TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# RANUNCULUS L. CİNSİNE AİT TOKSİK BAZI BİTKİLERİN GC-MS İLE ANALİZİ

**Ali SÜRGÜVEÇ**

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI**
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**
**Doç. Dr. Muhammed Mesud HÜRKUL**

**ANKARA**
**2023**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# RANUNCULUS L. CİNSİNE AİT TOKSİK BAZI BİTKİLERİN GC-MS İLE ANALİZİ

**Ali SÜRGÜVEÇ**

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI**
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**
**Doç. Dr. Muhammed Mesud HÜRKUL**

**ANKARA**
**2023**

## Etik Beyan

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum **"*Ranunculus* L. Cinsine Ait Toksik Bazı Bitkilerin GC-MS İle Analizi"** başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ali SÜRGÜVEÇ
Tarih: 16.06.2023
İmza:

## KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalı
Adli Kimya ve Adli Toksikoloji Tezli Yüksek Lisans Programında
Ali SÜRGÜVEÇ tarafından hazırlanan
"*Ranunculus* L. Cinsine Ait Toksik Bazı Bitkilerin GC-MS ile Analizi"
adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak
OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

16.06.2023

Doç.Dr. Muhammed Mesud HÜRKUL
Ankara Ü. Eczacılık Fakültesi
Jüri Başkanı

Doç.Dr. Mehmet GÜMÜŞTAŞ
Ankara Ü. Adli Bilimler Enstitüsü
Üye

Doç.Dr. Mert İLHAN
Düzce Ü. Eczacılık Fakültesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof.Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# İÇİNDEKİLER


| | |
|---|---|
| Etik Beyan | ii |
| Kabul ve Onay | iii |
| İçindekiler | iv |
| Önsöz | vi |
| Simgeler ve Kısaltmalar | vii |
| Şekiller | viii |
| Çizelgeler | ix |
| **1. GİRİŞ** | 1 |
| 1.1. Morfolojik ve Anatomik İnceleme | 3 |
| 1.2. Uzmanlara Danışmak | 3 |
| 1.3. Çevrimiçi Kaynaklar | 3 |
| 1.4. Fitokimyasal Analiz | 3 |
| 1.5. Klinik Tanı | 4 |
| 1.6. Ranunculaceae Juss. Familyasının Genel Özellikleri ve Yayılış Alanları | 5 |
| 1.7. *Ranunculus* L. Cinsinin Genel Özellikleri ve Yayılış Alanları | 5 |
| 1.8. *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus*'un Genel Özellikleri ve Yayılış Alanları | 6 |
| 1.9. *Ranunculus arvensis* L.'in Genel Özellikleri ve Yayılış Alanları | 7 |
| 1.10. *Ranunculus* L. Cinsi Bitkilerinin Geleneksel Kullanımı | 8 |
| 1.11. *Ranunculus* L. Cinsi Bitkilerinin Kimyasal İçeriği | 9 |
| 1.12. *Ranunculus* L. Cinsi Bitkilerinin Biyolojik Aktiviteleri | 10 |
| 1.13. Amaç | 12 |
| **2. GEREÇ VE YÖNTEM** | 13 |
| 2.1. Bitki Materyalleri | 13 |
| 2.2. Anatomik Çalışmalar | 13 |
| 2.3. Bazı Ana Etken Madde Gruplarının Genel Teşhis Reaksiyonları | 13 |
| 2.3.1. Bazı Ana Etken Madde Gruplarının Teşhis Reaksiyonlarında Kullanılan Kimyasallar | 14 |
| 2.3.2. Alkaloit Teşhisi | 14 |
| 2.3.3. Kardiyoaktif Heterozit Teşhisi | 15 |
| 2.3.4. Saponozit Teşhisi | 15 |
| 2.3.5. Flavonozit Teşhisi | 16 |
| 2.3.6. Antosiyanozit Teşhisi | 16 |
| 2.3.7. Siyanogenetik Heterozit Teşhisi | 17 |
| 2.3.8. Tanen Teşhisi | 17 |
| 2.3.9. Antrasenozit Teşhisi | 17 |
| 2.3.10. Kumarin Teşhisi | 18 |
| 2.3.11. Uçucu Yağ Teşhisi | 18 |
| 2.3.12. Müsilaj Teşhisi | 18 |
| 2.4. Ekstrelerin Hazırlanması | 18 |
| 2.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Analizleri | 18 |
| **3. BULGULAR** | 20 |
| 3.1. Anatomik Bulgular | 20 |
| 3.1.1. Gövde Anatomisi | 20 |

3.1.1.1. *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus* Gövde Anatomisi 20
3.1.1.2. *Ranunculus arvensis* L. Gövde Anatomisi 22
3.1.2. Yaprak Anatomisi 23
3.1.2.1. *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus* Yaprak Anatomisi 23
3.1.2.2. *Ranunculus arvensis* L. Yaprak Anatomisi 24
3.2. Ana Etken Madde Gruplarının Teşhis Reaksiyonlarının Bulguları 25
3.3. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Analizlerinin Bulguları 26
**4. TARTIŞMA** 30
**5. SONUÇ VE ÖNERİLER** 32
**ÖZET** 33
**SUMMARY** 34
**KAYNAKLAR** 35
**ÖZGEÇMİŞ** 40

# ÖNSÖZ

Bu tez çalışması "*Ranunculus* L. Cinsine Ait Toksik Bazı Bitkilerin GC-MS İle Analizi" adı ile Adli Kimya ve Adli Toksikoloji alanında yeni bulgular sunarak bu alanda fayda sağlaması amacıyla hazırlanmıştır.

Tez çalışmalarım sırasında bana manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme,

bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım danışman hocam sayın Doç. Dr. M. Mesud HÜRKUL'a,

kimyasal analiz çalışmalarımda bana her türlü desteği veren ve engin bilgilerinden faydalandığım hocalarım sayın Doç. Dr. Mehmet GÜMÜŞTAŞ'a ve sayın Dr. Kenan Can TOK'a teşekkür ederim.

# SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|---|---|
| α | Alfa |
| β | Beta |
| AAE | Askorbik asit eşdeğeri |
| DPPH | 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil |
| GAE | Gallik asit eşdeğerleri |
| $IC_{50}$ | Yarı maksimal inhibitör konsantrasyon |
| m | Metre |
| M | Molar |
| mg | Miligram |
| µg | Mikrogram |
| mL | Mililitre |
| µL | Mikrolitre |
| UAE | Ursolik asit eşdeğerleri |
| UV | Ultraviyole |

# ŞEKİLLER

**Şekil 1.1.** *Ranunculus* L. cinsinin yayılış alanları 6
**Şekil 1.2.** *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus*'un yayılış alanları 7
**Şekil 1.3.** *R. arvensis*'in yayılış alanları 8
**Şekil 3.1.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* gövde enine kesiti 21
**Şekil 3.2.** *R. arvensis* gövde enine kesiti 23
**Şekil 3.3.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* yaprak enine kesiti 24
**Şekil 3.4.** *R. arvensis* yaprak enine kesiti 25
**Şekil 3.5.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* metanol ekstresi GC-MS kromatogramı 26
**Şekil 3.6.** *R. arvensis* metanol ekstresi GC-MS kromatogramı 27
**Şekil 3.7.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* aseton ekstresi GC-MS kromatogramı 28
**Şekil 3.8.** *R. arvensis* aseton ekstresi GC-MS kromatogramı 29

# ÇİZELGELER

**Çizelge 3.1.** Ana etken madde gruplarının teşhis reaksiyonları sonuçları 25
**Çizelge 3.2.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* metanol ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler 26
**Çizelge 3.3.** *R. arvensis* metanol ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler 27
**Çizelge 3.4.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* aseton ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler 28
**Çizelge 3.5.** *R. arvensis* aseton ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler 29

# 1. GİRİŞ

Türkiye'nin zengin florası, coğrafi konumu, farklı jeolojik ve jeomorfolojik özellikleri ve toprak yapısını etkileyen farklı iklim göstergeleri gibi çeşitli faktörlerin bir sonucudur. Bazı araştırmalar Türkiye'nin bitki çeşitliliği ve endemizm açısından ilk on ülke arasında yer aldığını göstermiştir (Davis ve ark., 1994 ve Özhatay ve ark., 2011). Türkiye'nin Avrupa ve Asya'nın kavşağında olması, yüksek dağ zirvelerinden kıyı ovalarına, Akdeniz tipi iklimlerden karasal bozkır iklimlerine kadar çok çeşitli habitatların ortaya çıkmasına neden olmuştur (Güner ve ark., 2012). Bu habitatlar, ülkede kaydedilen 11.000'den fazla bitki türü ile zengin ve çeşitli bir floranın oluşmasına neden olmuştur (Güner ve ark, 2012). Ülkenin jeolojisi ve jeomorfolojisi de florasının şekillenmesinde önemli bir rol oynamıştır. Türkiye, kireçtaşı, kumtaşı ve volkanik kayaçlar dahil olmak üzere çeşitli kaya türleri ile karmaşık bir jeolojiye sahiptir ve bu, bir dizi farklı toprak türü oluşturmuştur (Aydın ve Çakıroğlu, 2016). Toros Dağları ve Anadolu Platosu gibi jeomorfolojik özellikler de Türkiye'deki habitat ve tür çeşitliliğine katkıda bulunmuştur (Güner ve ark., 2012). Genel olarak, Türkiye'nin zengin florası, çeşitli coğrafyası, jeolojisi ve iklim faktörleri arasındaki etkileşimin bir sonucudur ve bu da onu koruma ve daha fazla araştırma için kilit bir alan haline getirmektedir.

Halk hekimliği ve şifalı bitkiler Türkiye'de uzun bir geçmişe sahiptir ve birçok geleneksel uygulama bugün hala kullanılmaktadır. Araştırmalar, halk hekimliğinde kullanılan bitki türlerinin çeşitliliğini ve bunların bir dizi hastalık için geleneksel kullanımlarını belgelemiştir (Özçelik ve ark., 2015; Ulusan ve ark., 2018 ve Yılmaz ve ark., 2017). Genel olarak, bu çalışmalar ve diğer birçok çalışma, Türkiye'deki şifalı bitkilerin zenginliğini ve geleneksel kullanımlarını vurgulamaktadır. Bu bitkilerin terapötik potansiyelini daha iyi anlamak ve sürdürülebilir kullanımlarını sağlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Geleneksel olarak kullanılan tıbbi bitkiler, çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için binlerce yıldır doğal bir yol olarak kullanılmaktadır. Ancak, bir şeyin doğal olması her

zaman güvenli olduğu anlamına gelmez. Pek çok bitki güvenli kabul edilirken, bazıları özellikle yüksek dozlarda alındığında veya diğer ilaçlarla etkileşime girdiğinde zararlı olabilir. Geleneksel olarak kullanılan tıbbi bitkilerin kullanımında en önemli risklerden biri toksik bileşiklerin varlığıdır. Örneğin, *Aristolochia* L. cinsinin bazı türlerinde bulunan aristoloşik asit böbrek yetmezliği ve kanserle ilişkilendirilmiştir (Debelle ve Vanherweghem, 2008). Başka bir örnek, karaciğer hasarına neden olabilen pirolizidin alkaloitleri içeren *Symphytum officinale* L. (Boraginaceae)'dir (Stickel ve Seitz, 2000). Kontaminasyon, tıbbi bitkilerle ilişkili başka bir potansiyel tehlikedir. Bazı otlar ağır metaller, böcek ilaçları veya diğer zararlı maddelerle kontamine olabilir. Örneğin, sistematik bir gözden geçirme, Çin tıbbi bitkilerinin genellikle sentetik ilaçlarla kontamine olduğunu bulmuştur (Ernst, 2002). Bitki-ilaç etkileşimleri de bir başka endişe kaynağıdır. Bazı tıbbi bitkiler, reçeteli veya reçetesiz satılan ilaçlarla etkileşerek etkilerini değiştirebilir veya yan etkilere neden olabilir. Örneğin, popüler kilo verme takviyesi olan Hydroxycut birçok bitki içerir (*Garcinia gummi-gutta* (L.) N.Robson, *Gymnema sylvestre* (Retz.) R.Br. ex Sm., *Camellia sinensis* (L.) Kuntze) ve karaciğer hasarı yanında ilaç etkileşimleri ile de ilişkilendirilmiştir (Dara ve ark., 2008 ve Teschke ve Wolff, 2011). Ayrıca bazı bitkiler, kan sulandırıcılar gibi bazı ilaçların etkilerini güçlendirerek kanamaya veya diğer komplikasyonlara yol açabilir (Gardiner ve ark., 2006).

Geleneksel olarak kullanılan pek çok tıbbi bitkinin güvenli ve etkili olduğu gösterilmiş olsa da, kullanımlarıyla ilişkili potansiyel tehlikeler vardır. Toksik bileşikler, kontaminasyon ve bitki-ilaç etkileşimleri, tıbbi bitkilerin kullanımı düşünüldüğünde dikkate alınması gereken endişelerdir. Özellikle reçeteli veya reçetesiz satılan ilaçlar kullanılıyor ise, bitkileri veya bitkisel ürünleri kullanmadan önce uzman bir sağlık danışmanından yardım alınması önemlidir.

Herhangi bir potansiyel zararı önlemek için zehirli bitkilerin nasıl tespit edilip teşhis edileceğini bilmek önemlidir. Zehirli bitkileri tespit ve teşhis etmek için farklı yöntemler uygulanabilir (PPNC, 2023; UCANR, 2021).

### 1.1. Morfolojik ve Anatomik İnceleme

Toksik bitkileri tespit etmenin ilk adımı morfolojik incelemedir. Bitkinin görünüşü zehirli olup olmadığı konusunda fikir verebilir. Bazı bitkiler, parlak renkler, dikenler veya güçlü bir koku gibi onları kolayca tanınabilir kılan benzersiz özelliklere sahiptir. Ayrıca bitkinin dokularının anatomik yapısı zehirli bir bitkiyi teşhis ve tayin etmede yararlı bilgiler verebilir. Bununla birlikte, tüm zehirli bitkiler ayırt edici özelliklere sahip değildir ve bazıları toksik olmayan bitkilere benzeyebilir.

### 1.2. Uzmanlara Danışmak

Botanikçiler gibi uzmanlara danışmak, zehirli bitkilerin belirlenmesinde yardımcı olabilir. Bu profesyoneller bitkiler hakkında bilgi sahibidir ve bitkinin türlerinin belirlenmesine ve zehirli olup olmadığının belirlenmesine yardımcı olabilir. Ayrıca bitkinin toksisite seviyesi ve potansiyel sağlık etkileri hakkında bilgi sağlayabilirler.

### 1.3. Çevrimiçi Kaynaklar

Toksik bitkilerin tanımlanmasına yardımcı olabilecek çevrimiçi kaynaklar bitki tanımlaması, bitki toksisitesi ve bitkinin potansiyel sağlık etkileri hakkında bilgi sağlar.

### 1.4. Fitokimyasal Analiz

Fitokimyasal analiz, zehirli bitkileri saptamanın ve teşhis etmenin başka bir yöntemidir. Bu yöntem, toksik maddelerin varlığını ve konsantrasyonunu belirlemek için bitki dokularının kimyasal analizini içerir. Bu yöntem özellikle bitkide herhangi

bir ayırt edici özelliğin olmadığı ve sadece görsel inceleme ile bitkiyi tanımlamanın mümkün olmadığı durumlarda faydalıdır.

### 1.5. Klinik Tanı

Klinik teşhis, bir kişinin veya bir hayvanın sağlık durumunun semptomlarını inceleyerek teşhis edilmesi işlemidir. Bir kişi veya hayvan zehirli bir bitki tüketmişse, klinik teşhis bitkinin zehirlilik düzeyini ve potansiyel sağlık etkilerini belirlemede yardımcı olabilir. Bitki toksisitesinin belirtileri, şiddetli vakalarda kusma, ishal, nöbetler ve hatta ölümü içerebilir.

Sonuç olarak, toksik bitkilerin tespiti ve teşhisi insan ve hayvanlarda olası sağlık sorunlarının önlenmesi için önemlidir. Morfolojik ve anatomik inceleme, uzmanlara danışma, çevrimiçi kaynaklar, fitokimyasal analiz ve klinik teşhis, zehirli bitkileri tanımlamak için kullanılabilecek yöntemlerdir. Kazara tüketimi veya zehirli maddelere maruz kalmayı önlemek için bitkilerle, özellikle de yabancı bitkilerle çalışırken dikkatli olunması önemlidir.

Düğün çiçeği ailesi olarak da bilinen Ranunculaceae Juss. familyası, toksik alkaloitler üretmesi nedeniyle adli kimya ve adli toksikolojide büyük önem taşımaktadır. Bu alkaloitler oldukça zehirlidir ve yutulmaları halinde insanlara ve hayvanlara ciddi zararlar verebilir ve hatta ölümlere neden olabilir. Ailenin en toksik üyeleri arasında, akonitin, delfinin ve deltalin gibi bir dizi toksik alkaloit içeren *Aconitum* L. ve *Delphinium* Tourn. ex L. türleri yer alır. Bu alkaloitler, merkezi sinir sistemi üzerinde etki ederek kardiyak aritmiler, solunum depresyonu ve kas zayıflığı gibi ölüme yol açabilecek semptomlara neden olur (Maharjan ve ark., 2022). Adli kimyager ve toksikologlar, kan, idrar ve mide içeriği gibi biyolojik örneklerde bu alkaloitleri tespit etmek ve ölçmek için çeşitli analitik teknikler kullanır. Bu teknikler, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) içerir. Ölüm sonrası örneklerde bu alkaloitlerin varlığı, bir kişinin

Ranunculaceae familyasının bir üyesi tarafından zehirlendiğini gösterebilir (Akhgari ve ark., 2021). Adli kimya ve adli toksikolojideki önemlerine ek olarak Ranunculaceae familyasından bazı alkaloitler geleneksel tıpta da kullanılmaktadır. Örneğin akonitin, Çin tıbbında ağrı ve iltihap tedavisi için kullanılmıştır. Bununla birlikte, bu alkaloitlerin toksisitesi, dikkatle ve kalifiye bir sağlık uzmanının gözetiminde kullanılmaları gerektiği anlamına gelir (Li ve ark., 2017). Genel olarak, Ranunculaceae familyası, yutulduğunda ciddi zarara ve hatta ölüme neden olabilen toksik alkaloitlerin üretimi nedeniyle adli kimya ve adli toksikolojide önemli bir öneme sahiptir. Biyolojik örneklerde bu alkaloidleri tespit etme ve miktarını belirleme yeteneği, zehirlenme şüphesi olan durumlarda ölüm nedeninin belirlenmesi için çok önemlidir.

### 1.6. Ranunculaceae Juss. Familyasının Genel Özellikleri ve Yayılış Alanları

Familya bitkileri otsudur, bazen tırmanıcı ya da odunsu olabilir; yapraklar çoğunlukla alternat ve stipulasızdır, bazen tüm yapraklar taban kısımda yer alır, yapraklar nadiren oppozit ya da stipulalı olabilir, çiçekler hermafrodit, hipogin, aktinomorfik ya da zigomorfiktir; periant bir ya da iki sıralı olup, segmentler genellikle birleşmemiştir; iç halka genellikle nektar içerir; stamenler genellikle çok sayıda ve çevreden merkeze doğru spiral şeklinde düzenlenmiştir, önce dış stamenler olgunlaşır; anterler dış yüzeyden yarılır; dişi organ apokarp, nadiren sinkarp ya da 1 karpellidir; Meyveler aken ya da foliküllerden oluşur, nadiren 1 foliküllü ya da bakkadır (Davis, 1965).

Ranunculaceae familyası türleri dünya genelinde dağılmıştır, fakat çoğunlukla kuzey yarımkürenin ılıman ve soğuk bölgelerinde yaygındır (Hürkul, 2021). Ranunculaceae familyası kabul edilmiş 51 cins içerir (POWO, 2023).

### 1.7. *Ranunculus* L. Cinsinin Genel Özellikleri ve Yayılış Alanları

*Ranunculus* L. cinsinde yer alan bitkiler bir ya da çok yıllıktır, karasal ya da sucul yaşam formundadırlar; çiçekler tek halde ya da bileşik salkım, sarı, kırmızı veya beyaz renklidir; yapraklar alternat olup çoğunlukla tabanda yer alır; periant iki sıralıdır, dış segment sepaloit (3 ya da 5), iç segment petaloit (5 ya da daha fazla) çoğunlukla bir nektar çukuru bulundurur; stamenler genellikle çok sayıdadır; meyve tipi akendir ve çoğunlukla gagalıdır (Davis, 1965).

Cins dünya üzerinde ılıman ve subtropik bölgelerden tropik dağlara kadar uzanan çok geniş bir yayılış alanına sahiptir (Şekil 1.1) ve dünya genelinde kabul edilmiş 1690 taksonu içerir (POWO, 2023), Türkiye'de ise 101 takson ile temsil edilir (Güner vd., 2012).




**Şekil 1.1.** *Ranunculus* L. cinsinin yayılış alanları (POWO, 2023)

### 1.8. *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus*'un Genel Özellikleri ve Yayılış Alanları

Bitki çok yıllık, 20-40 cm. boyunda, hafif parlaktır. Gövdesi ince olup, 1-5 çiçeklidir. Taban yaprakları derin 3 parçalı, parçalar linear-lanseolat. Sepaller oldukça geriye doğru kıvrılmıştır. Petaller 9-15 mm. Akenler orbikular, yassı, 2 mm.

Çiçeklenme dönemi mayıs-temmuz ayları olup, 1200-2300 m. yükseltide yetişmektedir (Davis, 1965).

Bitki doğal olarak kuzey batı Avrupa'dan İran'a kadar doğal bir yayılış alanı gösterir (Şekil 1.2) (POWO, 2023).

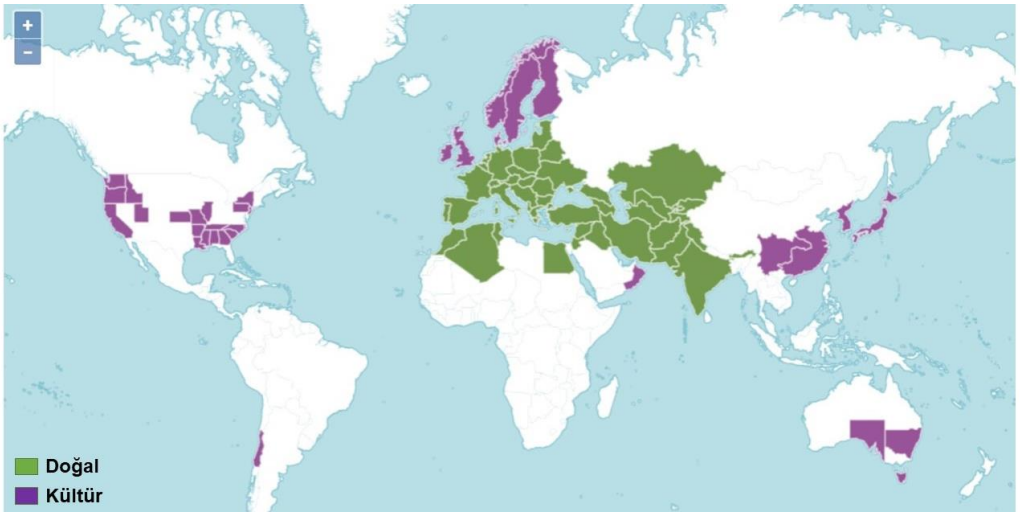


**Şekil 1.2.** *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus*'un yayılış alanları (POWO, 2023)

### 1.9. *Ranunculus arvensis* L.'in Genel Özellikleri ve Yayılış Alanları

Bitki seyrek, yatık piloz tüylü olup tekyıllık ve 5-30 cm. boyundadır. Gövdenin aşağı kısımlarında yer alan yapraklar trifit, trilob ya da trisekt; orta kısımdaki yapraklar ise orta damara kadar çokça parçaya bölünmüş halden çok sayıda liear-lasiniat yapıda olabilir. Sepaller yatık, petaller 4-6 mm, akenler obovat-orbikular şeklindedir. Çiçeklenme dönemi mart-haziran ayları olup, deniz seviyesinden 1800 m. yükseltiye kadar yetişmektedir (Davis, 1965).

Bu türün doğal yayılış alanı Kuzey Afrika dahil, Avrupa'dan Orta Asya'ya ve Himalayalara kadar dağılan geniş bir alanı kapsar (Şekil 1.3) (POWO, 2023).




**Şekil 1.3.** *R. arvensis*'in yayılış alanları (POWO, 2023)

### 1.10. *Ranunculus* L. Cinsi Bitkilerinin Geleneksel Kullanımı

Ülkemizde "düğün çiçeği, basurotu, katırnalı, yağlıçiçek" olarak bilinen *Ranunculus ficaria* L. (kabakulakotu) geleneksel olarak basur tedavisinde, taze yaprakları kabakulak tedavisinde (Baytop, 1999; Gürhan ve Nurten, 2004; Polat ve Satıl, 2012); *R. neopolitanus* Ten. (yavruağzı) toprak üstü kısımları sarılık tedavisinde (Sezik vd., 2001); *R. illyricus* L. herba kısmı apse tedavisinde (Sezik vd., 2001); *R. ficaria* ssp. *ficariiformis* Rouy et Fouc. L. (Köstebek otu) yaprakları dekoksiyon şeklinde yara tedavisinde (Ugurlu ve Secmen, 2008); *R. arvensis* L. (sarıpıtrak, supıtrağı) romatizma ağrılarında, egzama tedavisinde (Fujita vd., 1995; Yeşilada, 1995); *R. repens* L. (yanıkotu, supıtrağı, mayısotu) romatizma ağrılarında (Fujita vd., 1995; Yeşilada, 1995); *R. muricatus* L. (yakıotu) romatizma ağrılarında (Fujita vd., 1995); *R. constantinopolitanus* (DC.) d'Urv. (düğünçiçeği) çiçekleri romatizma tedavisinde (Cakilcioglu vd., 2011); *R. cappadocicus* Willd. (sudüğünçiçeği) çiçekleri romatizma tedavisinde (Bozkurt, 2021); *R. kotschyi* Boiss. (Cüngk) yaprakları romatizma tedavisinde (Kaval vd., 2014) geleneksel olarak kullanılmaktadır. Ayrıca *R. cornutus* DC. (Kunamella) yaprakları çiğ olarak limonlu salata olarak ya da kızartılarak yenmekte (Yeşil ve İnal, 2019); *R. caucasicus* Bieb. (mayısçiçeği) çorba,

reçel yapımında ve kurutularak baharat olarak kullanılmaktadır (Güneş ve Özhatay, 2011).

### 1.11. *Ranunculus* L. Cinsi Bitkilerinin Kimyasal İçeriği

*Ranunculus sardous* Crantz, 7-*O*-metil herbasetin 3-*O*-[2-*O*-E-feruloyil-fl-*D*-glukozit (Markham vd., 1997); *Ranunculus repens* L., r(+)-dalbergi fenol, r(+)-4-metoksi dalbergion, metil 3,4,5,-trihidro benzoat,4-hidroksi-2-metoksibenzoik asit, *p*-hidroksisinamik asit, *β*-sitosterol, ranupenin (Noor vd., 2006; Wagner vd., 1997); *Ranunculus muricatus* L., stigmasterol -4 - ene-3 ,6 - dione, stigmasterol, anemonin, aescin lakton dimetil eter, beta-valley sterol, protokateşik aldehit, protokateşik asit ve luteolin faktörleri (Lingjie vd., 2009); *Ranunculus chinensis* Bunge, 3-*O*-*α*-L-arabinopiranozil-(1→2)-*β*-D-galactopiranozil-7-*O*-*β*-D-glukopiranozilkempferol (4); 3-*O*-*α*-L-arabinopiranozil-(1→2)-{4-*O*-[(E)-kafeoyil]*β*-D-galaktopiranozil})-7-*O*-*β*-D- glukopiranozilkersetin; 3-*O*-{2-*O*-[(E)- kafeoyil]-*α*-L-arabinopiranozil (1→2)-*β*-D-galaktopiranozil})-7-*O*-*β*-D-glukopiranozilkempferol; 3-*O*-{2-*O*-[(E)- kafeoyil]-*α*-L-arabinopiranozil-(1-2)-*β*-D-galaktopiranozil}kemferol (Zou vd., 2007); *Ranunculus laetus* Wall. ex D.Don, jacein, jacedin-5-*O*-*β*-D-glukozit, sentaurein, 6,7-dimetoksikumarin, *β*-amirin ve *β*-sitosterol-3-*O*- *β*-D-glikozit (Hussain vd., 2009); *Ranunculus arvensis* L., alkaloit, flavonoit ve saponin (Hussain vd., 2011); *Ranunculus bulbosus* L., hekzadekanoik asit, *β*-sitosterol, anemon, protoanemonin (Mares, 1987; Uniyal vd., 2006); *Ranunculus ternatus* Thunb., ternatozit, ternatozit B, sternbin, metilparaben, 4-*O*-D-glukopiranozil-*p*-kumarik asit, linokafein, robustaflavon-4′-metil eter, kayaflavon, podokarpusflavon A, bilobeti, izoginkgetin, amentoflavon, 4-okso-5-(*O*-*β*-D-glukopiranozil)-pentanoik asit-1O-bütil ester, 4-okso-5-(*O*-*β*-D-glukopiranozil)-pentanzaur-metil ester, benzil alkol *O*-*β*-D-glikopiranozit (Tian vd., 2005; Tian vd., 2006); *Ranunculus sieboldii* Miq., apigenin-4'-*O*-a-L-arabinopiranozit, apigenin-7-*O*-*β*-D-glukopiranozil-4'-*O*-α-L-ramnopiranozit, apigenin-8-C-*α*-L-arabinopiranozit, apigenin-8-C-β-D-galaktopiranozit, trisin-7-*O*-*β*-D-glukopiranozit, trisin, luteolin, skopoletin, eskületin, skoparon, ferulik asit, protokateşik asit ve ternatolit (Pan vd., 2004) içermektedir.

### 1.12. *Ranunculus* L. Cinsi Bitkilerinin Biyolojik Aktiviteleri

*Ranunculus macrophyllus* Desf. bitkisinden elde edilen etil asetat ve *n*-butanol ekstrelerinin *ex-vivo* membran stabilize edici analizler ve *in vivo* akut deri enflamasyon modeli kullanılarak anti-enflamatuvar aktivitelerinin değerlendirildiği çalışmada, fenolik bileşiklerin ve triterpenoitlerin miktar tayinlerinde spektrofotometrik ve kromatografik yöntemler kullanılarak, ekstrelerin antioksidan aktiviteleri ise fosfomolebdenum, DPPH, indirgeme gücü ve *β*-karoten ağartma deneyleri kullanılarak hesaplanmıştır. Toplam fenolik madde ve triterpenoit içeriği olarak en yüksek değer bitkiden elde edilen etil asetat ekstresinde sırasıyla 413 ± 4 µg GAE/mg kuru ekstre ve 70,4 ± 1,8 µg UAE/mg kuru ekstre olarak tespit edilmiştir. Etil asetat ekstresi, güçlü $DPPH^{\bullet}$ radikal süpürme yeteneği ($IC_{50}$ 1,6 ± 0,2 µg/mL), yüksek toplam antioksidan kapasitesi (447 ± 7 µg AAE/mg kuru ekstre) ve indirgeme gücü (514 ± 8 µg AAE/mg kuru ekstre) sergilemiştir. Etil asetat ekstresi, linoleik asit peroksidasyonunu % (73,4 ± 0,3) inhibe etmiştir. Etil asetat ve *n*-butanol ekstreleri, 2000 mg/kg'da herhangi bir görünür toksisite göstermemiştir ve mükemmel bir zar stabilize etme yeteneği sergilemiştir. Ksilen kaynaklı kulak iltihabının inhibisyonu, *n*-butanol ve etil asetat için sırasıyla % (38 ± 4) ve % (46 ± 1) olarak hesaplanmıştır (Deghima vd., 2021). *R. macrophyllus*'dan elde edilen farklı polaritedeki ekstrelerin antioksidan kapasitesi antiradikal, demir şelatlama yeteneği, indirgeme gücü ve lipit peroksidasyonu *in vitro* olarak incelenmiştir. DPPH ($IC_{50}$ = 3,7 ± 0,1 µg/mL) ve ABTS'ye ($IC_{50}$ = 81 ± 3 µg/mL) karşı en yüksek radikal süpürme yeteneği etil asetat fraksiyonu için tespit edilmiştir. Hekzan fraksiyonunun ise en iyi hidrojen peroksit radikal süpürme özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir ($IC_{50}$ = 380 ± 4 µg/mL). Ayrıca etil asetat fraksiyonunun en iyi toplam antioksidan kapasiteye sahip olduğu (TAC = 361 ± 1 µAAE/mg ekstre) ve indirgeme gücü gösterdiği (310 ± 2 µAAE/mg ekstre) belirtilmiştir. *β*-karoten testinde, etil asetat fraksiyonu (% 81,0 ± 0,5) tarafından 24 saat sonra bile yüksek oranda inhibisyon ölçülmüştür (Deghima vd., 2020). *R. pedatus* Waldst. & Kit. subsp. *pedatus* ve *R. constantinapolitanus* DC.'un *in vivo* yara iyileştirici ve anti-enflamatuvar özelliklerini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada; yara iyileştirme etkinliği lineer insizyon ve sirküler eksizyon yara modelleri ile değerlendirilmiştir. Tedavi edilen dokuların hidroksiprolin içeriği de

değerlendirilmiş ve bazı modifikasyonlarla Whittle yöntemini kullanarak anti-inflamatuar aktiviteleri incelenmiştir. *R. pedatus*'un metanol ekstresi, hem insizyon (%31,4) hem de eksizyon (%55,74) yara modellerinde önemli yara iyileştirici etki göstermiştir. Hem *R. pedatus* hem de *R. constantinapolitanus*'un metanol ekstreleri, 100 mg/kg dozda sırasıyla %26,2 ve %23,3'lük inhibisyon değeriyle anti-inflamatuar aktivite göstermiştir. *R. pedatus*'un metanollü ve sulu ekstreleri ile *R. constantinapolitanus*'un metanol ekstresi ile muamele edilen dokuların hidroksiprolin içeriği diğer ekstrelerden önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (Akkol vd., 2012). *R. sceleratus*'tan elde edilen kloroform, metanol ve su ekstreleri, beş dermatofit suşu, *Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton tonsurans, Microsporum gypseum* ve *Microsporum fulvum*'a karşı saçkıran önleyici aktivite açısından değerlendirilmiştir. Ekstrelerin inhibisyon zonunu belirlemek için agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılmış ve ekstrelerin minimum inhibitör konsantrasyonları brot makro dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bitkinin kloroform ekstrelerinin test edilen tüm mantarlara karşı oldukça aktif olduğu ve bunu metanol ekstresinin takip ettiği tespit edilmiştir. Sulu ekstreler en az aktiviteyi göstermiştir. Ekstrelerin minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC), kloroform ve metanol ekstreleri için 1,25-10,00 mg/mL arasında ve sulu ekstreler için 10 mg/mL'den büyük olarak hesaplanmıştır (Sharma vd., 2012). *R. sceleratus* L.'un *in vitro* ve *in vivo* durumlarda iltihaplanmalara dahil olan süreçleri modüle etme yeteneğini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarından alınan farklı ekstreler, tetradekanoilforbol asetat (TPA), araşidonik asit (AA) ve İrlanda yosunu tarafından indüklenen birkaç akut inflamasyon modeli yanı sıra oksazolon ve dinitroflorobenzen (DNFB) tarafından indüklenen iki gecikmiş aşırı duyarlılık modelinde test edilmiştir. Ekstreler ayrıca bozulmamış hücreler tarafından eikozanoit ve elastaz salımı modellerinde de test edilmiştir. *İn vivo* testlerde, ekstrelerin tümü anti-inflamatuar veya nötr etkiler göstermiştir. *İn vitro* çalışmalarda ise, bu türün polar olmayan ekstreleri eikozanoit üretimini inhibe etmiştir, polar ekstreler 5-hidroksi-6,8,11,14-eikosatetraenoik asit (5(*S*)-HETE), lökotrien $B_4$ ($LTB_4$) ve 12-hidroksi-6,8,11,14-eikosatetraenoik asit (12(*S*)-HETE) sentezini arttırmıştır (Prieto vd., 2003).

### 1.13. Amaç

Zehirli bitkilerin teşhisi ve tayininin hızlı ve güvenli olarak yapılabilmesi zehirlenme vakalarında büyük önem arz etmektedir. Bitkinin dokularının anatomik yapısı zehirli bir bitkiyi teşhis ve tayin etmede yararlı bilgiler verebilir. Bununla birlikte, tüm zehirli bitkiler ayırt edici özelliklere sahip değildir ve bazıları toksik olmayan bitkilere benzeyebilir. Bunun için anatomik yapıların analizinin yanında fitokimyasal analiz de yapılabilir. Fitokimyasal analiz, zehirli bitkileri saptamanın ve teşhis etmenin başka bir yöntemidir. Bu yöntem, toksik maddelerin varlığını ve konsantrasyonunu belirlemek için bitki dokularının kimyasal analizini içerir. Bu yöntem özellikle bitkide herhangi bir ayırt edici özelliğin olmadığı ve sadece görsel inceleme ile bitkiyi tanımlamanın mümkün olmadığı durumlarda faydalıdır.

Bu çalışmada *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus* ve *Ranunculus arvensis* L.'in anatomik yapılarının aydınlatılması ve kimyasal içeriğinin aydınlatılması amaçlanmıştır. Bu amaç dğrultusunda bitkilerin anatomik yapıları ışık mikroskopu ile incelenmiş ayrıca metanol ve aseton ekstrelerinin kimyasal içeriği aydınlatılmıştır.

# 2. GEREÇ VE YÖNTEM

## 2.1. Bitki Materyalleri

Bu tez çalışmasında kullanılan bitkiler doğal lokasyonlarından M. Mesud HÜRKUL tarafından toplanmış ve toplayıcı numarası verilmiştir.

Çalışılan bitkilerin lokalite bilgileri aşağıda verilmiştir:

*Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus*: Ankara, Elmadağ, 19.06.2022, *MH1007*

*Ranunculus arvensis* L.: Ankara, Hacıkadın vadisi, 24.05.2022, *MH1008*

## 2.2. Anatomik Çalışmalar

Anatomik çalışmalar için bitkiler %70'lik etil alkolde korunmuştur. Bitki kısımlarından hazırlanan anatomik preparatlar Sartur reaktifi (Çelebioğlu ve Baytop, 1949) ile hazırlanmış ve ışık mikroskopu ile incelenmiştir (Hürkul ve Yayla, 2023). Leica DM 4000 B mikroskopuna entegre kamera ile mikro fotoğrafları çekilmiştir (Hürkul ve Yayla, 2021).

## 2.3. Bazı Ana Etken Madde Gruplarının Genel Teşhis Reaksiyonları

Bitkilerin hangi etken madde gruplarını içerdiği, bitkilerin kurutulmuş çiçekli herbalarının bir öğütücüde toz hale getirildikten sonra kalitatif olarak incelenmesi ile tespit edilmiştir.

### 2.3.1. Bazı Ana Etken Madde Gruplarının Teşhis Reaksiyonlarında Kullanılan Kimyasallar

Etanol
Stiasny Reaktifi
Sodyum karbonat
Kurşun asetat
Kloroform
Baljet Reaktifi
Amonyak
Hidroklorik asit
Sodyum hidroksit
Amil alkol
Bromlu su
Benzen
Demir 3 klorür
Tuzlu jelatin çözeltisi
Dragendorff Reaktifi
Mayer Reaktifi
Sülfürik asit
Glasiyal asetik asit
Mg tozu
Pikrik asit

### 2.3.2. Alkaloit Teşhisi

Bek alevinde 0,5 g bitki, $H_2SO_4$ (%6)'li etanol (%70) ile 1 dakika kaynatıldı. Çökme işleminden sonra süzüldü. Süzüntü 3 kısma ayrıldı. Mayer reaktifi 1. tüpe, Dragendorf reaktifi 2. tüpe bir kaç damla damlatıldı. Çökelek oluşması gözlendi. 3. kısım süzüntü ayrıma hunisinde alkalilendirildi (15 mL $Na_2CO_3$ (%25) çözeltisi ile). Kloroform (15 mL) ile sıvı-sıvı ekstraksiyon yapıldı. Alınan kloroformlu faz 15 mL

asetik asit (%10) ile muamele edildi. Asetik asitli kısım alınıp 3 kısma ayrıldı. Mayer reaktifi 1. kısma, Dragendorf reaktifi 2. kısma eklendi. 1. ve 2. kısımda çökme olup olmadığı 3. kısma kıyasla incelendi (Tanker ve ark., 1986).

### 2.3.3. Kardiyoaktif Heterozit Teşhisi

Etanol (%70) ile 2 g bitki kaynatıldı, sonrasında süzüldü. İki kat su ile eklendi. Derişik kurşun subasetat çözeltisi (1 mL) eklenip, süzüldü. Ekstraksiyon kloroform (10 mL) ile yapılıp 3 kısma ayrılan kloroform fazına farklı reaksiyonlar uygulandı (Tanker ve ark., 1986).

Keller Killiani Reaksiyonu

Kurutulan çözeltiye, glasiyal asetik asitli $FeCl_3$ çözeltisi (3 mL % 3,5'luk) eklendi. Derişik sülfirik asit (2 mL) bulunan bir tüpe aktarıldı. Ayrılma tabakası koyu bir yüzey, asetik asitli üst katmanda, yeşil bir renk oluşması izlendi.

Baljet Reaksiyonu

Kurutulan çözelti, etanol (1 mL) ile çözüldü. Baljet reaktifi eklendi. Kırmızı-turuncu rengin varlığı gözlendi.

Liebermann-Burchard Reaksiyonu

Kurutulan çözeltiye glasiyal asetik asit (1 mL) eklendi. Daha sonra derişik $H_2SO_4$ (bir kaç damla) eklendi. Önce menekşe-mavi sonrasında yeşil renk oluşumu gözlendi.

### 2.3.4. Saponozit Teşhisi

Bitki (0,5 g) üzerine soğuk su (10 mL) eklenip kuvvetli çalkalandı (10 saniye). Kalıcı köpük (1-10 cm) varlığı gözlendi (10 dakika boyunca). Daha sonra HCl (2N) damlatıldı köpük tabakası varlığı kontrol edildi (Çubukçu, 1992).

### 2.3.5. Flavonozit Teşhisi

Bitkiden su ile dekoksiyon hazırlandı. Ekstre 3 kısma ayrıldı. Şu işlemler uygulandı (Tanker ve ark., 1986).

Koyu sarı renk, amonyak çözeltisi (%10) ile; sarı-turuncu çökelek, bazik kurşun asetat çözeltisi ile; esmer yeşil renk sulu demirklorür ($FeCl_3$) ile muamele sonucu izlendi. Siyanidin reksiyonu, flavonoitlerin tipini belirlemek için uygulandı.

Siyanidin Reaksiyonu: Bitkiden etanol ile ekstraksiyon (0,1 g/ 5 mL) yapıldı. Derişik HCl (0,5 mL) ve Mg tozu eklendi. Hidrojen gazı çıkışı ve renk izlendi. Flavon (turuncu), flavonol (kırmızı), flavanon (pembe-mor) varlığına bakıldı (Tanker ve ark., 1986).

### 2.3.6. Antosiyanozit Teşhisi

Bitkilerin etanol (%50) infüzyon ekstreleri süzülerek 5 bölüme ayrıldı ve aşağıdaki işlemler yapıldı (Tanker ve ark., 1986).

$H_2SO_4$ (dilüe) ile oluşan renk gözlendi

NaOH çözeltisi eklenip HCl ile asitlendirildi ve oluşan renk gözlendi

Kurşun asetat (% 10'luk) çözeltisi eklendi ve çökelti gözlendi

Amil alkol eklenip çalkalandı, tabakalardaki renk izlendi

$H_2SO_4$ (dilüe) eklenip ısıtıldı, soğutma işleminden sonra amil alkol ilave edildi, çalkalandı. Amil alkol tabakasının rengi izlendi

### 2.3.7. Siyanogenetik Heterozit Teşhisi

Bir miktar bitki distile su ile ıslatıldı. Pikrik asitli kağıt sodyum karbonat çözeltisi (%1) ile ıslatıldı. Hafif ısı uygulanan erlenin boynuna bir mantarla sıkıştırılan kağıtta tuğla kırmızısı renk izlendi (Tanker ve ark., 1986).

### 2.3.8. Tanen Teşhisi

Bitkilerden elde edilen infüzyon'a aşağıdaki uygulamalar ile muamele edildi (Çubukçu, 1992).

Ağır metal tuzları ile çökelti oluşumu

$FeCl_3$ (%5) çözeltisi ile renk oluşumu

Tuzlu jelatin çözeltisi (%1) ile çökelek oluşumu

Bromlu su ile çökelek oluşumu

Stiasny reaktifi ile çökelek oluşumu

### 2.3.9. Antrasenozit Teşhisi

Bir miktar bitki dilüe $H_2SO_4$ ile kaynatılıp, soğumadan süzüldü. Benzen ile sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulandı. Benzen fazı amonyak (%10) ile ekstre edildi. Amonyak fazındaki renge bakıldı (Tanker ve ark., 1986).

### 2.3.10. Kumarin Teşhisi

1N $H_2SO_4$ ile dekoksiyon uygulanan bitkiler süzüldü. Kloroform ile sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulandı. Kloroformlu faz ile aynı miktarda amonyak çözeltisi (%10)'ne sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulandı. 366 nm'de floresansına bakıldı (Wagner ve ark., 1984).

### 2.3.11. Uçucu Yağ Teşhisi

Bitki örnekleri el ile ovuşturulup koklandı ve mikroskopta sartur reaktifi ile incelendi (Tanker ve ark., 1986).

### 2.3.12. Müsilaj Teşhisi

Toz haldeki bitkiler mikroskop altında çini mürekkebi ile incelendi (Sakar ve Tanker, 1991).

## 2.4. Ekstrelerin Hazırlanması

Kurutulmuş bitki kısımları toz edilerek 1:5 (katı:sıvı) oranında metanol ve aseton çözücüleri ile ultrasonik banyoda 15 dakika süre ile ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. İşlem üç kez yapılıp, fraksiyonlar birleştirildi. Çözücüler düşük vakum altında 50°C'de uçuruldu (Kıymacı vd., 2022; Tok ve Yayla, 2022).

## 2.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Analizleri

GC/MS sistemi Agilent 6890 kromatograf ve 5973 N kütle seçici detektörden oluşmaktadır. Uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin analizi için (5%-fenil)-

metilpolisiloksan (HP-5MS veya dengi) (30x0,25x0,25) kolon ile kullanılmıştır. Analizler için her bir ekstre türünden 1 µL örnek, 280˚C'ye ayarlanmış inlete enjekte edilecek ve fırın sıcaklığı 50°C'de 2 dakika bekletildikten sonra 280°C'ye dakikada 4°C olacak şekilde arttırılmış ve 280°C'de 10 dakika bekletilerek toplamda 70 dakikalık bir sürede analiz sonlandırılmıştır (Kıymacı vd., 2022; Tok ve Yayla, 2022).

Kütle seçici dedektör, m/z 30-400 aralığını tarayacak şekilde ayarlanacak, arayüz sıcaklığı 280°C, iyon kaynağı ve quadrupole sıcaklıkları sırasıyla 150 ve 230°C olacaktır. Uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin kolondaki tutulum indeksleri ve kütle spektrumları ticari spektrum bankası ile karşılaştırılarak bileşikler tespit edilecektir.

Analiz için belirlenen bu şartlar ekstre içeriklerine göre gerekli görüldüğü durumlarda optimize edilerek analize uygun hale getirilebilecektir.

Ekstrelerin doğrudan ve türevlenerek iki farklı şekilde analiz edilmesi planlanmaktadır. Türevleme işlemi BSTFA-%1TMCS ile gerçekleştirilecektir. Bu sayede aktif hidrojen atomu bulunan bileşikler daha iyi tespit edilebilir hale getirilecektir. Bu işlem için ekstreden alınacak 20 µL örnek öncelikle uçurulacak, ardından 10 µL piridin ve 10 µl BSTFA-%1TMCS eklenerek 70°C'de 30 dakika inkübe edilecektir.

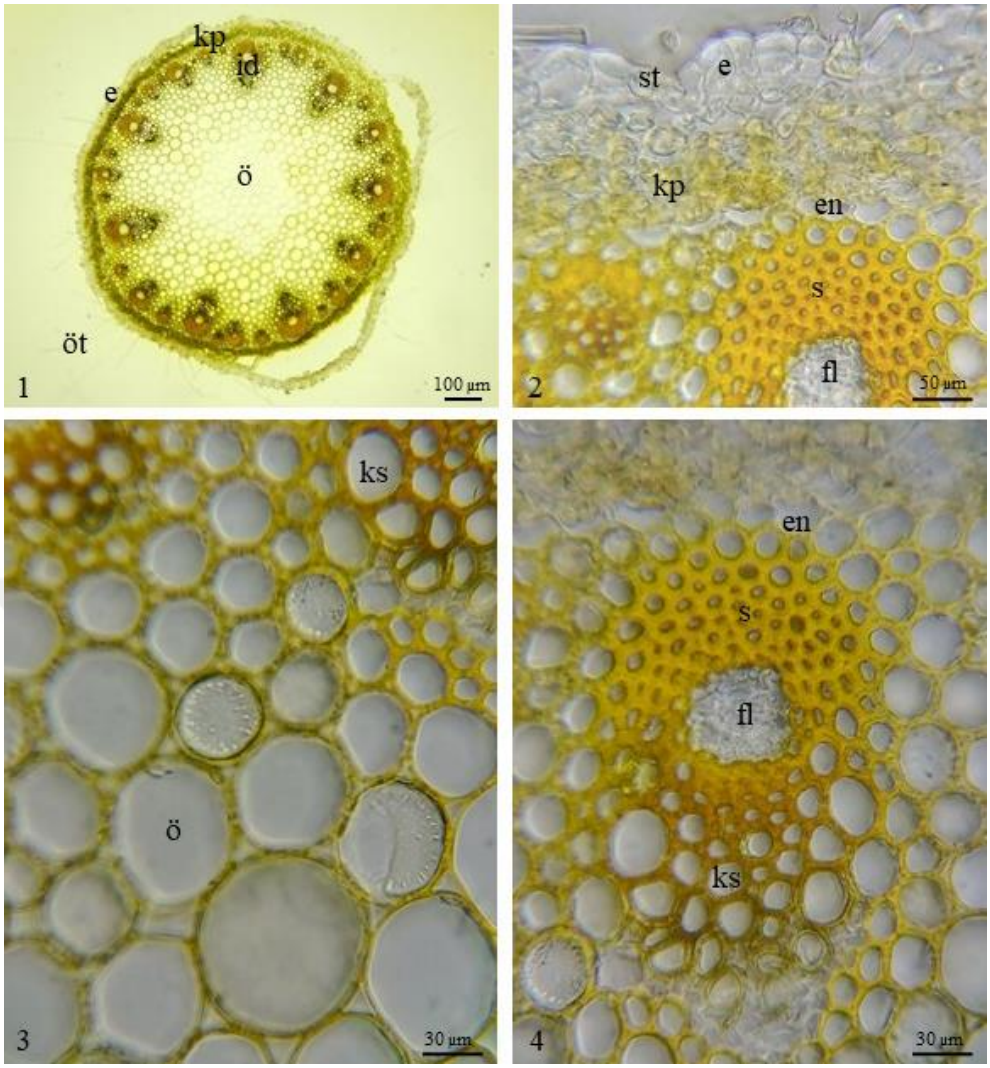
# 3. BULGULAR

## 3.1. Anatomik Bulgular

### 3.1.1. Gövde Anatomisi

#### 3.1.1.1. *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus* Gövde Anatomisi

Gövdenin enine kesiti disk görünümünde olup, tek sıralı hücrelerden oluşan bir epiderma tabakası ile kaplıdır. Epiderma tabakası ince bir kütikula ile kaplanmış olup, tek hücreli, basit ve oldukça uzun örtü tüyleri taşır. Epiderma tabakasında ayrıca stomalar da gözlenir. Epiderma hücreleri kare-dikdörtgen şekilli, ince çeperli, sadece dış yüzeye bakan çeperleri oldukça kalınlaşmıştır. Korteks parenkiması yoğun nişastalı, ince çeperli, 3-10 tabakalı, ince çeperli hücrelerden oluşmuştur. İletim demetleri (kollateral tip) bir daire şeklinde yerleşmiştir. Ksilem, floeme doğru iç bükey halini almıştır. Floem, perisiklik sklerenkima şapkası ile dışa doğru sınırlanmıştır. Öz bölgesi, ligninleşmiş çeperli, bazen çukurlu, yuvarlak, hücre içi boşukları geniş hücrelerden oluşmuştur (Şekil 3.1).




**Şekil 3.1.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* gövde enine kesiti. 1: gövde enine kesitinin genel görünüşü, 2-3-4: gövde enine kesitinin ayrıntılı görünüşü, e: epiderma, en: endodermis, fl: floem, ks: ksilem, id: iletim demeti, kp: korteks parenkiması, ö: öz hücresi, öt: örtü tüyü, s: sklerenkima, st: stoma

### 3.1.1.2. *Ranunculus arvensis* L. Gövde Anatomisi

Gövdenin enine kesiti basık ve içi boş bir görünüme sahiptir. Epiderma tabakası tek sıralı olup, basit, uzun, tek hücreli ve bazen silisleşme gösteren örtü tüyleri barındırır. Ayrıca ince bir kütikula ile kaplanmış olup, stoma taşır. Epiderma hücrelerinin dış kısma bakan çeperleri hafif kalınlaşma gösterir, diğer çeperler oldukça incedir. Hücreler kare-dikdörtgen şekle sahiptir. Korteks parankiması, yoğun nişasta içeren ince çeperli, oval, çoğunlukla ezilmiş, 3-5 sıralı hücrelerden oluşur. Bir daire şeklinde yerleşik olan iletim demetleri kollateral tiptedir. Ksilem, iç bükey şeklinde floeme doğru yönelmiştir. Perisiklik sklerenkima, floemi dış kısımdan bir şapka şeklinde sarmıştır. İletim demetlerinin gömülü olduğu öz bölgesi hücreleri ligninleşmiştir ve bu hücreler geniş hücre içi boşluklara sahip olup, belli belirsiz oval ya da çoğunlukla hafif ezik şekillidir. İletim demetlerinin sonlandığı noktadan itibaren gövde içi boşluk yer alır (Şekil 3.2).



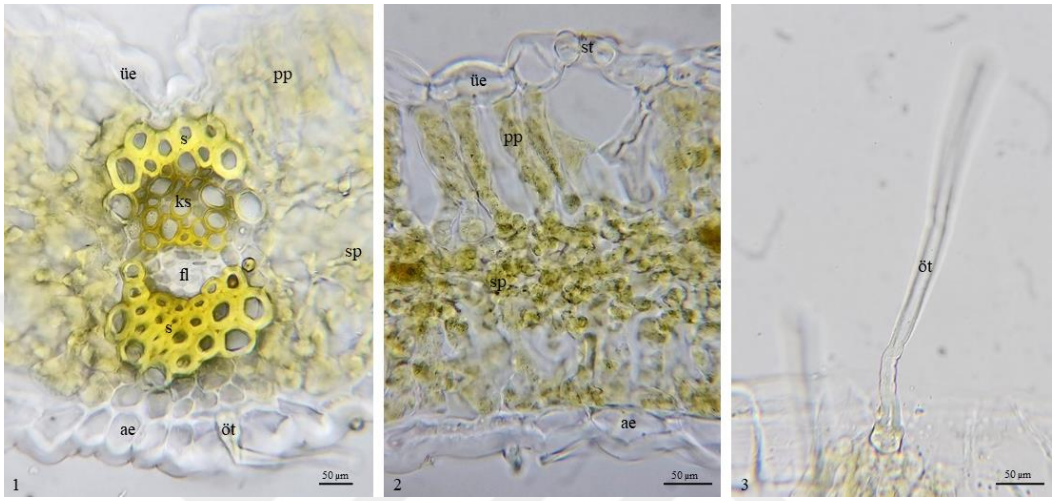

**Şekil 3.2.** *R. arvensis* gövde enine kesiti. 1: gövde enine kesitinin genel görünüşü, 2: gövde enine kesitinin ayrıntılı görünüşü, e: epiderma, fl: floem, ks: ksilem, id: iletim demeti, kp: korteks parenkiması, ö: öz hücresi, öt: örtü tüyü, s: sklerenkima

### 3.1.2. Yaprak Anatomisi

#### 3.1.2.1. *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus* Yaprak Anatomisi

Parçalı yapraktan alınan enine kesitler yaprağın bifasiyal olduğunu göstermiştir. Üst ve alt epiderma hücreleri benzer şekilli olup, hücreler kare-dikdörtgen, ince çeperli ve dış çeper kalınlaşması gösterirler. Her iki epiderma tabakası da stoma ve örtü tüylere sahiptir. Epiderma tabakasını yer yer ince bir kütikula örtmüştür. İletim demeti, orta damarda alt ve üst kısımdan sklerenkima ile korunmuştur. Yaprak laminasında

palizat parankiması hücreleri çoğunlukla 1 sıralı, bazen 2 sıralı olarak gözlenir. Sünger parankiması hücreleri küçük, oval, ince çeperli olup bazen alt epidermaya sınır olan hücrelerde kol oluşumuna rastlanır. Hem palizat hem de sünger parankiması hücreleri bol nişasta içerir (Şekil 3.3).




**Şekil 3.3.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* yaprak enine kesiti. 1: yaprak orta damarı, 2: yaprak laminası, 3: örtü tüyü, ae: alt epiderma, fl: floem, ks: ksilem, öt: örtü tüyü, pp: palizat parankiması, s: sklerenkima, sp: sünger parankiması, st: stoma, üe: üst epiderma

### 3.1.2.2. *Ranunculus arvensis* L. Yaprak Anatomisi

Parçalı yapraktan alınan enine kesitlerde yaprak anatomisi, yaprağın monofasiyal bir yaprak olduğunu göstermiştir. Üst epiderma hücreleri çoğunlukla dikdörtgen olup, orta damara yakın kısımlarda kare şeklini alır. Alt edpiderma hücreleri çoğunlukla kare şekillidir, bazen dikdörtgen görünümlüdür. Üst ve alt epiderma hem stoma hem de örtü tüyleri barındırır. Örtü tüyleri bazen silisleşmiş örtü tüyleri olarak ortaya çıkar. Kütikula üst epidermaya nazaran alt epidermada daha kalın ve dalgalanma gösterir. İletim demeti orta damarda sklerenkima şapkası bulundurmaz. Laminada mezofil oval, bazen yassılaşıp uzamış, küçük, ince çeperli ve bol nişastalı parankimatik hücrelerden oluşmuştur (Şekil 3.4).



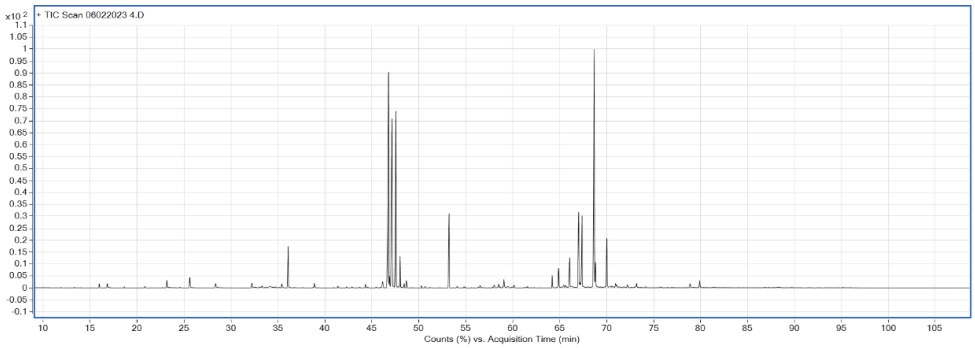

**Şekil 3.4.** *R. arvensis* yaprak enine kesiti. 1: orta damar ve lamina, 2: silisleşmiş örtü tüyü, ae: alt epiderma, fl: floem, ks: ksilem, öt: örtü tüyü, p: parankima, st: stoma, üe: üst epiderma

### 3.2. Ana Etken Madde Gruplarının Teşhis Reaksiyonlarının Bulguları

**Çizelge 3.1.** Ana etken madde gruplarının teşhis reaksiyonları sonuçları

| Kimyasal Grup | *R. illyricus* subsp. *illyricus* | *R. arvensis* |
|---|---|---|
| Alkaloit | + | + |
| Kardiyoaktif heterozit | - | - |
| Saponozit | - | - |
| Flavonozit | + | + |
| Antosiyanozit | + | + |
| Siyanogenetik heterozit | - | - |
| Tanen | - | + |
| Antrasenozit | - | - |
| Kumarin | - | - |
| Uçucu yağ | - | - |
| Müsilaj | - | - |

### 3.3. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Analizlerinin Bulguları



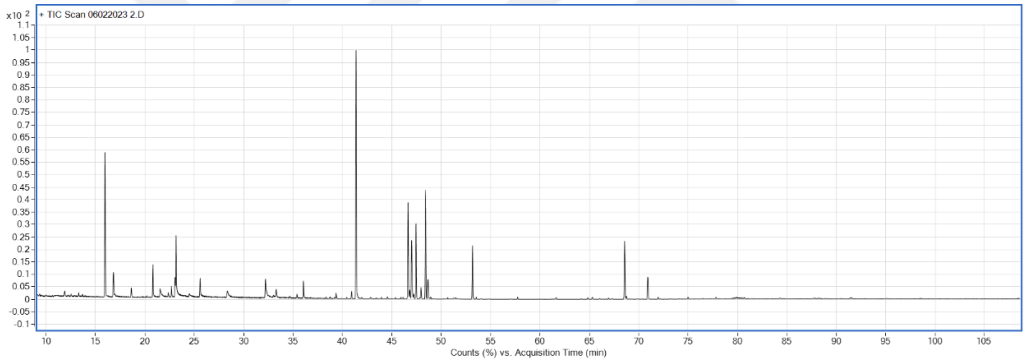

**Şekil 3.5.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* metanol ekstresi GC-MS kromatogramı

**Çizelge 3.2.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* metanol ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler

| Bileşik | İsim | RT | Olasılık | Alan | %Alan | Sınıf |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | Gliserol | 23,161 | 93,45 | 2871627 | 0,44 | Şeker Alkolü |
| **2** | Gliserik asit | 25,592 | 91,39 | 4222572 | 0,65 | Şeker Asidi |
| **3** | Heksanoik asit | 28,35 | 72,85 | 2390927 | 0,37 | Karboksilik Asit |
| **4** | Malik asit | 32,206 | 90,97 | 2251900 | 0,35 | Karboksilik Asit |
| **5** | D-2-Deoksiriboz | 34,125 | 68,82 | 1780750 | 0,27 | Şeker |
| **6** | L-Treonik asit | 35,399 | 93,2 | 1426656 | 0,22 | Şeker Asidi |
| **7** | Ksiloz | 36,078 | 75,29 | 16324400 | 2,50 | Şeker |
| **8** | Ribonik asit | 38,87 | 88,33 | 2044688 | 0,31 | Karboksilik Asit |
| **9** | Şikimik asit | 44,31 | 78,81 | 1648968 | 0,25 | Karboksilik Asit |
| **10** | Kininik asit | 46,137 | 74,09 | 3410664 | 0,52 | Karboksilik Asit |
| **11** | D-Fruktoz | 46,774 | 90,46 | 117539585 | 18,03 | Şeker |
| **12** | Ksilitol | 46,875 | 85,47 | 4094450 | 0,63 | Şeker Alkolü |
| **13** | D-(-)-Fruktoz | 47,135 | 88,49 | 85967868 | 13,19 | Şeker |
| **14** | D-(+)-Taloz | 47,554 | 88,47 | 73379729 | 11,25 | Şeker |
| **15** | D-Allose | 48,006 | 90,58 | 11368027 | 1,74 | Şeker |
| **16** | D-Sorbitol | 48,668 | 94,15 | 4819915 | 0,74 | Şeker Alkolü |
| **17** | Myo-İnositol | 53,22 | 93,23 | 30416155 | 4,67 | Şeker Alkolü |
| **18** | Bilinmeyen | 56,531 | 84,43 | 1299601 | 0,20 | Bilinmeyen |
| **19** | D-(-)-Lyxose | 58,509 | 54,73 | 1427703 | 0,22 | Şeker |
| **20** | Aflatoksin G2 | 59,062 | 57,23 | 4661397 | 0,71 | Mikotoksin |
| **21** | Gliseril-glikozit | 60,144 | 60,87 | 1289241 | 0,20 | Glukozilgliserol |
| **22** | Bilinmeyen | 64,209 | 58,97 | 5193512 | 0,80 | Bilinmeyen |
| **23** | Bilinmeyen | 64,88 | 62,74 | 8930289 | 1,37 | Bilinmeyen |
| **24** | Maltoz | 65,458 | 80,6 | 1970335 | 0,30 | Şeker |

**Çizelge 3.2. (Devam).** *R. illyricus* subsp. *illyricus* metanol ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler

| Bileşik | İsim | RT | Olasılık | Alan | %Alan | Sınıf |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **25** | Bilinmeyen | 65,634 | 79,3 | 1293371 | 0,20 | Bilinmeyen |
| **26** | Bilinmeyen | 66,07 | 85,14 | 13126247 | 2,01 | Bilinmeyen |
| **27** | Bilinmeyen | 67,026 | 79,06 | 37674414 | 5,78 | Bilinmeyen |
| **28** | D-(+)-Sellobiyoz | 67,168 | 80,21 | 2256970 | 0,35 | Şeker |
| **29** | Bilinmeyen | 67,386 | 80,08 | 32427034 | 4,97 | Bilinmeyen |
| **30** | Sükroz | 68,677 | 94,43 | 128381933 | 19,69 | Şeker |
| **31** | Maltoz | 68,811 | 74,49 | 11276980 | 1,73 | Şeker |
| **32** | Glukoz | 70,035 | 80,74 | 21669836 | 3,32 | Şeker |
| **33** | D-(+)-Trehaloz | 70,948 | 93,29 | 2100529 | 0,32 | Şeker |
| **34** | Bilinmeyen | 71,083 | 88,8 | 1445555 | 0,22 | Bilinmeyen |
| **35** | 2-alfa-Mannobiyoz | 72,223 | 90,75 | 1504973 | 0,23 | Şeker |
| **36** | 3-alfa-Mannobiyoz | 73,203 | 88,43 | 2678498 | 0,41 | Şeker |
| **37** | Klorojenik asit | 78,895 | 86,53 | 1778035 | 0,27 | Fenolik Asit |
| **38** | L-Ramnoz | 79,926 | 84,88 | 3645582 | 0,56 | Şeker |



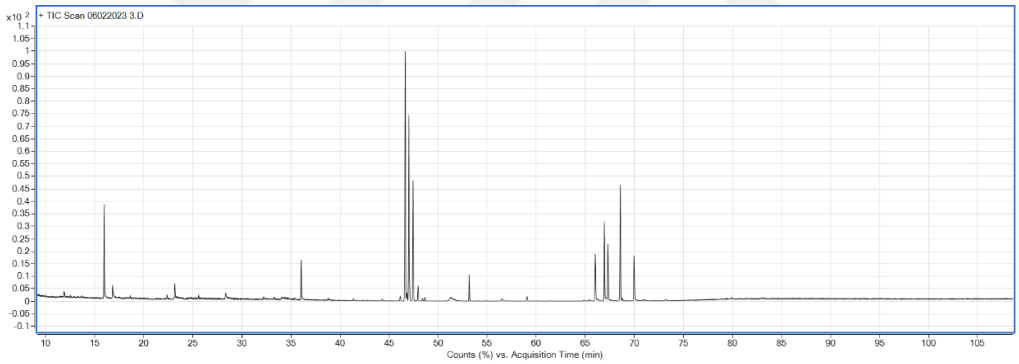

**Şekil 3.6.** *R. arvensis* metanol ekstresi GC-MS kromatogramı

**Çizelge 3.3.** *R. arvensis* metanol ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler

| Bileşik | İsim | RT | Olasılık | Alan | %Alan | Sınıf |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | Linalool | 20,806 | 78,83 | 746544 | 2,91 | Terpen Alkol |
| **2** | 1,4,7,-Sikloundekatrien, 1,5,9,9-tetrametil-, Z,Z,Z- | 21,535 | 68,09 | 342710 | 1,33 | Terpen Alkol |
| **3** | Etanolamin | 22,356 | 68,83 | 76960 | 0,30 | Amin |
| **4** | 2,2-Dimetilpropan-1,3-diol | 22,683 | 54,41 | 182804 | 0,71 | Diol |
| **5** | Fosfonik asit | 23,044 | 89,88 | 363254 | 1,41 | Asit |
| **6** | Gliserol | 23,144 | 83,72 | 1651540 | 6,43 | Şeker Alkolü |
| **7** | Gliserik asit | 25,592 | 86,35 | 476980 | 1,86 | Şeker Asidi |
| **8** | Malik asit | 32,214 | 79,77 | 895409 | 3,49 | Karboksilik Asit |
| **9** | Eritritol | 33,295 | 70,79 | 234260 | 0,91 | Şeker Alkolü |
| **10** | L-Treonik asit | 35,399 | 72,87 | 88789 | 0,35 | Şeker Asidi |

**Çizelge 3.3. (Devam).** *R. arvensis* metanol ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler

| Bileşik | İsim | RT | Olasılık | Alan | %Alan | Sınıf |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **11** | Ksiloz | 36,053 | 67,2 | 439169 | 1,71 | Şeker |
| **12** | D-riboz | 39,364 | 71,36 | 119644 | 0,47 | Şeker |
| **13** | Arabinitol | 40,931 | 83,16 | 163417 | 0,64 | Şeker Alkolü |
| **14** | Ksilitol | 41,384 | 95,01 | 6190446 | 24,11 | Şeker Alkolü |
| **15** | D-(-)-Fruktoz | 46,648 | 90,41 | 2259502 | 8,80 | Şeker |
| **16** | D-Threitol | 46,807 | 81,09 | 246660 | 0,96 | Şeker Alkolü |
| **17** | D-Psikoz | 47,008 | 86,04 | 1790596 | 6,97 | Şeker |
| **18** | Bilinmeyen | 47,218 | 76,76 | 131933 | 0,51 | Bilinmeyen |
| **19** | D-Glikoz | 47,461 | 88,97 | 1888180 | 7,35 | Şeker |
| **20** | Galaktoz | 47,956 | 84,33 | 255159 | 0,99 | Şeker |
| **21** | D-Sorbitol | 48,417 | 93,2 | 3378818 | 13,16 | Şeker Alkolü |
| **22** | Palmitik asit | 51,476 | 53,73 | 121606 | 0,47 | Yağ Asidi |
| **23** | Myo-İnositol | 53,178 | 90,99 | 1424103 | 5,55 | Şeker Alkolü |
| **24** | Sükroz | 68,584 | 93,64 | 1570356 | 6,12 | Şeker |
| **25** | D-(+)-Trehaloz | 70,931 | 88,87 | 641507 | 2,50 | Şeker |



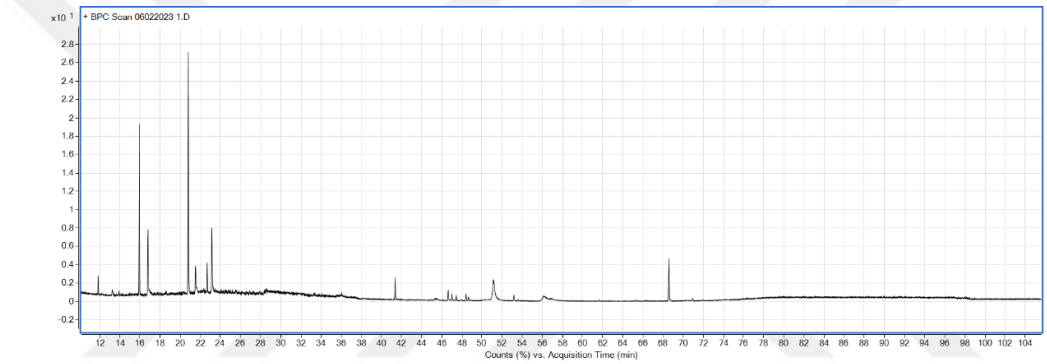

**Şekil 3.7.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* aseton ekstresi GC-MS kromatogramı

**Çizelge 3.4.** *R. illyricus* subsp. *illyricus* aseton ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler

| Bileşik | İsim | RT | Olasılık | Alan | % Alan | Sınıf |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | gliserol | 23,144 | 75,89 | 354398 | 1,76 | Şeker Alkolü |
| **2** | Ksiloz | 36,036 | 69,38 | 801591 | 3,98 | Şeker |
| **3** | D-(-)-Fruktoz | 46,64 | 91,05 | 5085078 | 25,27 | Şeker |
| **4** | D-Threitol | 46,824 | 78,25 | 156888 | 0,78 | Şeker Alkolü |
| **5** | D-Psikoza | 47,025 | 89,2 | 3690240 | 18,34 | Şeker |
| **6** | D-Glikoz | 47,445 | 89,82 | 1975091 | 9,82 | Şeker |
| **7** | Galaktoz | 47,964 | 80,19 | 267084 | 1,33 | Şeker |
| **8** | D-Sorbitol | 48,652 | 74,47 | 63521 | 0,32 | Şeker Alkolü |

**Çizelge 3.4. (Devam).** *R. illyricus* subsp. *illyricus* aseton ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler

| Bileşik | İsim | RT | Olasılık | Alan | % Alan | Sınıf |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **9** | Palmitik asit | 51,326 | 64,99 | 172603 | 0,86 | Yağ Asidi |
| **10** | Myo-İnositol | 53,186 | 86,34 | 483915 | 2,41 | Şeker Alkolü |
| **11** | Bilinmeyen | 56,539 | 67,21 | 79040 | 0,39 | Bilinmeyen |
| **12** | Bilinmeyen | 66,028 | 84,13 | 935741 | 4,65 | Bilinmeyen |
| **13** | Bilinmeyen | 66,95 | 79,8 | 1524278 | 7,58 | Bilinmeyen |
| **14** | Bilinmeyen | 67,319 | 79,39 | 1052489 | 5,23 | Bilinmeyen |
| **15** | Sükroz | 68,593 | 93,87 | 2373035 | 11,79 | Şeker |
| **16** | Bilinmeyen | 68,811 | 61,89 | 50932 | 0,25 | Bilinmeyen |
| **17** | Bilinmeyen | 69,984 | 81,59 | 997424 | 4,96 | Bilinmeyen |
| **18** | L-Ramnoz | 79,917 | 55,09 | 57239 | 0,28 | Şeker |




**Şekil 3.8.** *R. arvensis* aseton ekstresi GC-MS kromatogramı

**Çizelge 3.5.** *R. arvensis* aseton ekstresinde GC-MS ile tanımlanan maddeler

| Bileşik | İsim | RT | Olasılık | Alan | % Alan | Sınıf |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | Linalool | 20,806 | 81,68 | 1521369 | 22,72571 | Terpen Alkol |
| **2** | 1,4,7,-Sikloundekatrien, 1,5,9,9-tetrametil-, Z,Z,Z- | 21,527 | 72,82 | 815197 | 12,17715 | Bilinmeyen |
| **3** | Geraniol | 22,667 | 56,18 | 480846 | 7,18272 | Şeker Alkolü |
| **4** | gliserol | 23,144 | 87,89 | 930968 | 13,9065 | Şeker Alkolü |
| **5** | Ksilitol | 41,367 | 88,42 | 397736 | 5,94125 | Şeker Alkolü |
| **6** | D-Fruktoz | 46,64 | 87,01 | 155628 | 2,32472 | Şeker |
| **7** | Palmitik asit | 51,108 | 74,96 | 885294 | 13,22423 | Yağ Asidi |
| **8** | linoelaidik asit | 56,162 | 56,09 | 693391 | 10,35765 | Yağ Asidi |
| **9** | Sükroz | 68,585 | 89,37 | 543862 | 8,124033 | Şeker |
| **10** | Maltoz | 91,485 | 55,31 | 270192 | 4,03604 | Şeker |

# 4. TARTIŞMA

Türkiye'nin Avrupa ve Asya'nın kavşağında olması, yüksek dağ zirvelerinden kıyı ovalarına, Akdeniz tipi iklimlerden karasal bozkır iklimlerine kadar çok çeşitli habitatların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu habitatlar, ülkede kaydedilen 11.000'den fazla bitki türü ile zengin ve çeşitli bir floranın oluşmasına neden olmuştur. Türkiye'nin zengin florası, çeşitli coğrafyası, jeolojisi ve iklim faktörleri arasındaki etkileşimin bir sonucudur ve bu da onu koruma ve daha fazla araştırma için kilit bir alan haline getirmektedir. Halk hekimliği ve şifalı bitkiler Türkiye'de uzun bir geçmişe sahiptir ve birçok geleneksel uygulama bugün hala kullanılmaktadır. Araştırmalar, halk hekimliğinde kullanılan bitki türlerinin çeşitliliğini ve bunların bir dizi hastalık için geleneksel kullanımlarını belgelemiştir. Geleneksel olarak kullanılan tıbbi bitkiler, çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için binlerce yıldır doğal bir yol olarak kullanılmaktadır. Ancak, bir şeyin doğal olması her zaman güvenli olduğu anlamına gelmez. Pek çok bitki güvenli kabul edilirken, bazıları özellikle yüksek dozlarda alındığında veya diğer ilaçlarla etkileşime girdiğinde zararlı olabilir. Geleneksel olarak kullanılan tıbbi bitkilerin kullanımında en önemli risklerden biri toksik bileşiklerin varlığıdır. Herhangi bir potansiyel zararı önlemek için zehirli bitkilerin nasıl tespit edilip teşhis edileceğini bilmek önemlidir. Zehirli bitkileri tespit ve teşhis etmek için farklı yöntemler uygulanabilir. Fitokimyasal analiz, zehirli bitkileri saptamanın ve teşhis etmenin bir yöntemidir. Bu yöntem, toksik maddelerin varlığını ve konsantrasyonunu belirlemek için bitki dokularının kimyasal analizini içerir. Bu yöntem özellikle bitkide herhangi bir ayırt edici özelliğin olmadığı ve sadece görsel inceleme ile bitkiyi tanımlamanın mümkün olmadığı durumlarda faydalıdır. Bitkinin dokularının anatomik yapısı zehirli bir bitkiyi teşhis ve tayin etmede yararlı bilgiler verebilir.

Düğün çiçeği ailesi olarak da bilinen Ranunculaceae Juss. familyası, toksik alkaloitler üretmesi nedeniyle adli kimya ve adli toksikolojide büyük önem taşımaktadır. Bu alkaloitler oldukça zehirlidir ve yutulmaları halinde insanlara ve hayvanlara ciddi zararlar verebilir ve hatta ölümlere neden olabilir. Bu çalışmada

*Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus* ve *Ranunculus arvensis* L.'in anatomik yapılarının aydınlatılması ve kimyasal içeriğinin aydınlatılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda bitkilerin anatomik yapıları ışık mikroskopu ile incelenmiş ayrıca metanol ve aseton ekstrelerinin kimyasal içeriği aydınlatılmıştır.

*R. illyricus* subsp. *illyricus*'un gövde enine kesiti disk şeklinde olup, epidermada stoma ve örtü tüyleri yer almaktadır. Korteks parankiması bol nişasta içerir. İletim demetleri perisiklik sklerenkimatik bir şapka ile korunmaktadır. Öz hücreleri geniş hücre içi boşluklara sahiptir. *R. arvensis*'in gövdesi yanlardan basık olup orta kısmı boş olarak gözlenir. Epiderma stoma ve örtü tüyleri taşır. İletim demetleri, perisiklik sklerenkima şapkası ile örtülüdür. İletim demetlerinin bittiği yerde gövdenin içi boş olarak gözlenir. *R. illyricus* subsp. *illyricus*'un yaprak enine kesitinde yaprak bifasiyaldir ve palizat parankiması çoğunlukla 1 sıralı, nadiren 2 sıralıdır. Orta damar kısmında iletim demeti hem dış yüzey hem de iç yüzeyden sıklerenkima ile sarılıdır. *R. arvensis*'in yaprağı monofasiyal olup, mezofilde palizat ve sünger parankiması gözlenmemiştir. Her iki yaprağın epiderması hem alt hem de üst yüzeyde stoma ve örtü tüyleri taşımaktadır.

*R. illyricus* subsp. *illyricus*'un metanol ekstresinin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile analizinde şeker alkolü (%6,47), şeker asidi (%0,87), karboksilik asit (%1,80), şeker (%74,12), glukozilgliserol (%0,20), fenolik asit (%0,27), aseton ekstresinin analizinde ise şeker alkolü (%5,26), şeker (%70,82) ve yağ asidi (%0,86) tespit edilmiştir. *R. arvensis*'in metanol ekstrelerinin GC-MS ile analizinde terpen alkol (%2,91), amin (%0,30), diyol (%0,71), asit (%1,41), şeker alkolü (%51,75), şeker asidi (%2,20), karboksilik asit (%3,49), şeker (%34,91), yağ asidi (%0,47), aseton ekstresinin analizinde ise terpen alkol (%22,73), şeker alkolü (%27,03), şeker (%14,48) ve yağ asidi (%23,58) tespit edilmiştir.

# 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Halk hekimliği ve şifalı bitkiler Türkiye'de uzun bir geçmişe sahiptir ve birçok geleneksel uygulama bugün hala kullanılmaktadır. Araştırmalar, halk hekimliğinde kullanılan bitki türlerinin çeşitliliğini ve bunların bir dizi hastalık için geleneksel kullanımlarını belgelemiştir. Geleneksel olarak kullanılan tıbbi bitkiler, çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için binlerce yıldır doğal bir yol olarak kullanılmaktadır. Ancak, bir şeyin doğal olması her zaman güvenli olduğu anlamına gelmez. Pek çok bitki güvenli kabul edilirken, bazıları özellikle yüksek dozlarda alındığında veya diğer ilaçlarla etkileşime girdiğinde zararlı olabilir. Geleneksel olarak kullanılan tıbbi bitkilerin kullanımında en önemli risklerden biri toksik bileşiklerin varlığıdır.

Ranunculaceae familyası, toksik alkaloitler üretmesi nedeniyle adli kimya ve adli toksikolojide büyük önem taşımaktadır. Bu alkaloitler oldukça zehirlidir ve yutulmaları halinde insanlara ve hayvanlara ciddi zararlar verebilir ve hatta ölümlere neden olabilir. Bu çalışmada *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus* ve *Ranunculus arvensis* L.'in anatomik yapıları aydınlatılmış ve kimyasal içeriğinin analizi yapılmıştır. Zehirli bitkilerin teşhisi ve tayinin hızlı ve güvenli olarak yapılabilmesi zehirlenme vakalarında büyük önem arz etmektedir. Bitkinin dokularının anatomik yapısı zehirli bir bitkiyi teşhis ve tayin etmede yararlı bilgiler verebilir. Ekstrelerin kimyasal içeriğinin analizi ile seçilen iki bitkinin kimyasal yapıları aydınlatılmış. Bu analizler bitkilerin teşhisinde ve tayininde önemli yararlar sağlayacaktır.

# ÖZET


***Ranunculus* L. Cinsine Ait Toksik Bazı Bitkilerin GC-MS İle Analizi**

Düğün çiçeği ailesi olarak da bilinen Ranunculaceae Juss. familyası, toksik alkaloitler üretmesi nedeniyle adli kimya ve adli toksikolojide büyük önem taşımaktadır. Bu alkaloitler oldukça zehirlidir ve yutulmaları halinde insanlara ve hayvanlara ciddi zararlar verebilir ve hatta ölümlere neden olabilir. Bu çalışmada *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus* ve *Ranunculus arvensis* L.'in anatomik yapılarının ve kimyasal içeriğinin aydınlatılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda bitkilerin anatomik yapıları ışık mikroskopu ile incelenmiş ayrıca metanol ve aseton ekstrelerinin kimyasal içeriği aydınlatılmıştır.

Anatomik çalışmalar için bitkiler %70'lik etil alkolde korunmuştur. Bitki kısımlarından hazırlanan anatomik preparatlar Sartur reaktifi ile hazırlanmış ve ışık mikroskopu ile incelenmiştir. Bitkilerin hangi ana etken madde gruplarını içerdiği, bitkilerin kurutulmuş çiçekli herbalarının bir öğütücüde toz hale getirildikten sonra kalitatif olarak incelenmesi ile tespit edilmiştir. Agilent 6890 kromatograf ve 5973 N kütle seçici detektörden oluşan GC/MS sistemi, uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin analizi için (5%-fenil)-metilpolisiloksan (HP-5ms veya dengi) (30x0.25x0.25) kolon ile kullanılmıştır.

*R. illyricus* subsp. *illyricus*'un gövde enine kesiti disk şeklinde olup, epidermada stoma ve örtü tüyleri yer almaktadır. *R. arvensis*'in gövdesi yanlardan basık olup orta kısmı boş olarak gözlenir. Epiderma stoma ve örtü tüyleri taşır. *R. illyricus* subsp. *illyricus*'un yaprak enine kesitinde yaprak bifasiyaldir ve palizat parankiması çoğunlukla 1 sıralı, nadiren 2 sıralıdır. *R. arvensis*'in yaprağı monofasiyal olup, mezofilde palizat ve sünger parankiması gözlenmemiştir. Her iki yaprağın epiderması hem alt hem de üst yüzeyde stoma ve örtü tüyleri taşımaktadır. *R. illyricus* subsp. *illyricus*'un metanol ekstresinin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile analizinde 38, aseton ekstresinde ise 25 madde tespit edilmiştir. *R. arvensis*'in metanol ekstresinde 18, aseton ekstresinde ise 10 madde tespit edilmiştir.

Bitkinin dokularının anatomik yapısı zehirli bir bitkiyi teşhis ve tayin etmede yararlı bilgiler verebilir. Ekstrelerin kimyasal içeriğinin analizi ile seçilen iki bitkinin kimyasal yapıları da aydınlatılmış. Bu analizler zehirlenme vakalarında zehirli bitkilerin teşhisinde ve tayininde önemli yararlar sağlayacaktır.



**Anahtar sözcükler:** Adli Kimya ve Adli Toksikoloji, Bitki anatomisi, Farmasötik Botanik, GC-MS, Ranunculaceae, *Ranunculus*

# SUMMARY

**Analysis of Some Toxic Plants of *Ranunculus* L. Genus by GC-MS**

Ranunculaceae Juss., also known as Buttercups family. The Family is of great importance in forensic chemistry and forensic toxicology because it produces toxic alkaloids. These alkaloids are highly toxic and can cause serious harm and even death to humans and animals if ingested. In this study, *Ranunculus illyricus* L. subsp. *illyricus* and *Ranunculus arvensis* L. are aimed to elucidate the anatomical structures and chemical content. For this purpose, the anatomical structures of the plants were examined with a light microscope, and the chemical content of methanol and acetone extracts was clarified.

Plants were preserved in 70% ethanol for anatomical studies. Anatomical sections of plant parts were prepared with Sartur reagent and examined with a light microscope. The main active substance groups of the plants were determined by qualitative examination of the dried flowering herbs of the plants after they were pulverized in a grinder. GC/MS system consisting of Agilent 6890 chromatograph and 5973 N mass selective detector, (5%-phenyl)-methylpolysiloxane (HP-5ms or equivalent) for the analysis of volatile and semi-volatile compounds (30x0.25x 0.25) was used with the colon.

*R. illyricus* subsp. *illyricus* has a disc-shaped stem cross-section with stomata and cover hairs in the epidermis.The stem of *R. arvensis* is flattened from the sides and the middle part is observed to be hallow. The epidermis bears stomata and covering hairs. The leaf of *R. illyricus* subsp. *illyricus* is bifacial in the cross section and the palisade parenchyma is mostly 1-, rarely 2-rowed. The leaf of *R. arvensis* is monofacial, the palisade and sponge parenchyma are not observed in the mesophyll. The epidermis of both leaves bears stomata and cover hairs on both the upper and lower surfaces. In the study of Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) analysis of *R. illyricus* subsp. *illyricus* methanol extracts were detected 38 substances , while 25 substances were detected in the acetone extract. 18 substances were detected in the methanol extract and 10 substances in the acetone extract of *R. arvensis*.

The anatomical structure of the plant's tissues can provide useful information in diagnosing and identifying a poisonous plant. The chemical structures of the two selected plants were also elucidated by the analysis of the chemical content of the extracts. These analyzes will provide important benefits in the diagnosis and determination of poisonous plants in cases of poisoning.

**Keywords:** Forensic Chemistry and Forensic Toxicology, GC-MS, Pharmaceutical Botany, Plant anatomy, Ranunculaceae, *Ranunculus*

# KAYNAKLAR


AKHGARI M, BAHMANABADI L, IRAVANI FSS, JOKAR F (2021). Forensic laboratory validation of immunochromatography and gas chromatography/mass spectrometry methods for the detection of methamphetamine and amphetamine in postmortem urine specimens. *Toxicol Anal Clin* **33(2):** 109-115.

AKKOL EK, SÜNTAR I, ERDOĞAN TF, KELEŞ H, GONENC TM, KIVÇAK B. (2012). Wound healing and anti-inflammatory properties of *Ranunculus pedatus* and *Ranunculus constantinapolitanus*: a comparative study. *J Ethnopharmacol* **139(2):** 478-484.

AYDIN Z, ÇAKIROĞLU Ö. (2016). Geology and Soil Types of Turkey. In Soil Science: Agricultural and Environmental Prospectives (pp. 27-39). Springer, Cham.

BOZKURT AEE. (2021). Folk Medicinal Plants Used for Treatment of Gynecological Disorders by Rural Population of Zorlu village (in Turkey). *Ethnobot Res Appl* **22**: 1-17.

CAKILCIOGLU U, KHATUN S, TURKOGLU I, HAYTA, S. (2011). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig-Turkey). *J Ethnopharmacol* **137(1):** 469-486.

ÇELEBİOĞLU S, BAYTOP T (1949). Bitkisel tozların tetkiki için yeni bir reaktif. *Farmakolog* **19:** 301.

ÇUBUKÇU B (1992). Analitik Farmakognozi (Bitkisel Drogların Kalitatif Fitokimyasal Analizleri). II. Baskı, İ. Ü. Basımevi ve Film merkezi, İstanbul, Üniversite yayın no: 3710, Fakülte yayın no: 62, Cilt I.

DARA L, HEWETT J, LIM JK. (2008). Hydroxycut hepatotoxicity: a case series and review of liver toxicity from herbal weight loss supplements. *World J Gastroenterol* **14(45):** 6999.

DAVIS PH. (1965). The Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 1. Edinburgh University Press.

DAVIS PH, MILL RR, TAN K. (1994). The Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 6. Edinburgh University Press.

DEBELLE FD, VANHERWEGHEM JL. (2008). Nephrotoxicity of herbal remedies: lessons from aristolochia. *Nephrol Dial Transplant* **23(4):** 960-963.

DEGHIMA A, RIGHI N, ROSALES-CONRADO N, LEÓN-GONZÁLEZ ME, BAALI F, GÓMEZ-MEJÍA E, BEDJOU F. (2021). Anti-inflammatory activity of ethyl acetate and *n*-butanol extracts from *Ranunculus macrophyllus* Desf. and their phenolic profile. *J Ethnopharmacol* **265:** 113347.

DEGHIMA A, RIGHI N, ROSALES-CONRADO N, LEÓN-GONZÁLEZ ME, GÓMEZ-MEJÍA E, MADRID Y, BEDJOU F. (2020). Bioactive polyphenols from *Ranunculus macrophyllus* Desf. Roots: Quantification, identification and antioxidant activity. *S Afr J Bot* **132:** 204-214.

ERNST E. (2002). Adulteration of Chinese herbal medicines with synthetic drugs: a systematic review. *J Intern Med* **252(2):** 107-113.

FUJITA T, SEZIK E, TABATA M, YEŞILADA E, HONDA G, TAKEDA Y, TAKAISHI Y. (1995). Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and west Black Sea regions. *Econ Bot* **49(4):** 406-422.

GARDINER P, PHILLIPS RS, SHAUGHNESSY AF. (2006). Herbal and dietary supplement-drug interactions in patients with chronic illnesses. *Am Fam Physician* **73(10):** 1679-1686.

GÜNER A, ASLAN S, EKİM T, VURAL M, BABAÇ MT (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyigit Botanik Bahçesi Yayınları, Flora Dizisi I.

GÜNER A, ÖZHATAY N, EKIM T, BAŞER KHC. (2012). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press.

GÜNEŞ F, ÖZHATAY N. (2011). An ethnobotanical study from Kars Eastern Turkey. *Biodicon* **4(1):** 30-41.

GÜRHAN G., NURTEN E. (2004). Halk arasında hemoroit tedavisinde kullanılan bitkiler-I. *Hujpharm* **1:** 37-60.

HUSSAIN I, ULLAH R, KHURRAM M, ULLAH N, BASEER A, KHAN FA, KHAN N. (2011). Phytochemical analysis of selected medicinal plants. *AJB* **10(38):** 7487-7492.

HUSSAIN J, HUSSAIN H, KHAN SHINWARI Z, AHMAD I, TASLEEM HUSSAIN S, UDDIN AHMAD V. (2009). Antibacterial activity of the chemical constituents from *Ranunculus laetus*. *Chem Nat Compd* **45:** 720-721.

HÜRKUL MM. (2021). Leaf, stem and root anatomy of *Consolida thirkeana* (Boiss.) Bornm. (Ranunculaceae). *J Res Pharm* **25(4):** 415-419.

HÜRKUL MM, YAYLA Ş. (2021). Leaf anatomy of *Quercus macranthera* subsp. *syspirensis* (K. Koch) Menitsky. *Biodicon* **14(3):** 405-410.

HÜRKUL MM, YAYLA Ş (2023). The anatomical features of *Cirsium caucasicum* (Adams) Petr.(Asteraceae): root, stem, leaf and phyllary. *J Res Pharm* **27(1):** 23-29.

KAVAL I, BEHÇET L, CAKILCIOGLU U. (2014). Ethnobotanical study on medicinal plants in Geçitli and its surrounding (Hakkari-Turkey). *J Ethnopharmacol* **155(1):** 171-184.

KIYMACI ME, TOK, KC, HÜRKUL, MM (2022). A study on phytochemical analysis and antibacterial activity of *Quercus macranthera* subsp. *syspirensis* (K. Koch) Menitsky branch and leaf extracts. *J Fac Pharm Ankara* **46(1):** 160-169.

LI X, GU L, YANG L, ZHANG D, SHEN J. (2017). Aconitine: a potential novel treatment for systemic lupus erythematosus. *J Pharmacol Sci* **133(3):** 115-121.

LINGJIE W, XIAO-ZHONG GAO. (2009). Shengzhou stab the chemical composition of the fruit buttercup. *JMAP* **6:** 460-462.

MAHARJAN S, PARAJULI SR, DHUNGANA D. (2022). Aconite Poisoning: A Case Report. *AJHS* **2(2):** 43-46.

MARES D. (1987). Antimicrobial activity of protoanemonin, a lactone from ranunculaceous plants. *Mycopathologia* **98(3):** 133-140.

MARKHAM KR, MITCHELL KA, CAMPOS M. (1997). An unusually lipophilic flavonol glycoside from *Ranunculus sardous* pollen. *Phytochemistry* **45(1):** 203-204.

NOOR W, GUL R, ALI I, CHOUDHARY MI. (2006). Isolation and antibacterial activity of the compounds from *Ranunculus repens* L. *J Chem Soc Pak* **28(3):** 271.

ÖZÇELIK H, POLAT R, ÇAKILCIOĞLU U. (2015). An ethnobotanical survey of medicinal plants in the southeastern region of Turkey. *Turk J Biol* **39(4):** 532-554.

ÖZHATAY N, BYFIELD A, ATAY S, RUTHERFORD S. (2011). The Red Data Book of Turkish Plants. Ankara: Ministry of Environment and Forestry, General Directorate of Nature Protection and National Parks.

PAN YX, ZHOU CX, ZHANG SL, ZHENG XX, ZHAO Y. (2004). Constituents from *Ranunculus sieboldii* Miq. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences* **13:** 92-96.

POLAT R, SATIL F. (2012). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balıkesir-Turkey). *J Ethnopharmacol* **139(2):** 626-641.

POWO (2023). Plants of the World Online. Erişim adresi: [http://www.plantsoftheworldonline.org]. Erişim Tarihi: 20/05/2023

PPNC (2023). Poisonous Plants of North Carolina. Erişim adresi: [https://plants.ces.ncsu.edu/plants/category/poisonous-plants]. Erişim Tarihi: 20/05/2023

PRIETO JM, RECIO MC, GINER RM, MÁÑEZ S, RÍOS JL. (2003). Pharmacological approach to the pro-and anti-inflammatory effects of *Ranunculus sceleratus* L. *J Ethnopharmacol* **89(1):** 131-137.

SAKAR MK, TANKER M (1991). Fitokimyasal Analizler (tanım, miktar tayini ve izolasyon). Ankara üniversitesi eczacılık fakültesi yayınları, Yayın No. 67, Ankara, 29-31.

SEZIK E, YEŞILADA E, HONDA G, TAKAISHI Y, TAKEDA Y, TANAKA T. (2001). Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in central Anatolia. *J Ethnopharmacol* **75(2-3):** 95-115.

SHARMA KK, KOTOKY J, KALITA JC, BARTHAKUR R. (2012). Evaluation of antidermatophytic activity of *Ranunculus sceleratus* and *Pongamia pinnata* available in North Eastern Region of India. *Asian Pac J Trop Biomed* **2(2):** S808-S811.

STICKEL F, SEITZ HK. (2000). The efficacy and safety of comfrey. *Public Health Nutr* **3(4A):** 501-508.

TESCHKE R, WOLFF A. (2011). Focused review: hepatoxicity of hydroxycut products and dietary supplements. *Aliment Pharmacol Ther* **33(6):** 784-787.

TANKER M, ŞARER E, ATASU E, YENEN M, ÖZKAL N, KURUCU S (1986). Farmakognozi Uygulama Örnekleri. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.

TIAN JK, SUN F, CHENG YY. (2005). Two new glycosides from the roots of *Ranunculus ternatus*. *Chin Chem Lett* **16(7):** 928-930.

TIAN JK, SUN F, CHENG YY. (2006). Chemical constituents from the roots of *Ranunculus ternatus*. *J Asian Nat Prod Res* **8(1-2):** 35-39.

TOK KC, YAYLA Ş (2022). Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) analysis of *Consolida thirkeana* extract. *J Fac Pharm Ankara* **46(2):** 444-449.

UCANR (2021). University of California Agriculture and Natural Resources. Toxic Plants. Retrieved from https://ucanr.edu/sites/poisonous_safe_plants

UGURLU E, SECMEN O. (2008). Medicinal plants popularly used in the villages of Yunt Mountain (Manisa-Turkey). *Fitoterapia* **79(2):** 126-131.

ULUSOY S, BOZAN B, ARSLAN G. (2018). An ethnobotanical survey of medicinal plants in the Bingöl Province (Turkey). *Turk J Biol* **42(1):** 47-65.

UNIYAL SK, SINGH KN, JAMWAL P, LAL B. (2006). Traditional use of medicinal plants among the tribal communities of Chhota Bhangal, Western Himalaya. *J Ethnobiol Ethnomed* **2:** 1-8.

WAGNER H, BLADT S, ZGAINSK I (1984). Plant drug analysis. Springer-Verlag, Berlin. 145-146.

WAGNER H, RÜGER R, MAURER G, FARKAS L. (1977). Synthese der 8-, 4′-und 7-Monomethylether von Gossypetin (3, 3′, 4′, 5, 7, 8-Hexahydroxyflavon) und Konstitutionsbeweis für Ranupenin aus *Ranunculus repens* L. *Chem Ber* **110(2):** 737-743.

YEŞİL Y, İNAL İ. (2019). Traditional knowledge of wild edible plants in Hasankeyf (Batman Province, Turkey). *Acta Soc Bot Pol* **88(3):** 3633.

YEŞİLADA E, HONDA G, SEZİK E, TABATA M, FUJITA T, TANAKA T, TAKAISHI Y. (1995). Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *J Ethnopharmacol* **46(3):** 133-152.

YILMAZ ÖY, GÜLERYÜZ G, ULUSAN MD. (2017). An ethnobotanical study of medicinal plants used by local people of Giresun (Turkey). *J Herb Med* **10**, 1-8.

ZOU YP, TAN CH, WANG BD, JIANG SH, ZHU DY. (2007). Flavonoid Glycosides from *Ranunculus chinensis* Bge. *Helv Chim Acta* **90(10):** 1940-1945.