



Phytochemical analysis and biological effects of *Turgenia latifolia* (L.) Hoffm. (Apiaceae)

Gökalp İŞCAN¹, Bilge Nur MUTLU^{2*} Seda HACIOĞLU², Arzu İŞCAN³, Yavuz Bülent KÖSE⁴,
Mine KÜRKCÜOĞLU¹
ORCID: 0000-0003-1210-0490; 0009-0005-1725-3826; 0000-0003-2357-9038; 0000-0003-2366-2114;
0000-0002-3060-7271; 0000-0002-9375

¹Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 26470 Eskişehir, Türkiye
²Anadolu Üniversitesi, Lisanüstü Eğitim Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, 26470 Eskişehir, Türkiye
³Anadolu Üniversitesi, Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi, 26470 Eskişehir, Türkiye
⁴Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, 26470 Eskişehir, Türkiye

Abstract

Turgenia latifolia (L.) Hoffm. (Apiaceae) is an annual, herbaceous weed that naturally growing in Türkiye. It is known as “karaheci, pıtrak, broad-leaved pıtrak, pıtrak thistle, water pıtrak” in local population. Knowing that there are few studies on this plant and its usage in folk medicine is quite limited.

In the present study crude extracts were prepared from the fruits, roots and the aerial parts of the plant collected from its natural habitat. The volatile components was obtained by microdistillation method and its full composition was determined by gas chromatography (GC-FID) and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) simultaneously. Overall 57, 52 and 42 different components were characterized, representing 96.3%, 99.7% and 99.3% of the oils of aerial parts, fruits and roots respectively. Methanol extracts prepared from fruit, roots and aerial parts showed DPPH• scavenging activity in the range of 22.54%-41.3% at the doses studied and had shown at 0.016 mg/ml concentration 7.34%, 21% and 67% respectively ABTS^{•+} scavenging effects. It was determined that at a dose of 20 µg/mL, the fruit inhibited 5-lipoxygenase enzyme by 2.8% and the root by 3.4%. According to antimicrobial test results, it was shown that the root extract inhibited *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* at a dose of 500 µg/mL, and the extract of aerial parts extract inhibited *C. tropicalis*, *C. albicans* and *S. typhimurium* at a dose range of 250-500 µg/mL. The mode of action of the aerial parts extract on candida species was demonstrated by transmission electron microscopy analysis.

Keywords: *Turgenia latifolia*, antimicrobial, antioxidant, phytochemical profile, gas chromatography, TEM

----- * -----

Turgenia latifolia (L.) Hoffm.’nın (Apiaceae) fitokimyasal analizi ve biyolojik etkileri

Özet

Turgenia latifolia (L.) Hoffm. (Apiaceae) tek yıllık, otsu formda yabancı bir bitki olup Türkiye’de doğal olarak yayılış göstermektedir. Halk arasında “karaheci, pıtrak, geniş yapraklı pıtrak, pıtrak dikenli, su pıtrağı” isimleriyle bilinir. Bu çalışmada, halk arasında oldukça sınırlı kullanımı olan ve hakkında neredeyse hiç araştırma olmayan bu bitki, doğal olarak yetiştiği bölgeden toplanarak toprak üstü, meyve ve kök kısımlarından total ekstratlar hazırlanmıştır. Bitkinin uçucu bileşenleri mikrodistilasyon yöntemi ile elde edilerek, kompozisyonu gaz kromatografisi (GK-AID) ve gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GK/KS) kullanılarak belirlenmiştir. Toprak üstü, meyve ve kök yağlarının sırasıyla %96,3, %99,7 ve %99,3’ünü temsil eden 57, 52 ve 42 farklı bileşen tespit edilmiştir. Meyve kök ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstratlarının çalışılan dozlarda %22,54-%41,3 aralığında DPPH• süpürücü aktivite gösterdikleri, 0.016 mg/ml konsantrasyonda ise sırasıyla %7,34, %21 ve %67 ABTS^{•+} süpürücü etkisinin olduğu

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905414713417; Fax.: +905414713417; E-mail: bilgmutlu99@gmail.com

gösterilmiştir. 20 µg/mL dozda meyvenin %2,8, kökün %3,4 oranında 5-lipooksijenaz enzim inhibisyonu yaptığı belirlenmiştir.

Yapılan antikandidal ve antibakteriyal aktivite testlerinde kök ekstresinin *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhimurium*'u 500 µg/mL dozda, toprak üstü ekstresinin *C. tropicalis* *C. albicans* ve *S. typhimurium*'u 250-500 µg/mL doz aralığında inhibe ettiği gösterilmiştir ve toprak üstü ekstresinin kandida türleri üzerindeki etkisinin mekanizması geçirimli elektron mikroskobu ile ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: *Turgenia latifolia*, antimikrobiyal, antioksidan, fitokimyasal profil, gaz kromatografisi, TEM

1. Giriş

Apiaceae (Umbelliferae) familyası tüm dünyada geniş yayılış gösteren yaklaşık 434 cins ve 3780 türe sahip oldukça büyük bitki çeşitliliği ile tıbbi ve ekonomik açıdan önemli bir familyadır [1-6]. Dünyanın çeşitli bölgelerinde ve farklı iklimlerde, özellikle kuzeyde ılıman ve rakımın yüksek olduğu bölgelerde yayılış gösterir [5]. Türkiye'de Apiaceae familyasının 130'u endemik olmak üzere 450 türü kapsayan 109 cinsi bulunmaktadır. Tür sayısı bakımından dünyada ikinci sırada yer alan bu familya ülkemizde, 101 cins ve 485 tür ile temsil edilmektedir. Bu türlerden 188'i endemiktir [4, 7, 8]. Apiaceae familyasındaki bitkiler, taşıdıkları uçucu yağ, reçine, zamk ve müsilajdan dolayı, kendilerine özgü bir koku ve tada sahiptirler. Bu bileşikler bitkinin özellikle meyve, yaprak sapı, gövde, yaprak ve köklerinde bulunan salgı kanallarında yer almaktadır. Familyaya ait bitkilerin bünyesinde barındırdığı fenolik bileşenler, terpenler, karotenoidler, vitaminler ve alkaloidler kayda değer biyolojik aktiviteler göstermektedir [9]. Familya, dünyada ekonomik önemi bulunan birçok sebze ve baharatı bünyesinde barındırmaktadır. Etnobotanik çalışmalar dünyada çeşitli kısımlarının çok farklı amaçlarla kullandığını göstermektedir. Yiyecek ve içecek kaynağı olarak kullanımlarının yanı sıra, tat ve aroma verici, hayvan yemi, süs bitkisi ayrıca tıbbi ve kozmetik amaçlar ile kullanılırlar. Familyaya ait bitkiler antiviral, antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuar, anti-anksiyete, anti-mutajenik, antidiyabetik, antikanser, gastroprotektif, hepatoprotektif ve hafıza koruyucu etkiler göstermektedir [4]. Bu farmakolojik aktiviteler büyük ölçüde polisakkaritler, alkaloidler, terpenler, fenilpropanoidler, kumarinler, flavonoidler ve polien alkinler gibi moleküller ile ilişkilidir [8].

Turgenia latifolia (L.) Hoffmann (Apiaceae) tek yıllık otsu bir bitkidir. Hakkında yapılan çalışmaların oldukça sınırlı olduğu bu tür, ülkemizde istilacı bir tür olarak kabul edilmekte ve ekonomik değeri bulunmamaktadır [11]. *Turgenia latifolia* halk arasında "Karaheci, Pıtrak, Pıtrak dikenli, Su pıtrağı" gibi isimlerle bilinmektedir. Petalleri beyaz, pembemsi veya morumsudur. Meyve dikenlidir. Meyve dikenleri yükselici veya yüzeye diktir. Gövde dik, dallanmış, kısa sert tüylü, 8-60 cm boyunda, yapraklar; pinnat, oblong veya lanseolat ve dişlidir [10,11]. Nisan, mayıs ve haziran aylarında çiçek açar. Geçirgen ve nemli toprağı, güneşli ya da yarı gölgeli bölgeleri tercih eder. Yol kenarı, tarla ve çayırlarda, ekilmemiş ve kültüre alınmış yerlerde, deniz seviyesinden 3000 m'ye kadar olan yüksekliklerde yetişir. Killi kalkerli ve verimli toprakları tercih etmekte ve böyle toprakların indikatörü olma özelliğini taşımaktadır. Ülkemizde neredeyse tüm Anadolu'da yayılış göstermektedir [12].

Literatürde *T. latifolia*'nın halk arasındaki kullanımı ile ilgili yalnızca 2 kayda rastlanmıştır. Anadolu'da yaprak infüzyonu romatizma için kullanılmış olup, İran'da halk arasında Darehjouyi ismiyle, toprak üstü kısımlarının infüzyon şeklinde idrar yolu hastalıklarına karşı kullanıldığı kayıtlıdır [13].

Bu çalışmada *T. latifolia*, Eskişehir ilinde doğal olarak yetiştiği bölgeden toplanarak uygun şekilde kurutulmuş, toprak üstü, meyve ve kök kısımları ayrılarak metanolik total ekstreleri hazırlanmıştır. Uçucu yağ mikrodistilasyon yöntemi ile elde edilerek uçucu bileşenleri ve rölatif miktarları gaz kromatografisi-alev iyonlaşma dedektörü sistemi (GK-AID) ve gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GK/KS) sistemleri eş zamanlı olarak kullanılarak belirlenmiştir. Bitkinin kök, toprak üstü kısımları ve meyvelerinden elde edilen ekstrenin total fenolik madde miktarları, antioksidan aktiviteleri (DPPH• ve ABTS•+), lipooksijenaz (LOX) inhibitor aktiviteleri çalışılmıştır. Antimikrobiyal aktivite testleri yapılarak antikandidal etkinin mekanizması taramalı Elektron Mikroskobu (TEM) analizi ile aydınlatılmıştır.

2. Materyal ve yöntem

2.1.Bitkisel materyal

Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan alınan araştırma izni ile Eskişehir; Alpu-Mihalıççık yolu (Temmuz 2021) üzerinden toplanan bitkisel materyal, teşhis edilmiş bir herbaryum örneği (Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, ESSE No: 15814) ayrılması suretiyle, uygun koşullarda kurutulmuş ve meyve, kök ve toprak üstü kısımları ayrılarak 3 kısım halinde kullanılmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Bitkinin kurutulmuş kısımları

2.2. Uçucu yağ ve ekstrelerin elde edilmesi

2.2.1. Uçucu bileşenlerin mikrodistilasyon yöntemi ile elde edilmesi

Clevenger aparatı ile uçucu yağ eldesi, toprak üstü ve toprak altı kısımlarındaki uçucu yağ miktarlarının çok az olması nedeniyle yapılamamış, bunun yerine uçucu bileşenlerin eldesi mikrodistilasyon cihazı (Eppendorf MicroDistiller®) ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kurutulmuş toprak üstü, meyve ve kök kısımları kaba toz haline getirilerek 1'er gram tartılmıştır. 10 ml su eklenerek numune şişesine aktarılmıştır. Toplama şişesine, NaCl (2.5 g), distile su (0.5 ml) ve *n*-Hekzan (300 µL) ilave edilmiştir. Numune şişeleri, dakikada 20°C artışla ortam sıcaklığından 108°C'ye getirilmiş ve bu sıcaklıkta 90 dakika tutulmuş sonrasında dakikada 20°C artışla 112°C'ye getirilerek bu sıcaklıkta 30 dakika tutulmuştur. Son olarak numuneler aynı koşullar altında 6 dakika daha bekletilmiştir. Toplama şişeleri, distilasyon süresince -1°C'de tutulmuştur. Distilasyon tamamlandıktan sonra, toplama şişesindeki organik faz analiz için kullanılmıştır [14].

2.2.2. Ekstraksiyon

Bitkinin toprak üstü, meyve ve kök kısımlarından metanol (Sigma-Aldrich) ekstreleri hazırlanmıştır (verim; %2, %3, %4 sırasıyla). Rotary evaporatör ile ekstre kuruluğa kadar uçurulmuş ve biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere +4°C'de muhafaza edilmiştir.

2.3. Gaz Kromatografisi (GK) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GK/KS) Analizi

Agilent 5975 GC-MSD sistemine bağlı, HP-Innowax Silika kapiler (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 mm film kalınlığı) kolon kullanılmıştır. Enjektör sıcaklığı 250°C'dir. Uygulanan sıcaklık programı, 60°C de 10 dak // 4°C/dak artışla 220°C ye // 220°C de 10 dak // 1°C/dak artışla 240°C'dir. Taşıyıcı gaz olarak Helyum (0.8 ml/dak) kullanılmış, kütle aralığı, *m/z* 35-450'dir. Split oranı 40:1, Elektron enerjisi, 70 eV'dir. Bileşiklerin belirlenmesinde, BAŞER Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi, Wiley ve Adams-LIBR (TP) Kütüphane tarama yazılımları kullanılmıştır GK analiz koşulları; eş zamanlı olarak GK/MS sistemindeki madde çıkış zamanları ile aynı olacak şekilde ayarlanmıştır (FID 300°C) [15-17].

2.4. Antioksidan Aktivite

Bitkisel materyalden elde edilen ekstrelerin antioksidan etkileri toplam fenol miktar tayini, DPPH radikali süpürücü aktivite ve ABTS radikali katyon süpürme aktivitesi yöntemleri ile ortaya konulmuştur.

2.4.1. Toplam fenolik madde miktar tayini

Ekstrelerdeki toplam fenol miktarı gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak hesaplanmıştır. 1.2 ml distile suya 20 µl ekstre ilave edilmiştir. 1-8 dakika ultrasonik banyoda üzeri kapatılarak bekletilmiştir. 100 µl Folin-Ciocalteu ve 300 µl Na₂CO₃ (%20) eklenmiş distile su ile 2 ml hacime tamamlanmıştır. Plate 2 saat 25 °C'de karanlıkta inkübe edildikten sonra absorbans 760 nm'de ölçülmüş ve gallik asit kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılarak toplam fenolik madde miktarı gallik asite eş değeri olarak hesaplanmıştır [18].

2.4.2. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürücü Aktivite

DPPH• süpürücü aktivitesinde, ekstrelerin belirlenen konsantrasyonları hazırlanmıştır. 100 µL 80 µg/mL konsantrasyonda DPPH• çözeltilisi ilave edilip oda sıcaklığında ve karanlıkta 60 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon

süresi sonunda 517 nm’de UV Spektrofotometresinde absorbans değerleri ölçülmüştür. Askorbik asit (Vit C) ve gallik asit pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. DPPH• süpürme kapasitesi formülünden yararlanılarak hesaplanmış ve (%) cinsinden verilmiştir. DPPH• süpürme aktivitesini yarıya düşüren numune miktarı (EC₅₀) µg/mL cinsinden belirlenmiştir [19, 20].

$$\% \text{ inhibisyon} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{ekstre}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

A_{kontrol}; Kontrol absorbansı, A_{ekstre}; farklı derişimlerdeki *T. latifolia* meyve, kök, toprak üstü kısımlarının ekstreleri ile pozitif kontrollerin absorbansı

2.4.3. ABTS [2,2’-azino-bis (3-ethylbenzotiazoline-6-sülfonik asit)] Radikal Katyon Süpürme Aktivitesi (TEAC)

Bu yöntem, antioksidan etkili Trolox (Vitamin E’nin suda çözünen analogu) ile örneklerin stabil ABTS•+ süpürücü aktivitelerini karşılaştırma esasına dayanmaktadır. Konsantr haldeki ABTS çözeltisi, 734 nm’deki absorbans değeri 0.7-0.8 olacak şekilde etanol ile seyreltilmiştir. 10 µL ekstre (0.6, 0.3 ve 0,1 mg/mL konsantrasyonlarda), 990 µL ABTS çözeltisine ilave edilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda 300 µL alınarak düz taban mikrotitrasyon petrisine aktarılmıştır ve 734 nm’de UV Spektrofotometresinde absorbans değerleri ölçülmüştür. Trolox’un 0,125-3 mM aralığında çözeltilerine kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve ekstrelerin ABTS•+ süpürücü etkileri Trolox’a eş değer olarak hesaplanmıştır [20, 21].

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

A_{kontrol}: Kontrol absorbansı A_{ekstre}: Farklı derişimlerdeki *T. latifolia* meyve, kök, toprak üstü kısımlarının ekstreleri ile pozitif kontrollerin absorbansı

2.5. 5- Lipooksijenaz enzim inhibisyonu

Lipooksijenaz enzim aktivitesi inhibisyon düzeylerinin belirlenmesi 96 kuyucuklu kuartz plakada spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. 1,94 mL potasyum fosfat tamponu (100 mM; pH: 8.80), 40 µL değişik konsantrasyonlardaki ekstreler ve 20 µL lipooksijenaz enzimi karıştırılarak 25 °C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. Bu karışımın 300 µL’si her kuyucuğa eklenmiştir. Ardından 7.5 µL substrat (linoleik asit) ilave edilerek 30 sn çalkalanmıştır. 10 dakikadaki absorbans değişimi 243 nm’de ölçülmüştür. Denemeler 4 tekrarlı ve 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir [22].

Nordihidroguairatik asit (NDGA) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = (E - S) / E \times 100$$

E: ekstrenin eklenmediği enzim absorbansı S: ekstrenin eklendiği enzim absorbansı

2.6. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

2.6.1. Antikandidal aktivite

Testlerde *C. albicans*’ın iki suşu (ATCC-10231, ATCC 90028), *C. utilis* (NRRL Y-900), *Candida tropicalis* (ATCC 750) ve *C. parapsilosis* (NRRL Y- 12696) kullanılmıştır.

Toprak üstü, meyve ve kök kısımlarından hazırlanan ekstreler steril DMSO’da çözülerek çalışmada kullanılmıştır. Bir gün önceden Patates Dekstroz Agar (PDA) plaklarında canlandırılan *Candida* kültürlerinden saf koloni seçilerek steril salin solüsyonu (%0,85) içinde konsantrasyonu McFarland No:0.5 bulanıklık standardına göre 10⁶ KOB/mL olacak şekilde bulanıklık ölçer (BIOSAN) kullanılarak ayarlanmıştır. Ekstreler 96 kuyucuklu mikrotitrasyon petrisinde RPMI besiyerinde dilüe edilerek, kuyucuklardaki son hücre konsantrasyonu 2.5 x 10³ KOB/mL olacak şekilde inkübasyona bırakılmıştır. 37°C de 24 saat inkübasyon sonunda minimum inhibitor konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir. Ketokonazol standart antifungal ajan olarak kullanılmıştır [23].

2.6.2. Antibakteriyel aktivite

Escherichia coli NRRL B-3008, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Serratia marcescens* NRRL B-2544, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1222 kullanılmıştır. Toprak üstü, meyve ve kök kısımlarından hazırlanan ekstreler steril DMSO’da çözülerek testlerde kullanılmıştır. Mueller Hinton Agar (MHA) plaklarında aktiflenen bakteri kültürleri McFarland No:0.5 bulanıklık standardına göre 10⁶ KOB/mL olacak şekilde bulanıklık ölçer (BIOSAN) kullanılarak ayarlanmıştır. Ekstreler 96 kuyucuklu mikrotitrasyon petrisinde MHB besiyerinde dilüe edilerek, kuyucuklardaki hücre konsantrasyonu 1.5x10³ KOB/mL olacak şekilde inkübasyona bırakılmıştır. 37°C de 24 saat inkübasyon sonunda minimum inhibitor konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir. Kloramfenikol standart antibakteriyel ajan olarak kullanılmıştır [24].

2.7. Antikandidal etki mekanizmasının belirlenmesi

Toprak üstü ekstresinin kandida hücreleri üzerindeki etki mekanizması, transmisyon elektron mikroskobu ile görüntülenmiştir. *C. albicans* ATCC® 90028 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968'e ait deney plakalarında MİK kuyucuğu ile ½ ve ¼ MİK dozlarındaki kuyucuk içeriği eppendorf tüplerine pipetlenerek aseptik koşullar altında 5 dakika 1200 rpm'de santrifüjleme ile besiyerinden hücrelerin ayrılması sağlanmıştır. Pelet 0.1 M fosfat tamponunda (pH 7.4) %2,5 glutaraldehit ile fikse edilmiştir. Fiksasyon sonrası hücreler sodyum fosfatla yıkanarak 2 saat 4°C'de %2 OsO₄ (EMS, Hatfield, ABD) ile yeniden fikse edilmiş ve sırasıyla %70, 90, 96 ve 99 etanolde dehidre edilmiştir. Daha sonra EPON 812 epoksi içine gömülen hücrelerden maksimum 100 nm kalınlığa kadar ince kesitleri alınmıştır. Kesitler kurşun sitrat ve uranil asetat (EMS, Hatfield, ABD) boya ile boyanmıştır. Candida hücrelerinin yapı ve morfolojisinin analizi için Hitachi HT7800 marka transmisyon (geçirimli) elektron mikroskobu (ESOGÜ, Arum, Eskişehir) sistemi kullanılmıştır [25, 26].

3. Bulgular

3.1. Uçucu Bileşenler

Turgenia latifolia'nın mikrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu bileşenlerinin kompozisyonu Tablo 1'de sunulmuştur. Meyvelerden elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri), *epi-α*-Bisabolol (%20,4), 1-oktil asetat (%14,9), germakren D-4-ol (%6,7), *α*-pinen (%6,3), T-kadinol (%5,7), *δ*-kadinen (%4,2), *α*-kadinol (%3,7) germakren D-4-ol (%3,4) olarak belirlenmiştir. Kökten elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri, heksadekanoik asit (%11), oktanal (%10,4), nonanal (%7,5), *α*-pinen (%4,1), heptanal (%4,1), amilfuran (%3,6), terpinen-4-ol (%3,4), *β*-Pinen (%3,2); toprak üstü kısmından elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri ise *α*-pinen (%61), spatulenol (%6,6), *trans*-pinokarveol (%4,9) ve kamfen (%3,8) olarak saptanmıştır.

Tablo 1. *T. latifolia*'nın uçucu bileşenleri (%)

RRI	Bileşikler	Meyve	Kök	Toprak üstü	TM
1032	<i>α</i> -Pinen	6.3	4.1	61.0	tr, MS
1076	Kamfen	1.3	0.5	3.8	tr, MS
1093	Hekzanal	0.6	1.5	-	tr, MS
1118	<i>β</i> -Pinen	0.2	3.2	1.9	tr, MS
1132	Sabinen	tr	0.7	0.1	tr, MS
1138	Tuya-2,4 (10)-dien	-	-	0.6	MS
1174	Mirsen	0.6	-	1.3	tr, MS
176	<i>α</i> -Fellandren	0.3	-	-	tr, MS
1194	Heptanal	0.2	4.1	-	MS
1203	Limonen	0.5	0.7	1.8	tr, MS
1213	<i>β</i> - Fellandren	2.1	-	tr	tr, MS
1225	(Z)-3- Hekzanal	-	-	tr	tr, MS
1244	Amilfuran	0.2	3.6	tr	MS
1255	<i>γ</i> -Terpinen	0.1	1.6	tr	tr, MS
1266	(E)- <i>β</i> -Osimen	0.1	-	tr	tr, MS
1280	<i>p</i> -Simen	0.2	1.5	0.5	tr, MS
1290	Terpinolen	tr	-	tr	tr, MS
1296	Oktanal	0.3	10.4	tr	tr, MS
1300	Tridekan	tr	-	-	tr, MS
1345	3-Oktil asetat	tr	-	-	tr, MS
1385	Heptil asetat	0.1	-	-	MS
1386	Oktenil asetat	0.2	-	-	MS
1398	2-Nonanon	-	1.0	-	MS
1399	Nonanal	0.2	7.5	tr	MS
1400	Tetradekan	0.1	-	0.2	tr, MS
1429	Perillen	-	-	0.1	MS
1439	<i>γ</i> -Kamfolen aldehit	-	-	0.1	MS
1441	(E)-2-Oktenal	-	0.6	-	MS
1466	<i>α</i> -Kubeben	0.3	-	0.2	MS

1482	Longipinen	0.6	-	-	MS
1483	1-Oktil asetat	14.9	-	-	t _R , MS
1495	Bisikloelemen	0.7	-	0.1	MS
1497	α -Kopaen	-	-	0.2	MS
1499	Kamfolenal (= α -Kamfolen aldehyt)	-	-	1.2	MS
1500	Pentadekan	-	-	0.3	t _R , MS
1516	(Z)-4-Oktenil asetat	2.1	-	-	MS
1532	Kafur	2.1	-	-	t _R , MS
1535	β -Burbonen	-	-	0.2	t _R , MS
1536	Pinokamfon	-	-	0.3	MS
1541	Benzaldehit	-	2.7	tr	MS
1544	Dihidroakillen	-	-	0.2	MS
1548	(E)-2-Nonenal	2.0	4.9	-	MS
1550	β -Kubeben	0.9	-	0.3	MS
1553	Linalol	-	0.6	-	t _R , MS
1565	Linalil asetat	-	tr	-	t _R , MS
1571	<i>Trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	-	tr	-	MS
1585	Pinokarvon	-	-	0.5	MS
1590	Bornil asetat	-	1.2	0.2	t _R , MS
1600	β -Elemen	1.2	-	-	MS
1600	Hekzadekan	-	1.7	0.2	t _R , MS
1611	Terpinen-4-ol	-	3.4	0.2	t _R , MS
1628	Aromadendren	-	-	0.2	MS
1648	Mirtenal	-	-	0.8	MS
1651	γ -Elemen	1.4	-	-	MS
1655	(E)-2-Dekenal	-	2.5	-	MS
1664	<i>trans</i> -Pinokarveol	-	-	4.9	t _R , MS
1683	<i>trans</i> -Verbenol	-	-	1.7	MS
1687	α -Humulen	1.1	-	-	t _R , MS
1704	γ -Murolen	0.7	-	0.4	MS
1706	α -Terpineol	-	1.4	-	t _R , MS
1725	Verbenon	-	-	0.9	t _R , MS
1726	Germakren D	2.1	-	-	MS
1737	β -Bisabolen	0.8	-	-	t _R , MS
1740	α -Murolen	1.4	-	-	MS
1747	<i>p</i> -Menta-1,5-dien-8-ol	-	-	0.3	MS
1751	Bisiklogermakren	2.8	-	0.1	MS
1757	Karvon	-	0.5	0.3	t _R , MS
1772	δ -Kadinen	4.2	-	0.3	t _R , MS
1776	γ -Kadinen	1.8	-	0.1	MS
1786	(E)- α -Bisabolen	0.4	-	-	MS
1800	Oktadekan	0.4	1.9	0.3	t _R , MS
1802	Mirtenol	-	-	0.1	MS
1811	α -Kadinen	0.3	-	-	MS
1827	(E,E)-2,4-Dekadienal	-	0.3	-	MS
1845	<i>trans</i> -Karveol	-	-	0.1	t _R , MS
1853	Germakren B	0.8	-	-	MS
1878	2,5-Dimetoksi- <i>p</i> -simen	-	0.4	-	MS
1882	1-Izobütil 4-izopropil-2,2-dimetil suksinat	-	0.4	0.1	MS
1900	Nonadekan	-	0.4	-	t _R , MS
1904	Epi-kubebol	-	-	0.2	MS
1941	α -Kalakoren I	-	-	0.2	MS
1957	(E)- β -Iyonon	-	-	0.5	MS
2000	Eikosan	-	2.0	0.3	t _R , MS
2008	Karyofilen oksit	-	-	1.0	t _R , MS
2037	Salvial-4(14)-en-1-on	-	-	0.3	MS
2053	γ -Nonalakton	-	0.6	-	t _R , MS

2068	(E)-Sinamaldehyt	-	1.7	-	MS
2069	Germakren D-4 β -ol	6.7	-	-	MS
2071	Humulen epoksit-II	-	-	0.4	MS
2080	1, 10-diepi- Kubenol	0.7	-	-	MS
2084	Oktanoik asid	-	1.8	-	MS
2144	Spatulenol	1.4	0.7	6.6	t _R , MS
2174	Nonanoik asit	-	2.0	-	MS
2191	T-Kadinol	5.7	-	-	MS
2200	Dokosan	-	2.5	-	t _R , MS
2205	Germakren D-4 α -ol	3.4	-	-	MS
2209	T-Murolol	1.1	-	-	MS
2250	1-Metiletil heksadekanoat (=Izopropil palmitat)	-	1.4	-	t _R , MS
2255	epi- α -Bisabolol	20.4	-	-	t _R , MS
2256	α -Kadinol	3.7	-	-	t _R , MS
2400	Tetrakosan	-	2.2	-	t _R , MS
2500	Pentakosan	-	1.9	-	MS
2700	Heptakosan	-	-	0.7	MS
2800	Oktakosan	-	1.8	-	MS
2931	Heksadekanoik asit (= Palmitik asit)	-	11.0	-	MS
	<i>Monoterpen hidrokarbon</i>	11.7	12.3	71.2	
	<i>Oksijenli monoterpen</i>	2.1	5.9	11.5	
	<i>Seskitерpen hidrokarbon</i>	21.5	-	2.3	
	<i>Oksijenli seskitерpen</i>	43.1	0.7	8.5	
	<i>Diğer</i>	21.3	74.0	2.8	
	Tanımlanan bileşik	52	42	57	
	Toplam %	99.7	92.9	96.3	

TM:Tanımlama metodu, tr: ≤ 0.1, MS: Kütle spektrumu, t_R: Alıkonma zamanı, Tespit edilmedi, RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır; %: FID verilerine göre hesaplanmıştır; e: Eser (≤ 0.1)

3.2. Antioksidan aktivite sonuçları

3.2.1. Toplam fenolik madde miktarı

Meyve, kök, toprak üstü ekstralarının gallik asit eş değerliğine göre total fenolik madde miktarları Tablo 2’de gösterilmiştir. 0,1 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış ekstralarda, meyvenin %13,5, kökün %7 ve toprak üstü kısmının %14 oranında fenolik madde içerdiği gösterilmiştir.

3.2.2. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürücü Aktivite

Meyve, kök, toprak üstü ekstralarının gallik asit ve askorbik asit standartları kullanılarak % giderimleri Tablo 3’te gösterilmiştir. Standart gallik asit ve askorbik aside göre oldukça yetersiz etkiler ortaya koymakla birlikte, meyveden hazırlanan metanol ekstresinin 0,4 mg/ml konsantrasyonda %39,07, kökün metanol ekstresinden 0,5 mg/ml konsantrasyonda %22,54 ve toprak üstü kısmının 0,2 mg/ml konsantrasyonda %41,3 DPPH radikali süpürücü etki gösterdikleri saptanmıştır.

Tablo 2. *T. latifolia* ekstralarının DPPH radikali süpürücü etkileri

Numune	mg/mL	% DPPH•	± std
Meyve	0,4	39,07	0,82
Kök	0,5	22,54	1,96
Toprak üstü	0,2	41,3	3,37
Gallik asit	0,002	67,12	1,30
Askorbik asit	0,008	66,46	1,78

3.2.3. *ABTS [2,2'-azino-bis (3-ethylbenzotiazoline-6-sülfonik asit)] Radikal Katyon Süpürme Aktivitesi (TEAC)*

Meyve, kök, toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstralarının troloks eşdeğerliğine göre % renk giderimleri Tablo 3'te gösterilmiştir. Meyveden hazırlanan metanol ekstresinin 0,016 mg/ml konsantrasyonda %7,34, kökün metanol ekstresinden 0,16 mg/ml konsantrasyonda %21 ve toprak üstü kısmının 0,016 mg/ml konsantrasyonda %67 ABTS^{•+} süpürücü etki gösterdikleri saptanmıştır.

Tablo 3. *T. latifolia* ekstralarının troloks eşdeğerliğine göre ABTS radikal süpürücü etkileri

Numune	% ABTS İnhb.	±std	mM
Meyve	67	0,03	1,73
Kök	21	0,06	0,54
Toprak üstü	7,34	0,03	0,19
Gallik asit	58,1	0,01	1,5

3.3.5- *Lipooksijenaz enzim inhibisyonu*

Meyve, kök, toprak üstü ekstralarının nordihidroguaiaretik (NDGA) asit eşdeğerliğine göre % inhibisyon değerleri Tablo 5'te gösterilmiştir. *In vitro* 5-lipooksijenaz inhibisyon testi sonuçlarına göre çalışılan konsantrasyonlarda meyvenin (%2,8± 4,27) ve kökün (%3,4±0,69) inhibisyon yaptığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, numunelerin hiçbirinin standart olarak kullanılan NDGA kadar etkili olmadığı görülmektedir.

Tablo 4. *T. latifolia* ekstralarının NDGA eşdeğerliğine göre lipooksijenaz inhibe edici etkileri

Numune	% inhibisyon	± std
Meyve 20 µg/mL)	2,8	4,27
Kök (20 µg/mL)	3,4	0,69
Toprak üstü (20 µg/mL)	-	-
NDGA (10 µg/mL)	80,3	2,33
NDGA EC ₅₀	4,81	1,87

-: Etki yok

3.3. *Antimikrobiyal aktivite testleri*3.3.1. *Antikandidal aktivite bulguları*

Antikandidal aktivite sonuçları Tablo 5. de gösterilmiştir. *C. tropicalis* ATCC 750, toprak üstü ekstresi tarafından 250 µg/mL dozda, *C. albicans* ATCC 90028 ise 500 µg/mL dozda inhibe olmuştur. Bu dozların alt ve üst kuyucuklarından alınan örnekler TEM analizi için toplanmıştır. Bitkinin 3 farklı kısmına ait ekstralar kıyaslandığında toprak üstü ekstresinin aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir.

Tablo 5. Antikandidal etki sonuçları

(MİK, µg/mL)	ME	KE	TÜE	Ketokonazol
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>1000	>1000	>1000	0,125
<i>C utilis</i> NRRL Y-900	250	500	250	0,06
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	500	500	500	0,06
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	500	>1000	250	0,125
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	>1000	>1000	>1000	0,03

ME: Meyve ekstresi; KE: Kök ekstresi; TÜE: Toprak üstü (Yaprak, çiçek ve dal) ekstresi

3.3.2. *Antibakteriyel aktivite bulguları*

Yapılan antibakteriyel aktivite sonuçları Tablo 3. de gösterilmiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 kök ekstresi tarafından 500 µg/mL dozda inhibe edilmiştir. *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 toprak üstü ekstresi tarafından 500 µg/mL dozda inhibe edilmiştir. Bitkinin 3 farklı kısmının

ekstreleri incelendiğinde bakteri suşlarına karşı kök ve toprak üstü ekstresinin aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir.

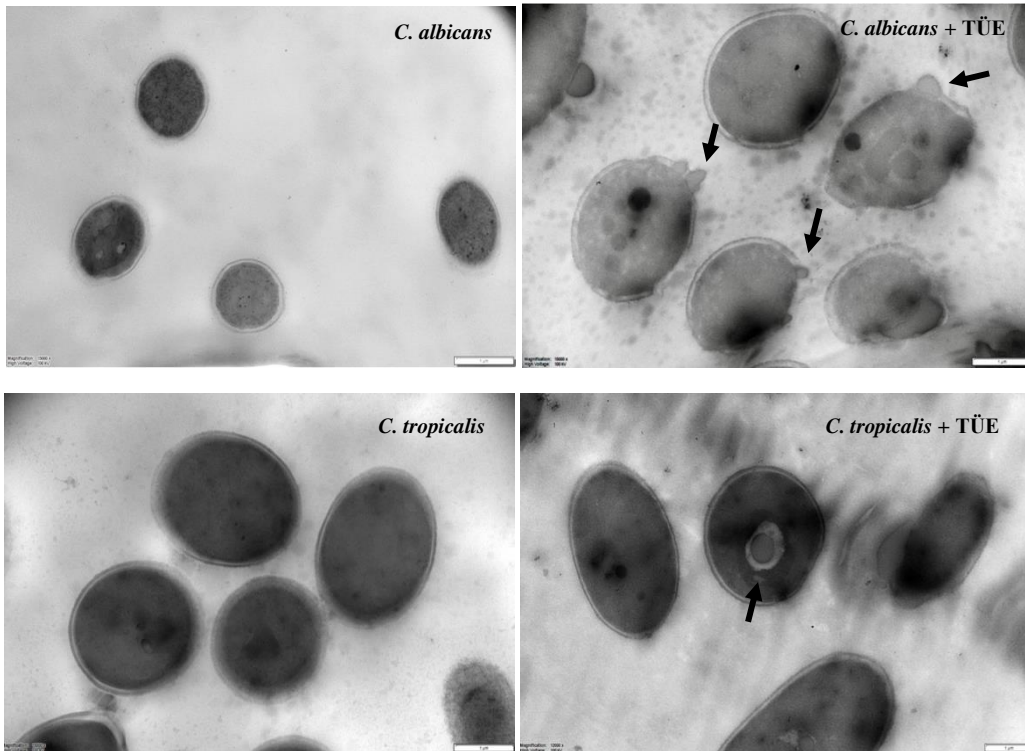
Tablo 6. Antibakteriyel etki sonuçları

(MİK, µg/mL)	ME	KE	TÜE	Kloramfenikol
<i>Escherichia coli</i> NRRL B-3008	>4000	>4000	>4000	4
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1000	500	1000	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>4000	>4000	1000	16
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	2000	500	500	8
<i>Serratia marcescens</i> NRRL B-2544	>4000	1000	1000	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 9633	>4000	>4000	>4000	16

ME: Meyve MeOH ekstresi; KE: Kök MeOH ekstresi; TÜE: Toprak üstü (Yaprak, çiçek ve dal) MeOH ekstresi

3.4. TEM analizi

C. albicans ve *C. tropicalis*'e karşı inhibisyon etkileri belirlenen toprak üstü ekstresinin MİK, ½ ve ¼ MİK kuyucukları ile kontrol kuyucuklarından alınan örneklerin takibi ve analizi ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizlerde toprak üstü ekstresinin (HE) *C. albicans* kontrol hücreleri ile kıyaslandığında deney setlerinde, hücre duvarı ve membranında bütünlüğün bozulduğu, hücre içeriğinin dışarıya doğru çıktığı görülmektedir. *C. tropicalis* analizinde ise çok sayıda hücrede ve spesifik olarak hücre çekirdek membranında hasarların ve nukleus yapısında bozulmaların oluşturduğu görülmüştür.



Şekil 2. *C. albicans* ve *C. tropicalis* sağlıklı kontrol hücreleri (solda) ile toprak üstü ekstresi (TÜE) ile muamele edilmiş hücreler (ölçek: 1 µm).

4. Sonuçlar ve tartışma

Yapılan GK/KS analizinde *Turgenia latifolia* meyve, kök, toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların sırasıyla %99,7, %92,9, %96,3'ünü temsil eden 52, 42, 57 bileşen karakterize edilmiştir. Meyvelerden elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri, *epi- α -bisabolol* (%20,4), 1-oktil asetat (%14,9), germakren D-4 α -ol (%6,7), α -pinen (%6,3), T-kadinol (%5,7), δ -kadinin (%4,2), α -kadinol (%3,7) germakren D-4-ol (%3,4) olarak belirlenmiştir. Kökten elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri, heksadekanoik asit (%11), oktanal (%10,4), nonanal (%7,5), heptanal (%4,1), α -pinen (%4,1), amilfuran (%3,6), terpinen-4-ol (%3,4), β -Pinen (%3,2); toprak üstü kısmından elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri ise α -pinen (%61), spatulenol (%6,6), *trans*-pinokarveol (%4,9) ve kamfen (%3,8), olarak saptanmıştır. Bu çalışma kapsamında bitkinin meyve, kök ve toprak üstü kısımlarından mikrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu bileşenler ve % miktarları ortaya konulmuştur. Bitkinin farklı kısımlarından uçucu yağ eldesi ve kompozisyonunun ayrıntılı olarak belirlenmesi açısından yapılan ilk çalışma niteliğini taşımaktadır. Yapılan kaynak taramasında Ceylan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *Turgenia latifolia* bitkisinin fitokimyasal kompozisyonunun belirlenmesi amacıyla yapılan GK/KS analizinde α -Bisabolol, T-kadinol, spatulenol, α -kadinol ana bileşikler olarak tespit edilmiştir [27].

Yapılan antioksidan aktivite çalışmaları sonuçlarına göre; hazırlanmış ekstrelerde 0,1 mg/mL konsantrasyonda total fenolik madde miktarları; kök %7 meyve %13 ve toprak üstü ise %14 olarak belirlenmiştir. DPPH• süpürücü etkilerine bakıldığında meyveden hazırlanan metanol ekstresinin 0,4 mg/ml konsantrasyonda %39,07, kökten hazırlanan metanol ekstresinden 0,5 mg/ml konsantrasyonda %22,54 ve toprak üstü kısmından hazırlanan ekstrenin 0,2 mg/ml konsantrasyonda %41,3 aktivite gösterdikleri saptanmıştır. ABTS•+ süpürücü etkileri ise meyvenin 0,016 mg/ml konsantrasyonda %7,34, kökün 0,16 mg/ml konsantrasyonda %21 ve toprak üstü kısmının 0,016 mg/ml konsantrasyonda %67 olarak bulunmuştur. Standartlara göre dikkat çekici bir aktivite olmadığı gözlenmiştir.

Antiinflatuvar etkisini belirlemek için yaptığımız bir diğer çalışma olan 5-lipooksijenaz enzim inhibisyonu sonuçlarına göre 20 μ g/mL konsantrasyonda meyvenin %2,8± 4,27, 20 μ g/mL konsantrasyonda kökün %3,4±0,69 inhibisyon yaptığı belirlenmiştir. Toprak üstü kısmının antiinflatuvar etkisi tespit edilememiştir. Meyve ekstresi ve kök ekstresi sonuçları standart ile karşılaştırıldığında antiinflatuvar etkisinin düşük olduğu görülmektedir.

Hajimehdipoor ve ark. (2016) tarafından *T. latifolia*'nın bütün bitki kısımları kullanılarak yapılan çalışmada asetilkolinesteraz inhibe edici etkilerinin olmadığı görülmüştür (300 μ g/mL konsantrasyonda %0 inhibisyon). *T. latifolia*'nın DPPH• inhibisyonu ve ferrik-TPTZ kompleksinin azaltılması için değerleri IC50 62.3 μ g/mL ve FRAP değeri 40.7 mmol FeSO₄.7H₂O/100g olarak bulunmuştur. Bu çalışmada ise farklı olarak bitkinin meyve, kök, toprak üstü kısımlarından ayrı olarak hazırlanan ekstreler total fenolik madde miktarları, DPPH•, ABTS•+ ve 5-lipooksijenaz enzim inhibisyonu açısından değerlendirilmiş ve bitkinin farklı kısımlarından elde edilen ekstrelerin biyolojik aktivite farklılıkları ortaya konulmuştur [28].

Yaptığımız antimikrobiyal aktivite testlerinde standart ajanlara göre zayıf etkiler gözlenirse de toprak üstü ekstresinin, meyve ve kök ekstrelerine oranla seçilen kandida suşlarına karşı daha etkili olduğu görülmüştür. Bitkinin toprak üstü, meyve ve kök kısımlarının ekstreleri incelendiğinde bakteri suşlarına karşı kök ve toprak üstü ekstrelerinin aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir. TEM analizinde toprak üstü ekstresinin *C. albicans* kontrol hücreleri ile kıyaslandığında hücre duvarı ve membran bütünlüğünün bozulması, hücre içeriğinin dışarıya çıkması yoluyla etki ettiği belirlenmiştir. *C. tropicalis* analizinde ise çok sayıda hücrede ve spesifik olarak hücre çekirdek membranında hasara sebep olarak nükleus yapısında bozulmalar oluşturduğuna dikkat çekilmiştir (Şekil 2).

Bu tür ile yapılan tek aktivite çalışmasında [29], *T. latifolia*'nın toprak üstü kısımlarının *Aspergillus fumigatus* PLM 712, ve farklı *Candida albicans* suşları ile, *Candida glabrata* ATCC 90030, *Candida guilliermondi* IF00838, *Candida kefyr* ATCC 38296, *Candida krusei* ATCC 44507, *Candida pseudotropicalis* Y06-01, *Candida tropicalis* ATCC 13803 suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği, toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrenin yalnızca *Aspergillus niger* PLM 1140'e karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca ilginç olarak *Candida glabrata* ATCC 90030, *Candida kefyr* ATCC 38296 ve *Candida pseudotropicalis* Y06-01 suşlarının büyümesini stimüle ettiğini bildirmişlerdir. Yaptığımız deneylerde bahsedilen çalışmadan farklı olarak toprak üstü kısmından hazırlanan ekstrenin *C. albicans* ve *C. tropicalis*'e karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Seçilen kandida suşlarında meyve kök ve toprak üstü elde edilen ekstrelerin antimikrobiyal etkilerinin farklılığı, MİK değerleri ve söz konusu etkilerin mekanizması da gösterilerek literatüre kazandırılmıştır.

Ülkemizde oldukça yaygın olarak yetişen ve tarla zararlısı olarak mücadele edilen bu türün uçucu bileşiklerinin yanında fenolik madde miktarı ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur. Bitkinin toprak üstü, kök ve meyve kısımlarından elde edilen ekstrelerde antibakteriyel, antikandidal ve antioksidan etki çalışmaları ile bu bitkinin ilaç hammaddesi olabile potansiyeli araştırılmıştır. Bu çalışma ile tarla zararlısı olarak kabul edilen bir bitkiye ait total metanol ekstresinin patojen *Candida* hücreleri üzerinde olan etkileri dikkat çekici olup, ülkemizde benzer şekilde halk arasında kullanımının sınırlı olduğu türlerin biyolojik etkileri bakımından potansiyel taşıyabileceği ortaya konmuştur.

Teşekkür

Geçirimli elektron mikroskopu ile elde edilen fotoğraflar için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne (ARUM) ve destekleri için Doç. Dr. Bükay YENİCE GÜRSU'ya teşekkürlerimizi sunarız. Bu çalışma ANABAP desteği ile sağlanan sarf malzemeler ve Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünce alınan izin ile gerçekleştirilmiştir.

Kaynaklar

- [1] Hanf, M. (1983). The arable weeds of Europe with their seedlings and seeds. *The arable weeds of Europe with their seedlings and seeds*, BASF United Kingdom.
- [2] Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., & Babaç, M. T. (2012). Türkiye bitkileri listesi. *Damarlı Bitkiler, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını*, 262.
- [3] Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A., & Merah, O. (2017). The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Industrial crops and products*, 109, 661-671 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.027>
- [4] Başer, K., Kirimer, N. (2014). Essential oils of Anatolian Apiaceae-A profile. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 1(1), 1-50.
- [5] Hickey, M., King, C. (1997). Common families of flowering plants. Cambridge University Press.
- [6] Pimenov, M. G., Leonov, M. V., van Wyk, B. E., & Tilney, P. M. (2004). Asia, the continent with the highest Umbelliferae biodiversity. *South African Journal of Botany*, 70(3), 417-419. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30224-6](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30224-6)
- [7] Wang, X. J., Luo, Q., Li, T., Meng, P. H., Pu, Y. T., Liu, J. X., & Xiong, A. S. (2022). Origin, evolution, breeding, and omics of Apiaceae: a family of vegetables and medicinal plants. *Horticulture Research*, 9, <https://doi.org/10.1093/hr/uhac076>
- [8] Li, M., Li, M., Wang, L., Li, M., & Wei, J. (2023). Apiaceae Medicinal Plants in China: A Review of Traditional Uses, Phytochemistry, Bolting and Flowering (BF), and BF Control Methods. *Molecules*, 28(11), <https://doi.org/10.3390/molecules28114384>
- [9] Amiri, M. S., & Joharchi, M. R. (2016). Ethnobotanical knowledge of Apiaceae family in Iran: A review. *Avicenna journal of phytomedicine*, 6(6), 621.
- [10] Davis, P. H. (1972). Flora Of Turkey. Edinburgh at the University Press 22, vol. 4: 527, Edinburgh.
- [11] Rechinger, K. H. (1964). Flora Iranica: Akademische Druck-und Verlagsanstalt Graz. *University of Tehran, Iran*, 549.
- [12] Walters, S. M., & Pawlowski, B. (1968). Flora Europaea, Cambridge University Pres.
- [13] Mosaddegh, M., Naghibi, F., Moazzeni, H., Pirani, A., & Esmaeili, S. (2012). Ethnobotanical survey of herbal remedies traditionally used in Kohghiluyeh va Boyer Ahmad province of Iran. *Journal of ethnopharmacology*, 141(1), 80-95. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.02.004>
- [14] Baser KHC, Demirci B, Demirci F, Kirimer N, Hedge IC. Microdistillation as a useful tool for the analysis of minute amounts of aromatic plant materials. *Chemistry of Natural Compounds*. 2001, 37:336-8. <https://doi.org/10.1023/A:1013718517771>
- [15] McLafferty, F. W., & Stauffer, D. B. (1989). *The Wiley/NBS registry of mass spectral data* (Vol. 1). New York: Wiley.
- [16] Boelens, M. (1999). The complete database of essential oils, Boelens Aroma chemical information service. The Netherlands.
- [17] Vl, S. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- [18] Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P. J., Jaspars, M., Nahar, L., & Sarker, S. D. (2007). Screening seeds of some Scottish plants for free radical scavenging activity. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(7), 615-621. <https://doi.org/10.1002/ptr.2129>
- [19] Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- [20] Kumarasamy, Y., Fergusson, M. E., Nahar, L., & Sarker, S. D. (2002). Bioactivity of moschamindole from *Centaurea moschata*. *Pharmaceutical Biology*, 40(4), 307-310. <https://doi.org/10.1076/phbi.40.4.307.8467>

- [21] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237 [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- [22] Baylac, S., & Racine, P. (2003). Inhibition of 5-lipoxygenase by essential oils and other natural fragrant extracts. *International Journal of Aromatherapy*, 13(2-3), 138-142. [https://doi.org/10.1016/S0962-4562\(03\)00083-3](https://doi.org/10.1016/S0962-4562(03)00083-3)
- [23] PA, W. (2002). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, Approved standard. *CLSI document M27-A2*.
- [24] MA, W. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. *CLSI (NCCLS)*, 26, M7-A7
- [25] İşcan, G., İşcan, A., & Demirci, F. (2016). Anticandidal effects of thymoquinone: Mode of action determined by transmission electron microscopy (TEM). *Natural product communications*, 11(7), <https://doi.org/10.1177/1934578X1601100726>
- [26] Gürsu, B. Y. (2022) Klinik Candida izolatlarında karvakrolün antimikrobiyal etkilerinin araştırılması ve immunoelektron mikroskopik yöntem ile görüntülenmesi. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 15(2), 265-272. <https://doi.org/10.46309/biodicon.2022.1120159>
- [27] Ceylan, R., Zengin, G., Aktümsek, A., Apiaceae familyasına ait *Turgenia latifolia*'nın GC-MS ile Uçucu Yağ Kompozisyonunun Belirlenmesi, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 2014.
- [28] Hajimehdipoor, H., Ara, L., Moazzeni, H., & Esmaili, S. (2016). Evaluating the antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of some plants from Kohgiluyeh va Boyerahmad province, Iran. *Research Journal of Pharmacognosy*, 3(4), 1-7.
- [29] Sardari, S., Amin, G., Micetich, R. G., & Daneshtalab, M. (1998). Phytopharmaceuticals. Part 1. Antifungal activity of selected Iranian and Canadian plants. *Pharmaceutical Biology*, 36(3), 180-188. <https://doi.org/10.1076/phbi.36.3.180.6348>