CUADRADO, M. P., ORTEGA HERNANDEZ-AGERO, M. T., PALOMINO RUIZ-POVEDA, O. M. (2011). Medicinal Plants Used in Folk Medicine for Digestive Disases in Central Spain. In: RAI, M., ACHARYA, D., RIOS, J. L. (Eds.), *Ethnomedicinal Plants- Revitalizing of Traditional Knowledge of Herbs*, **13**: 361-387.
- CECHERELLI, P., CURINI, M., MARCOTULLIO, M. C., MADRUZZA, G (1990). Tortuoside, A New Natural Coumarin Glucoside from *Seseli tortuosum*. *J. Nat. Prod.*, **53(2)**: 536-538.
- CHATURVEDI, R. V., TRIPATHI, S. C. (1989). Fungitoxic, Physico-Chemical and Phytotoxic Properties of Essential Oil of *S. indicum* W. & A. *J. Phytopathology*, **124**: 316-322.
- CHEN, Y. C., SHEN, S. C., LEE, W. R., HOU, W. C., YANG, L. L., LEE, T. J. (2001). Inhibition of Nitric Oxide Synthase Inhibitors and Lipopolysaccharide Induced Inducible NOS and Cyclooxygenase-2 Gene Expressions by Rutin, Quercetin and Quercetin Pentaacetate in RAW 264.7 Macrophages. *J. Cell. Biochem.*, **82**: 537-548.
- CHUN, J., JOO, E. J., KANG, M., KIM, Y. S. (2013). Platycodin D Induces Anoikis and Caspase-Mediated Apoptosis via p38 MAPK in AGS Human Gastric Cancer Cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, **114**: 456-470.
- COASSINI LOKAR, L. R., DELBEN, S. (1988). Photoactive Furocoumarins in Two Populations of *Seseli elatum*. *Phytochemistry*, **27(4)**: 1073-1077.

- COASSINI LOKAR, L., MONEGHINI, M., MELLERIO, G. (1986). Taxonomical Studies on *Seseli elatum* L. and Allied Species. 2. Essential Oil Variation Among Three Populations. *Webbia*, **40**(2): 279-288.
- CROWDEN, R. K., HARBORNE, J. B., HEYWOOD, V. H. (1969). Chemocystematics of The Umbelliferae-A General Survey. *Phytochemistry*, **8**: 1963-1984.
- ÇAĞIN, H. K. (2005). Bitkilerin Gizli Dünyası 4-Apiaceae (Maydonozgiller), Bulut Yayınları, İstanbul, 4-10.
- DAVIS, P. H. (1972). Flora of Turkey and The East Aegean Islands; Edinburgh, *Edinburgh University Press*, **4**: 265-267.
- DAVIS, P. H., MILL, R. R., TAN, K. (1988). Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol. 10, Edinburgh, Edinburgh University Press, p: 265-267.
- DIOSCORIDES, (2002). De Materia Medica. Codex Neapolitanus Graecus 1 of the National Library of Naples, Militos Press, Athens, 215 pp.
- DIXIT, V., CHATURVEDI, R. V., TRIPATHI, S. C. (1992). Evaluation of Some Essential Oils Against Pulse Beetle (*Callosobruchus chinensis*). *Nat. Acad. Sci. Letters*, **15**(8): 255-257.
- DUMAN, H. (2000). *Seseli* L. In. *Flora of Turkey and The East Aegean Islands.*, Ed.: A. Güner, N. Özhatay, T. Ekim, K. H. C. BaÇer, Vol 11, Edinburgh, Edinburgh University Press, p. 141.
- EL-SAYED, A. M. (2007). The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals, <http://www.pherobase.com>.
- ERIK, S., TARIKAHYA, B. (2004). Türkiye Florası Üzerine, *Kebikeç*, **17**: 139-163.
- EĞMEKAYA, M. A., SIRAV, B., ÖZER, Ç., SEYHAN, N. (2011). Radyofrekans Radyasyonun Sıçanların Beyin Dokusundaki Oksidan Antioksidan Düzeylerine Etkisi. *Original Investigation*, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, **22**: 100-104.
- GARCIA-ARGAEZ, A. N., RAMIREZ APAN, T. O., DELGADO, H. P., VELAZQUEZ, G., MARTINEZ-VAZQUEZ, M. (2000). Anti-inflammatory Activity of Coumarins *Decatropis bicolor* on TPA Ear Mice Model. *Planta Med.*, **66**: 279-281.
- GHAFOURIFAR, P., PARIHAR, M. S., NAZAREWICZ, R., ZENEBE, W. J., PARIHAR, A. (2008). Detection Assays for Determination of Mitochondrial Nitric Oxide Synthase Activity; Advantages and Limitations. *Methods in Enzimology*, **440**: 317-334.
- GLOWNIAK, K., DORACZYNSKA-SZOPA, A., ERKELENS, C., VAN DER SLUIS, W. G. (1991). Isopeucenidin and Libanotin from *Libanotis intermedia* Roots: Isolatin and NMR-Analysis. *Planta Med.*, Supplement Issue 2., **A 52**.
- GONÇALVES, M. J., CRUZ, M. T., TAVARES, A. C., CAVALEIRO, C., LOPES, M. C., CANHOTO, J. M., SALGUEIRO, L. (2012). Composition and Biological Activity

- of The Essential Oil from *Thapsia minor*, A New Source of Geranyl Acetate. *Ind. Crop Prod.* **35**: 166-171.
- GONZALEZ, A. G., BARROSO, J. T., LOPEZ-DORTA, H., LUIS, J. R., RODRIGUEZ-LUIS, F. (1979). Pyranocoumarin Derivates from *Seseli totuosum*. *Phytochemistry*, **18**: 1021-1023.
- GÜNER, A., ÖZHATAY, N., EKÖM, T., BAĞER, K. H. C. (2000). Flora of Turkey and East of Aegean Islands. *Edinburgh University Press.*, Edinburgh 11 (suppl.): 243, 246, 467.
- GÜNER, E. (2006). Türkiye'deki *Seseli* L. (Umbelliferae) Cinsinin Revizyonu. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü.
- GÜNER, E., DUMAN, H. (2013). The Revision of Genus *Seseli* (Umbelliferae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, **37**: 1018-1037.
- HABIBI, Z., MASOUDI, S., RUSTAIYAN, A. (2003). Chemical Composition of The Essential Oil of *Seseli tortuosum* L. ssp. *kiabii* Akhani. From Iran. *Journal of Essential Oil of Research*, **15**: 412-413.
- HAMLIN, P. (1969). The Marshall Cavendish, Encyclopedia of Gardening. Vol.19, London, Garrod and Lofthouse International, p. 2034.
- HAN, M., WEN, J. K., ZHENG, B., ZHANG, D. Q. (2004). Acetylbritannilone Suppresses NO and PGE₂ Synthesis in RAW 264.7 Macrophages Through the Inhibition of iNOS and COX-2 Gene Expression. *Life Sci.*, **75**: 675-684.
- HEDGE, I. C., LAMOND, J. M. (1972). *Seseli* L. In *Flora of Turkey and The East Aegean Islands* Ed.: P. H. Davis, Vol 4, Edinburgh, Edinburgh University Press, p: 367-372.
- HEYWOOD, V. H. (1978). Flowering Plants of the World. *Oxford Univ. Press*, London, 309-314.
- HEYWOOD, V. H., TUTIN, G. T. (1968). Flora Europaea. *Cambridge Univ. Press.*, UK, **2**: 334-338.
- HU, C. Q., CHANG, J. J., LEE, K. H. (1990). Antitumor Agents, 115. Seselidiol, A New Cytotoxic Polyacetylene from *Seseli mairei*. *Journal of Natural Products*, **53**: 932-935.
- HUANG, L., KASHIWADA, Y., COSENTINO, L. M., FAN, S., CHEN, C. H., MCPHAIL, A. T., FUJIOKA, T., MIHASHI, K., LEE, K. H. (1994). Anti-AIDS Agents. 15. Synthesis and Anti-HIV Activity of Dihydroseselins and Related Analogs. *J. Med. Chem.*, **37**: 3947-3955.
- JANAKOVIC, P., SOKOVIC, M., VUJISIC, L., VAJS, V., VUCKOVIC, I., MARIN, P. D. (2011). Composition and Antimicrobial Activity of *Seseli globiferum* Essential Oil. *Nat. Prod. Commun.*, **6(8)**: 1163-6.
- JURENKA, J. S. (2009). Anti-inflammatory Properties of Coumarin, A Major Constituent of *Curcuma longa*: A review of Preclinical and Clinical Research. *Altern. Med. Rev.*, **14**: 141-153.

- KABİR, K. E., CHOUNDHARY, M. I., AHMED, S., TARIQ, R. M. (2013). Growth-disrupting, larvicidal and Neurobehavioral Toxicity Effects of Seed Extract of *Seseli diffusum* Against *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **90**: 52-60.
- KAHRAMAN, A., SERTESER, M., KÖKEN, T. (2002). Flavonoids. *The Medical Journal of Kocatepe*, **3**: 1-8.
- KAPOOR, S. K., SHARMA, Y. N., KIDWAI, A. R. (1968). Chemical Investigation of *Seseli sibiricum*. *Phytochemistry*, **7**: 147-149.
- KARAMANOĞLU, K. (1974). Türkiye Bitkileri. Cilt I., Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, **32**: 1054-1057.
- KAYA, A., DEMİRCİ B., BAĞER, K. H. C. (2003). The Essential Oil of *Seseli tortuosum* L. Growing in Turkey. *Flavor and Fragrance Journal*, **18**: 159-161.
- KAYA, A., DEMİRCİ B., BAĞER, K. H. C. (2003). The Essential Oil Composition of *Seseli tortuosum* L. Growing in Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, **18**: 159-167.
- KAYA, A., DEMİRCİ B., BAĞER, K. H. C. (2010). Composition of The Essential Oil of *Seseli campestre* Besser. Growing in The Northwest Anatolia. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, **7(2)**: 161-166.
- KHAN, S., SHIN, E. M., CHOI, R. J., JUNG, Y. H., KIM, J., TOSUN, A., KIM, Y. S. (2011). Suppression of LPS-induced Inflammatory and NF- κ B Responses in RAW 264.7 Macrophages by Anomalin. *Journal of Cellular Biochemistry*, **9999**: 1-10.
- KOZAWA, T., SAKAI, K., UCHIDA, M., OKUYAMA, T., SHIBATA, S. (1980). Calcium Antagonistic Action of a Coumarin Isolated from „Qian-Hu”, a Chinese Traditional Medicine. *J. Pharm. Pharmacol.* **33**: 317-320.
- KUMAR, R., GUPTA, B. D., BANERJEE, S. K., ATAL, C. K. (1978). New Coumarins from *Seseli sibiricum*. *Phytochemistry*, **17**: 2111-2114.
- KURT, F. Ö., VATANSEVER, H. S., SORKUN, K., DELİLOĞLU GÜRHAN, S. Ç, TÜRKÖZ, E., GENÇAY, Ö., SALİH, B. (2010). Inhibitory Effects of Propolis on Human Osteogenic Sarcoma Cell Proliferation Mediated by Caspase Pathway. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **16(3)**: 397-404.
- KÜPELİ E., TOSUN, A., YEĞİLADA, E. (2006). Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of *Seseli* L. species (Apiaceae) Growing in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, **104**: 310-314.
- LAWRENCE, G. H. M. (1969). Taxonomy of Vascular Plants., New York, The Macmillan Company, p. 642-646.
- LEE, A. K., SUNG, S. H., KIM, Y. C., KIM, S. G. (2003). Inhibition of Lipopolysaccharide-inducible Nitric Oxide Synthase, TNF-alpha and COX-2 Expression by Saquinone Effects on I- κ B α Phosphorylation, C/EBP and AP-1 Activation. *Br. J. Pharmacol.*, **139**: 11-20.

- LEMMICH, J., LEMMICH, E., NIELSEN, B. E. (1966). Constituents of Umbelliferous Plants, VIII. Coumarins from The Root of *Seseli libanotis* (L.) Koch. The Structure of Three New Coumarins. *Acta Chem. Scand.*, **20**(9): 2497-2507.
- LEMMICH, J., SHABANA, M. (1984). Coumarin Sulphates of *Seseli libanotis*. *Phytochemistry*, **23**(4): 863-865.
- LEONTI, M., CASU, L., RADUNER, S., COTTIGLIA, F., FLORIS, C., ALTMANN, K., GERTSCH, J. (2010). Falcarinol is A Covalent Cannabinoid CB₁ Receptor Antagonist and Induces Pro-allergic Effects in Skin. *Biochemical Pharmacology* **79**: 1815-1826.
- MARZINZIG, M., NUSSLER, A. K., STADLER, J., MARZINZIG, E., BARTHLEN, W., NUSSLER, J., BEGER, H. G., MORRIS, H. M., BRUCKNER, U. B. (1997). Improved Methods to Measure End Products of Nitric Oxide in Biological Fluids: Nitrite, Nitrate, and S-Nitrosothiols. *Biology and Chemistry*, **1**(2): 177-189.
- MATEJIC, S. J., DZAMIC, A. M., MIHAJLOV-KRSTEV, T., RANDELOVIC, V. N., KRIVOSEJ, Z. D., MARIN, P. D. (2012). Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration, Antioxydant and Antimicrobial Activity of Methanol Extract from Three *Seseli* L. Taxa. *Central European Journal of Biology*, **7**(6): 1116-1122.
- MEENA, S., CHAUDHARY, F. M., BHATTY, M. K. (1989). Antimicrobial Activity of The Essential Oils of Umbelliferae Family, Part VIII. *Seseli libanotis*, *Ligusticum stewartii* and *Pycnocycla aucheriana* Oils”, *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, **32**(5): 316-319.
- MENG, Q., ZHANG, Y., HOU, D., XIN, G., LI, T., HE, C., DUAN, C. (2013). Fluorimetric and Colorimetric Detection of Nitric Oxide in Living Cells by Rhodamine Derivatives Assisted by Cu⁺². *Tetrahedron*, **69**(2): 636-641.
- MILOSAVLJEVIC, S., TESEVIC, V., VUCKOVIC, I., JADRANIN, M., VAJS, V., SOKOVIC, M., JANACKOVIC, P., JOVANOVIC, A. (2007). Composition and Antifungal Activity of The Essential Oil of *Seseli annuum* Wild-growing in Serbia. *Fitoterapia*, **78**: 319-322.
- MOON, K. Y., ITAHN, B. S., LEE, J., KIM, Y. S. (2001). A Cell-Based Assay System for Monitoring NF-kappa B Activity in Human HaCat Transfectans Cells. *Anal Biochem.*, **292**(1): 17-21.
- MUCKENSTRUM, B., DIYANI, F., REDURON, J. P., HILDENBRAND, M. (1997). 7-Demethylplastochochromenol-2 and 2-Demethylplastoquinone-3 from *Seseli farreyinii*. *Phytochemistry*, **45**(3): 549-550.
- MURRAY, R. D. H., MENDEZ, J., BROWN, S. A. (1982). The Natural Coumarins, Occurrence, Chemistry and Biochemistry, John Wiley & Dond Ltd., New York.
- NIELSEN, B. E., LARSEN, P. K., LEMMICH, J. (1971). Constituents of Umbelliferous Plants, XVII. Coumarins from *Seseli gummiferum* Pall. The Structure of Two New Coumarins. *Acta Chem. Scand.*, **25**(2): 529-533.

- NIKHIL, B., SHIKHA, B., ANIL, P., PRAKASH, N. B. (2012). Diverse Pharmacological Activities of 3-Substitued Coumarins: A Review. *International Research Journal of Pharmacy*, **3** (7): 24-27.
- NIMS, R. W., COOK, J. C., KRISHNA, M. C., CHRISTODOULOU, D., POORE, C. M., MILES, A. M., GRISHAM, M. B., WINK, D. A. (1996). Colorimetric Assays for Nitric Oxide and Nitrogen Oxide Species Formed from Nitric Oxide Stock Solutions and Donor Compounds. *Methods in Enzymology*, **268**: 93-105.
- OJALA, T., VUORELA, P., TÖRNQUIST, K. (2001). The Coumarin Osthol Attenuates the Binding of Thyrotropin-Releasing Hormone in Rat Pituitary GH₄C₁ Cells *Planta Med.*, **67**: 236-239.
- ÖZHATAY, N., AKALIN, E., ÖZHATAY, E., ÜNLÜ, S. (2008). Rare and Endemic Taxa of Apiaceae in Turkey and Their Conservation Significance. *İstanbul Ecz. Fak. Mec.* **40**: 129-132.
- ÖZHATAY, N., AKALIN, E., ÖZHATAY, E., ÜNLÜ, S. (2009). Rare and Endemic Taxa of Apiaceae in Turkey and Their Conservation Significance. *İstanbul Ecz. Fak. Mec.*, **40**.
- ÖZTÜRK, S., ERCİĞLİ, S. (2006). Chemical Composition and *In Vitro* Antibacterial Activity of *Seseli libanotis*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **22**: 261-264.
- PAROLLY, G., NORDT, B. (2001). *Seseli hartvigii* (Apiaceae), A New Name for *S. ramosissimum* Hartvig & Strid, with Carpological and Ecological Notes on This Species. *Willdonowia*, **31**: 87-93.
- PIGNATTI, S. (1982). Flora D'Italia. Bologna, **2**: 195-198.
- PIMENOV, M. G., KLJUYKOV, E. V. (2010). Two New Species of *Seseli* (Umbelliferae) from Turkey. *Fl. Medit.*, **20**: 19-27.
- PIMENOV, M. G., LEONOV, M. V. (1993). The Genera of The Umbelliferae., Whitstable Litho, Whitstable, Kent, Great Britain.
- PIMENOV, M. G., LEONOV, M. V. (2004). The Asian Umbelliferae Biodiversity Database (ASIUM) with Particular Reference to South-West Asian Taxa. *Turkish Journal of Botany*, **28**: 139-145.
- RANGKADILOK, N., TONGCHUSAK, S., BOONHOK, R., CHAIYAROJ, S. C., JUNYAPRASERT, V. B., BUAJEEB, W., AKANIMANEE, J., RAKSASUK, T., SUDDHASTHIRA, T., SATAYAVIVAD, J. (2012). In vitro Antifungal Activities of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed extract. *Fitoterapia*, **83**: 545-553.
- RECHINGER, K. H. (1987). Flora Iranica, Umbelliferae. Akademische Druck-u, Verlagsanstalt, Graz-Austria, 347-349.
- SAĞIROĞLU, M. (2005). Türkiye *Ferula* L. (Umbelliferae) Cinsinin Revizyonu. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü, Ankara.

- SALVEMINI, D., MISKO, T. P., MASFERRER, J. L., SEIBERT, K., CURRIE, M. G., NEEDLEMAN, P. (1993). Nitric Oxide Activates Cyclooxygenase Enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, **90**: 7240-4.
- SCHISCHKIN, B. K. (1950). Species Novae Ex Familia Umbelliferarum, Notulae Systematicae, **13**: 161.
- SEN, R., BALTIMORE, D. (1986). Inducibility of Kappa Immunoglobulin Enhancer-binding Protein NF-kappa B by A Posttranslational Mechanism. *Cell*, **47**: 921-928.
- SHEHZADA, O., KHAN, S., HAA, I. J., PARK, Y., TOSUN, A., KIM, Y. S. (2013). Application of Stepwise Gradients in Counter-Current chromatography: A Rapid and Economical Strategy for The One-Step separation of Eight Coumarins from *Seseli resinosum*, *Journal of Chromatography A*, **1310**: 66-73.
- SHISHODIA, S., AGGERWAL, B. B. (2004). Nuclear Factor- κ B: A Fiend or A Foe in Cancer?. *Biochim. Pharmacol.*, **68**: 1071-1080.
- SILJEGOVIC, J., GLAMOCLJIA, J., SOKOVIC, M., VUCKOVIC, I., TESEVIC, V., MILASEVLJEVIC, S., STESEVIC, D. (2011). Composition and Antimicrobial Activity of *Seseli montanum* subsp. *tommasinii* Essential Oil. *Nat. Prod. Commun.*, **6**: 263-266.
- SINGH, G., KAPOOR, P., PANDEY, S. K., SINGH, U. K., SINGH, R. K. (2002). Studies on Essential Oils: Part 10: Antibacterial Activity of Volatile Oils of Some Species. *Phytother. Res.*, **16**: 680-682
- STAHL, E. (1967). Thin-layer chromatography. A laboratory handbook. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. s: 186-205.
- STAJKOVIC, S., PETROVIC, S., KUKIC, J., DZAMIC, A., RISTIC, M., MILENKOVIC, M., GLAMOCLJIA, J., SOKOVIC, M., STAJKOVIC, D. (2009). Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxydant Activity of *Seseli rigidum* Flower Essential Oil. *Chemistry of Natural Compounds*, **45**: 2.
- SYED, M., CHAUDHARY, F. M., BHATTY, M. K. (1989). Antimicrobial Activity of The Essential Oils of Umbelliferae Family. Part III. *Seseli libanotis*, *Ligusticum stewartii* and *Pycnocycla aucheriana* Oils. *Pak. J. Sci. Ind. Res.*, **21**(5): 316-319.
- TANDAN, S. K., CHANDRA, S., TRIPATHI, H. C., LAL, J. (1990). Pharmacological Actions of Seselin, A Coumarin from *Seseli indicum* Seeds. *Fitoterapia*, **61**: 360-360.
- TAVARES, A. C., M. J., CAVALEIRO, C., CRUZ, M. T., LOPES, M. C., CANHOTO, J. M., SALGUEIRO, L. (2008). Essential Oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus*: Chemical Composition, Antifungal Activity and Cytotoxicity. *J. Ethnopharmacol.* **119**: 129-134.
- TAVARES, A. C., M. J., CAVALEIRO, C., CRUZ, M. T., LOPES, M. C., CANHOTO, J. M., SALGUEIRO, L. (2010). Essential Oils from *Distichoselinum tenuifolium*: Chemical Composition, Cytotoxicity, Antifungal and Anti-inflammatory Properties. *J. Ethnopharmacol.* **130**: 593-598.

- TOSUN, A. (2006). Occurrence of Coumarins in *Seseli hartvigii* growing in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, **42(5)**: 608-609.
- TOSUN, A. (2002). Türkiye’de Yetisen Bazı Endemik *Seseli* L. Türleri üzerinde Farmakognazik Araştırmalar, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- TOSUN, A. (2012). Biotechnological Production of Coumarins in Biotechnological Production of Plant Secondary Metabolites. Electronic Book, Editor: Prof. Dr. Çıkay Orhan, Bentham Science Publishers, Netherland. **17**: 36-52.
- TOSUN, A., AKKOL, E. K., YEĞİLADA, E. (2009). Anti-inflammatory and Antinociceptive Activities of *Seseli* L. Species (Apiaceae) Growing in Turkey. *Z. Natur. Forsch. C.*, **64(1-2)**: 56-62.
- TOSUN, A., BABA, M., KODAMA, T., NAKANISHI, H., OKUYAMA, T. (2005). The Composition of Essential Oils of *Seseli* Species Growing in Turkey. *Natural Medicines*, **59(2)**: 85-90.
- TOSUN, A., BABA, M., BAHADIR, Ö., OKUYAMA, T. (2006a). Coumarins Isolated from The Roots of *Seseli resinosum* in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, **44(7)**: 528-533.
- TOSUN, A., KÜRKÇÜOĞLU, M., DOĞAN, E., DUMAN, H., BAĞER, K. H. C. (2006b). Essential Oil Composition of *Seseli petraeum* M. Bieb. and *Seseli andronakii* Woron. Growing in Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, **21(2)**: 257-259.
- TOSUN, A., DOĞAN, E., DUMAN, H., KÜRKÇÜOĞLU, M., BAĞER, K. H. C. (2006c). Essential Oil Composition of The Fruits of *Seseli resinosum* Freyn et Sint. And *Seseli tortuosum* L. Growing in Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, **18(1)**: 57-59.
- TOSUN, A., BAHADIR, Ö., DÖNÇ, E. (2007a). Determination of Anomalin and Deltoin in *Seseli resinosum* by LC Combined with Chemometric Methods. *Chromatographia*, **66(9)**: 677-683.
- TOSUN, A., BABA, M., OKUYAMA, T. (2007b). HPLC Analysis of Coumarins in Turkish *Seseli* Species (Umbelliferae). *Journal of Natural Medicines*, **61**: 402-405.
- TOSUN, A., ÖZKAL, N. (2003). Chemical Constituents and Biological Activities of *Seseli* L. (Umbelliferae) Species. *J. Fac. Pharm, Ankara*, **32(4)**: 269-284.
- TOSUN, A., ÖZKAL, N., YILDIZ, S. (2004). Antimicrobial Activity Screening of Some *Seseli* L. Species Growing in Turkey. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, **33(3)**: 151-155.
- TOSUN, A., TOMEK, P. (2010). Application of HPLC in Coumarin Analyses in HPLC in Phytochemical Analyses, Editors: M. Waksmundzka-Hajnos and J. Sherma, The Proposed Publishing Company: CRC Press/Taylor & Francis Group, **8**: 995.
- TOWBIN, H., STAEBELIN, T., GORDON, J. (1979). Electrophoretic Transfer of Proteins from Polyacrylamide Gels to Nitrocellulose Sheets: Procedure and Some Applications. *Proc Natl Acad Sci., U S A.*; **76(9)**: 4350-4354.

- VUCKOVIC, I., TRAJKOVIC, V., MACURA, S., TESEVIC, V., JANACKOVIC, P., MILOSAVLJEVIC, S. (2007). A Novel Cytotoxic Lignan from *Seseli annuum* L.. *Phytotherapy Research*, **21**: 790-792.
- VUCKOVIC, I., VAJS, V., STANKOVIC, M., TESEVIC, V., MILOSAVLJEVIC, S. (2010). A New Prenylated Flavanonol from *Seseli annuum* Roots Showing Protective Effect on Human Lymphocytes DNA. *Chemistry & Bioadversity*, **7(3)**: 698-704.
- WAGNER, H., BLADT, S. (1996). Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas, Second Edition. Springer Science & Business Media. Munchen-Germany. S: 149-190.
- WOZNIAK, K., LOS, R., GLOWNIAK, K., MALM, A. (2010). Comparison of Hydrodistillation and Headspace Solid-Phase Microextraction Techniques for Antibacterial Volatile Compounds from The Fruits of *Seseli libanotis*. *Nat. Prod. Commun.*, **5(9)**: 1427-1430.
- ZHANG, L., TOSUN, A., BABA, Y., OKADA, Y., WU, L., OKUYAMA, T. (2010). Coumarins from *Seseli hartvigii*. *Nat. Prod. Commun*, **5(7)**: 1067-1070.
- ZHOU, H. Y., SHIN, E. M., GUO, L. Y., YOUN, U. J., BAE, K., KANH, S. S. (2008). Anti-inflammatory Activity of 4-methoxyhonokiol is A Function of The Inhibition of iNOS ve COX-2 Expression in RAW 264.7 Macrophages Via NF- κ B, JNK and MAPK Inactivation. *Eur. J. Pharmacol.*, **586**: 340-349

ÖZGEÇMİŞ

1-Bireysel Bilgiler

Adı : Sena Seren
 Soyadı : Aslan
 Doğum yeri ve tarihi : DÜZCE 20.05.1987
 Uyuğu : T.C
 Medeni Durumu : Evli
 ÇetiÇim Adresi ve Telefonu : Yunusemre Mah. Dereboyu Sok. Tüzün Apt. No:55
 Yenimahalle/ ANKARA - GSM 0507 344 85 00

2-Eğitimi

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-Ankara 2015
 Lisans : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-Ankara 2010
 Lise : Düzce Süper Lisesi-Düzce 2005
 İlköğretim : GaziosmanpaÇa İlköğretim Okulu-Ankara 2001

3-Yabancı Dili

İngilizce

4-Ünvanı

Eczacı

5-Yayın

Alev Tosun, Jaemoo Chun, Igor Jerkovic, S. Sena Aslan, Carlo I. Tuberoso, Yeong Shik Kim “Anti-inflammatory Effect of Essential Oils from *Seseli gummiferum* and *Seseli corymbosum* 2014” (dergiye gönderildi)

6-Seminer

“*Melia azedarach* Bitkisinin Biyolojik Etkileri, 2013.”