



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DE YETİŞEN
***HAPLOPHYLLUM SAHINII* O.TUGAY & D.ULUKUS**
VE *H. VULCANICUM* BOISS. & HELDR.
TÜRLERİNİN TİROZİNAZ VE
ASETİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖR ETKİLERİ
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Esengül KARAHİSAR

YÜKSEK LİSANS

Biyoloji Anabilim Dalı

Temmuz-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Esengül KARAHİSAR tarafından hazırlanan “Türkiye’de Yetişen *Haplophyllum sahinii* O.Tugay & D.Ulukus ve *H. vulcanicum* Boiss. & Heldr. Türlerinin Tirozinaz ve Asetilkolinesteraz İnhibitör Etkileri Üzerine Araştırmalar” adlı tez çalışması 09/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK

Danışman

Prof. Dr. Osman TUGAY

Üye

Doç. Dr. İpek SÜNTAR

İmza

.....
Mustafa

.....
Osman

.....
İpek

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
FBE Müdürü

Bu tez çalışması BAP koordinatörlüğü tarafından 17201126 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Esengül KARAHİSAR
09.07.2018



ÖZET

YÜKSEK LİSANS

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *HAPLOPHYLLUM SAHINII* O.TUGAY & D.ULUKUS VE *H. VULCANICUM* BOISS. & HELDR. TÜRLERİNİN TİROZİNİZ VE ASETİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖR ETKİLERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Esengül KARAHİSAR

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

1. Danışman: Prof. Dr. Osman TUGAY
2. Danışman: Prof. Dr. İlkay ERDOĞAN ORHAN

2018, IX + 30

Jüri
Prof. Dr. Osman TUGAY
Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Doç. Dr. İpek SÜNTAR

Ülkemizde 'Turunçgiller' olarak bilinen Rutaceae familyasına ait *Haplophyllum* türleri önemli tıbbi ve aromatik bitkilerdendir. *Haplophyllum* cinsi Türkiye için 10'u endemik olmak üzere toplam 18 taksona sahiptir. *Haplophyllum* türlerinin Moğolistan ve Sudan halk hekimliğinde antipiretik olarak ve tümör tedavisinde, Suudi Arabistan ve İran'da uçuk, siğil, mide ağrısı, erizipel, diş ağrısı, cilt hastalıkları ve testis kanseri tedavisinde geleneksel kullanımı kayıtlıdır. Alzheimer hastalığı (AH) özellikle yaşlı nüfusu etkileyen, ilerleyici ve nörodejeneratif bir hastalıktır. Alzheimer hastalarının beyinlerinde asetilkolin adlı nöromedyatörün eksik olduğu saptanması nedeniyle asetilkolini hidroliz eden enzim olan asetilkolinesterazın (AChE) inhibe edilmesi yoluyla etki gösteren ilaç grubu, günümüzde en yaygın semptomatik tedavi seçeneği haline gelmiştir. Parkinson hastalığının tedavisinde yeni bir hedef olarak gösterilen ve ayrıca hiperpigmentasyon tedavisi, cilt beyazlatma, leke giderme amacıyla kullanılacak güvenli ve etkili tirozinaz inhibitörleri arayışı da son yıllarda önem kazanmıştır. Bu tez projesi kapsamında Türkiye'de yetişen endemik *Haplophyllum sahinii* O.Tugay & D.Ulukus ve *Haplophyllum vulcanicum* Boiss. & Heldr. türlerinin farklı kısımlarından hazırlanan etanolü ekstraktların, AH ile ilişkili olan AChE ve bütirilkolinesteraz (BChE) ve ayrıca tirozinaz (TYR) enzimlerine karşı inhibitör etkileri ELISA mikropalak okuyucu ile 200 µg mL⁻¹ konsantrasyonda test edilmiştir. BChE'ye karşı ekstraktlar orta ve önemli derecede inhibisyon gösterirken, TYR'a karşı yüksek düzeyde inhibisyon saptanmıştır. Bahsi geçen bitki türlerinin AChE, BChE ve tirozinaz enzim inhibitör etkisi ilk defa bu tez projesiyle tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Asetilkolinesteraz inhibisyonu, Bütirilkolinesteraz inhibisyonu, *Haplophyllum sahinii*, *Haplophyllum vulcanicum*, Rutaceae, Tirozinaz inhibisyonu

ABSTRACT

MS THESIS

RESEARCH ON TYROSINASE AND ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORY EFFECTS OF *HAPLOPHYLLUM SAHINII* O.TUGAY & D.ULUKUS AND *H. VULCANICUM* BOISS. & HELDR. GROWING IN TURKEY

Esengül KARAHİSAR

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN DEPARTMENT OF BIOLOGY

Advisor: Prof. Dr. Osman TUGAY
2nd Advisor: Prof. Dr. İlkey ERDOĞAN ORHAN

2018, IX + 30

Jury
Prof. Dr. Osman TUGAY
Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Doç. Dr. İpek SÜNTAR

The *Haplophyllum* species belonging to the family of Rutaceae, known as 'Citrus' in our country, are important medicinal and aromatic plants. The *Haplophyllum* genus has a total of 18 taxa, of which 10 are endemic to Turkey. The traditional use of *Haplophyllum* species in the treatment of herpes, warts, stomach pain, erysipelas, dental pain, skin diseases and testicular cancer in Saudi Arabia and Iran in antipyretic and tumor treatment in Mongolian and Sudanese folk medicine. Alzheimer's disease (AD) is a progressive and neurodegenerative disease that affects the elderly population in particular. The drug group, which acts by the inhibition of acetylcholinesterase (AChE), the enzyme that hydrolyzes acetylcholine, is now the most common symptomatic treatment option because it has been found that the neurotransmitter called acetylcholine is missing in the brains of AD patients. The search for safe and effective tyrosinase inhibitors, which have been shown as a new target in the treatment of Parkinson's disease and which can also be used for hyperpigmentation therapy, skin whitening, stain removal, have gained importance in recent years. Within this thesis project, inhibitory effects of the ethanolic extracts prepared from different parts of the endemic species, *e.g.* *Haplophyllum sahinii* O.Tugay & D.Ulukus and *Haplophyllum vulcanicum* Boiss. & Heldr. species grown in Turkey against AChE and butyrylcholinesterase (BChE) associated with AD as well tyrosinase (TYR) were investigated by using ELISA microplate reader at 200 µg mL⁻¹ concentration. Although the extracts showed moderate to significant inhibition towards BChE showed a high inhibition to TYR. Enzyme inhibitory effect of the aforementioned plant species against AChE, BChE, and TYR is reported for the first time in this thesis.

Keywords: Acetylcholinesterase inhibition, Butyrylcholinesterase inhibition, *Haplophyllum sahinii*, *Haplophyllum vulcanicum*, Rutaceae, Tyrosinase inhibition

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübeleri ile çalışmalarımı en doğru ve başarılı bir şekilde yürütmemi sağlayan; tez konumun belirlenmesinden arazi çalışmalarına kadar olan her süreçte yanımda olan, maddi ve manevi olarak da desteğini ve anlayışını üzerimden esirgemeyen her daim örnek aldığım çok değerli Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Osman TUGAY'a emekleri için çok teşekkür ederim.

Tez konumu belirlemede yardımcı olan ve çalışmalarım sırasında her daim yardımlarını aldığım, sağladığı imkânlar ve verdiği destekler için Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Değerli Hocam Prof. Dr. İlkay ERDOĞAN ORHAN'a destekleri için çok teşekkür ederim.

Lisans ve Yüksek Lisans eğitimim sırasında kendimi yetiştirmem konusunda yardımlarını gördüğüm Fen Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK, Biyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Hüseyin DURAL ve Botanik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kuddisi ERTUĞRUL hocalarıma teşekkür ederim.

Yardımlarını, bilgisini, hoşgörünü ve anlayışını benden hiç esirgemeyen, laboratuvar çalışmalarım sırasında beni yönlendiren değerli zamanını benim için ayıran Arş.Gör.Dr. Fatma Sezer ŞENOL'a çok teşekkür ederim.

Yüksek Lisansım boyunca yardımlarını gördüğüm ve tecrübelerini benden esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Deniz ULUKUŞ'a teşekkür ederim.

Tez yazma aşamasında bilgilerini benimle paylaşıp yol gösteren Dr. Öğr. Üyesi Nuraniye ERUYGUR ve Dr. Öğr. Üyesi Fatma AYAZ hocalarıma teşekkür ederim.

Tezin yazımı sırasında yardımlarını gördüğüm ve manevi desteğini aldığım Öğr. Gör. İmran KAZAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca bana destek veren Yüksek Biyolog Sercan KARAGÖZ'e, tez materyallerimin hazırlanması aşamasında yardımlarını esirgemeyen Ali ÖZTÜRK'e çok teşekkür ederim.

Her konuda beni destekleyen, sevgisini ve ilgisini hep hissettiğim annem Güleser KARAHİSAR'a ve bu süreçte yanımda olan arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Bu tez çalışmasına 17201126 proje ile maddi olanak sağlayan S.Ü. BAP Koordinatörlüğüne çok teşekkür ederim.

Esengül KARAHİSAR
KONYA-2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
ÇİZELGE VE ŞEKİLLER	viii
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
3. GENEL BİLGİLER.....	7
3.1. Botanik Bilgiler.....	7
3.1.1. Rutaceae familyası.....	7
3.1.2. <i>Haplophyllum</i> A.Juss. cinsinin genel özellikleri	8
3.2. <i>Haplophyllum</i> Türlerinin Etnobotanik Bulguları.....	14
3.3. <i>Haplophyllum sahinii</i> ve <i>H. vulcanicum</i> Türleri Üzerinde yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	16
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
4.1. Materyal	17
4.2. Yöntem.....	17
4.2.1. Ekstrelerin hazırlanması	17
4.2.2. <i>Haplophyllum sahinii</i> ve <i>H. vulcanicum</i> türlerinde kolinesteraz ve tirozinaz inhibisyonu tayini	17
5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	20
5.1. Ekstre Verimine Ait Sonuçlar.....	20
5.2. <i>H. sahinii</i> ve <i>H. vulcanicum</i> Ekstrelerinin Kolinesteraz Enzim İnhibisyonu Tayinine Ait Sonuçlar	20
5.2.1. AChE enzim inhibisyonuna ait sonuçlar	20
5.2.2. Bütirikolinesteraz enzim inhibisyonuna ait sonuçlar.....	21
5.2.3. TYR enzim inhibisyonuna ait sonuçlar	21
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	23
KAYNAKLAR	25
ÖZGEÇMİŞ	30

ÇİZELGE VE ŞEKİLLER

<u>Çizelge No</u>	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 5.1.: <i>Haplophyllum sahinii</i> ve <i>H. vulcanicum</i> örneklerinden elde edilen ekstrelerin % verimleri.....	20
Çizelge 5.2.: <i>H. sahinii</i> ve <i>H. vulcanicum</i> örneklerinden elde edilen ekstrelerin AChE inhibitör etkileri.....	20
Çizelge 5.3.: <i>H. sahinii</i> ve <i>H. vulcanicum</i> örneklerinden elde edilen ekstrelerin BChE inhibitör etkileri.....	21
Çizelge 5.4.: <i>H. sahinii</i> ve <i>H. vulcanicum</i> örneklerinden elde edilen ekstrelerin tirozinaz inhibitör etkileri.....	21

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1. <i>Haplophyllum sahinii</i> genel görünüm.....	10
Şekil 3.2. <i>Haplophyllum sahinii</i> taksonunun Türkiye'deki yayılışı.....	10
Şekil 3.3. <i>Haplophyllum vulcanicum</i> genel görünüm.....	13
Şekil 3.4. <i>Haplophyllum vulcanicum</i> taksonunun Türkiye'deki yayılışı.....	13

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
ACh:	Asetilkolin
AChE:	Asetilkolinesteraz
AChEI:	Asetilkolinesteraz inhibitörleri
AH:	Alzheimer Hastalığı
A β :	Amiloid β - peptit
BChE:	Bütirikolinesteraz
°C:	Santigrat derece
cm:	Santimetre
DMSO:	Dimetilsülfoksit
DTNB:	5-5'-Ditiyo-bis (2-nitrobenzoik) asit
ELISA:	Enzyme-linked immunosorbent assay
Flora of Turkey:	Flora of Turkey and the East Aegean Islands
GDO:	Genetiği değiştirilmiş organizma
IUCN:	Uluslararası Doğa Koruma Örgütü
KNYA:	Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi KONYA Herbariumu
L-DOPA:	3,4-Dihidroksi-L-fenilalanin
mL:	Mikrolitre
mm:	Milimetre
μ g:	Mikrogram
TYR:	Tirozinaz
VU:	Vulnerable (Zarar Görebilir)

1. GİRİŞ

Bitkiler, insanlığın var olduğu günden bugüne değin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmış ve bu kullanım neticesinde oluşan bilgi birikiminin nesilden nesile sözlü olarak aktarılmasıyla geleneksel tedavinin ve halk tıbbının zeminini oluşturmuştur. Rutin hayatımızda kullandığımız pek çok sentetik kimyasalın doğurduğu olumsuz sonuçlar bitkisel ilaçlara büyük bir ilgi uyandırmıştır. Tedavilerde kullanılan birçok ilaç etken maddesinin de bitkisel kaynaklı olduğunun bilinmesi ve son yıllarda dünyanın bitkisel tedavi yöntemlerine ilgi duyması bilim insanlarını bitkisel kaynaklı ilaçlar üzerinde araştırma yapmaya yöneltmiştir.

Günümüzde insan sağlığı açısından bireylerin iyileşmeleri dışında toplumun sorunlarına çözümler bulmak ve bilinçli insanlar yetiştirmek gerekmektedir. Son yıllarda bilim insanlarının önemli hedeflerinden biri de insan hayatını uzatmakla birlikte kalitesini de arttırmaktır. Ama ortalama yaşam süresinin uzaması yaşlılığa ait demans gibi birçok hastalığı da beraberinde getirmektedir. Demans, gündelik yaşamın sürdürülmesini engelleyen ilerleyici bir beyin hastalığı olup, hafıza kaybı, rutin hayatın ortaya çıkardığı ihtiyaçları karşılamada zorlanma; algılamada zorlanma, ruh halinde değişiklikler gibi sık karşılaşılan belirtilerle tanımlanmaktadır (Adams ve ark., 1984; Arnold ve Kumar, 1993; Aisen ve Davis, 1997). Özellikle yaşlı popülasyonda görülen demans, geri dönüşümsüz ve ilerleyici bir durumdur. Kesin bir tedavisi olmayan demansın birçok çeşidi arasında, Alzheimer hastalığı (AH) en sık görülen tipidir (Bachman ve ark., 1992).

İlk defa 1907 yılında Alois Alzheimer adında bir Alman doktor tarafından tanımlanan AH; hafıza konuşma, yön bulma, insanları tanıma, problem çözme gibi çeşitli zihinsel işlevlerin zamanla zayıfladığı, günlük işleri yerine getirme yeteneklerinin azaldığı ve davranış bozukluklarının görülebildiği ilerleyici bir hastalıktır (Terry ve Katzman, 1983; Cummings ve Benson, 1992). AH kardiyovasküler hastalıklar ve kanserle beraber, ekonomik olarak gelişmiş ülkelerdeki en önemli sağlık problemlerinden birisidir (Bachurin, 2003). En sık demans nedeni olan ve tüm demans vakalarının %50 – 70'ini oluşturan AH 65 yaşın üstündeki insanları % 10, 85 yaşın üstündekileri ise % 30 – 35 oranında etkilemektedir (Kawas, 1997).

Günümüzde AH tedavisinde asetilkolinesteraz inhibitörleri (AChEI), belirli bir başarı oranının elde edildiği tek ilaç grubudur (Forette ve Boller, 2000). AChEI ilaçlar, merkezi sinir sisteminin önemli bir nörotransmitteri olan asetilkolini (ACh) salındığı sinir ucunda hidroliz eden ve dolayısıyla miktarının azalmasına neden olan AChE

enzimini inhibe ederek, hastanın davranış bozukluklarında anlamlı bir gerileme sağlamaktadır (Giacobini, 1995). ACh iki sinir hücresi arasındaki iletişimi sağlayan bir nörotransmitterdir. AChE tarafından ACh hidroliz edildiğinde, sinirler arasındaki geçiş oldukça yavaşlamaktadır. Hafıza kaybı ile ilgili hastalıklarda ACh'nin çok kısa sürede parçalandığı tespit edilmiştir. ACh'i parçalayan enzimin (AChE) inhibe edilmesiyle sinirler arasındaki geçişin kuvvetlendiği tespit edilmiştir (Bores ve ark., 1996).

Öte yandan güneşten gelen şiddetli ultraviyole ışınlarla maruz kalma, Amerika Birleşik Devletleri, Avusturalya, vs gibi ülkelerde melanoma sayısında hızla artışa sebep olmuştur (Serraino ve ark., 1998; Linet, 2000). Diğer yandan, cilt beyazlatma ürünlerine artan ihtiyaç, araştırmacıların ilgisini melanin pigmentinin artışını baskılamaya yönelik araştırmalara odaklamıştır (Ito, 2003; Seo ve ark., 2003).

Melanositler tarafından "melanogenezis" adı verilen kompleks bir süreç sonucunda üretilen bir pigment olan melanin, deride anormal şekilde birikince hiperpigmentasyona neden olmakta ve dolayısıyla cilt üzerinde koyu renkli lekeler meydana getirmektedir. Hiperpigmentasyon tedavisi için haricen hidrokinonlarla beyazlatma, retinoitler ile anti-enflamatuvar tedavi ve tirozinaz inhibitörlerinin kullanımı önerilmektedir. Melanogenezis sürecinde rol alan başlıca enzimlerden birisi de tirozinaz (TYR, sin. polifenoloksidaz, PPO, EC 1.14.18.1) olup, dinükleer bakır taşıyan bir enzimdir ve cilt, saç ve göz rengindeki pigmentasyondan sorumlu olup, melanin biyosentez yolağında hız-sınırlayıcı ilk iki basamağı katalizlemektedir (Slominski ve ark., 2005). Bu enzimin inhibisyonu ile hiperpigmentasyonun önlenmesi mümkün olabilmektedir ve kozmetik sektöründe TYR inhibitörleri özellikle "cilt beyazlatıcı" (skin-whitening) ürünlerin bileşiminde sıklıkla yer almaktadır (Gillbro ve Olsson, 2011).

Günümüzde kozmetik ve medikal endüstrilerinde TYR inhibitörleri giderek önem kazanmaktadır. Multifonksiyonel bir enzim olan TYR, diğer taraftan Parkinson hastalığında tirozin-TYR enzimatik yolağı aracılığıyla beynin dopamince zengin olan *substantia nigra* bölgesinde bulunan nöronların pigmentasyonundan da sorunludur. Bu yolda, 5-S-sisteinil-dopamin gibi katalizlediği oksidasyon reaksiyonu sonucu bazı nörotoksik metabolitlerin oluşmasını sağladığı için, Parkinson hastalarında dopamin toksisitesine yol açabilmektedir (Mendes ve ark., 2014). Bu nedenle, yeni bir tedavi yaklaşımı olarak, Parkinson hastalarında TYR inhibitörlerinin kullanılması da gündeme gelmiştir. Bunun yanısıra, tirozinaz enzimi ilaç sanayinde, melanoma tedavisinde, fenolik bileşiklerin zehirli etkilerinin giderilmesinde, fenolik bileşiklerin, tarım ilaç

kalıntılarının, patojenlerin ve genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) tespiti için enzimatik sensörlerin geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bitkilerde, hayvanlarda ve diğer organizmalarda melanin sentezindeki esmerleşme reaksiyonlarında görev alırlar (Selinheimo, 2008; Franssen ve ark., 2013).

Dünyanın farklı bölgelerinde, geleneksel halk ilaçları üzerindeki bilimsel araştırmalar modern ilaç araştırmaları için önemli ve ciddi bir kaynak oluşturmaktadır. İlaç geliştirmenin, çok uzun ve pahalı bir süreç olduğu göz önüne alındığı zaman ilk aşamada halk ilaçlarının değerlendirmeye alınması doğru bir yol olacaktır. Bu amaçla, halk ilaçlarının etkinlik ve güvenilirliklerinin bugünkü bilimsel yöntemlerle kanıtlanması gerekmektedir. Bu düşünceden yola çıkılarak bu projede *Haplophyllum sahinii* O.Tugay & D.Ulukus ve *Haplaphyllum vulcanicum* Boiss. & Heldr. türlerinin ilk defa kolinesteraz ve tirozinaz inhibitör etkileri çalışılmıştır. Proje sonucunda elde edilen bulgular doğrultusunda çalışılan türlerin özellikle nörodejeneratif ve diğer bazı hastalıkların tedavisindeki tıbbi potansiyelini ortaya çıkarmak amaçlanmaktadır.

Tez içeriğindeki ‘Genel Bilgiler’ kısmı; ilk olarak Rutaceae familyası ile tez materyalini oluşturan bitki türlerinin ait olduğu *Haplophyllum* cinsinin ve *Haplophyllum sahinii* ile *H. vulcanicum* türlerinin sistematikteki yeri ve botanik özellikleri hakkında bilgi verildiği ‘Botanik Bölüm’ ile başlamaktadır. Botanik bölümü, *Haplophyllum* türlerinin halk arası kullanımlarının bahsedildiği ‘*Haplophyllum* Türlerinin Etnobotanik Bulguları’ ile tez materyalini oluşturan türlerin genel olarak içerdiği bileşiklerin bahsedildiği ‘Fitokimyasal Bölüm’ izlemektedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Rutaceae familyasının içinde yer aldığı Sapindales ordosu dünya genelinde 9 familya 471 cins, yaklaşık 6.700 tür ile temsil edilmektedir. Rutaceae familyası 3 alt familya (Rutoideae, Aurantioideae, Cneoroideae) içerisinde, 154 cins ve yaklaşık 2.100 türden oluşmaktadır (Kubitzki ve ark., 2011).

Rutaceae familyası kategorik olarak Ruteae tribusu, subtribus Rutinae ve subtribus Dictamninae olarak ayrılmış olup, 9 cins içermektedir (Engler ve Prantl, 1898).

Rutaceae familyası içerisinde en zengin tür içeren cinslerden bir tanesi olan *Haplophyllum* cinsi son yayınlanan türler ile 68'e ulaşmıştır (Townsend, 1986; Navarro ve ark., 2004; Soltani ve Khosravi, 2005; Salvo ve ark., 2011).

AH'nın tanımlanan üç belirgin patolojisi, β -amiloit plaklar, nörofibriler düğümler ve kolinerjik nöronlardır. Kolinerjik transmisyonun eksikliği, Alzheimer hastalarında kognitif, fonksiyonel ve bilişsel semptomların ifadesinde önemli rol oynamaktadır. Bu yüzden tedavide amaç reseptör agonistleri veya AChEI ile kolinerjik sistemin fonksiyonlarını arttırmaktır. Bu yaklaşımlar arasında AChEI hastalığın semptomlarını azaltmada ve kolinerjik eksikliği gidermede en etkili grup olarak gözükmektedir (Brufani ve ark., 1997).

Beyindeki kolinerjik sistemin bozulması ile bellek arasındaki ilişkiye bakılarak, AChEI AH'nın semptomatik tedavisinde şu anda en etkili ilaç grubu olarak kullanılmaktadır. AChEI, merkezi sinir sisteminin önemli bir nöromedyatörü olan asetilkolini hidroliz eden ve dolayısıyla miktarının azalmasına neden olan AChE enzimini inhibe ederek, hastanın hafıza bozukluklarında anlamlı bir gerileme sağlamaktadır (Giacobini, 1995).

AChE inhibitörlerinin etki mekanizması, ACh'nin hidrolizinin inhibisyonuna dayanmaktadır. Ek olarak, AH'nın ilerlemesi üzerinde bir etkiye sahip olan AChE'in non-katalitik rolleri; A β fibrilojenezis ve plak oluşumu, *tau* fosforilasyonu ve serebral sıvı akışının kolinerjik modülasyonunu içerir. Alzheimer hastalarının beyinde ekstraselüler plakların birikimi ve oluşumunda AChE'in potansiyel ilişkisi saptanmıştır (Bartolini ve ark., 2003).

AChEI'den tedaviye ilk giren takrin, non-selektif olarak enzim inhibisyonu yaparken, daha sonra tedaviye giren selektif etkili donapezil selektif etkisinin kolinerjik yan etkileri azaltması açısından daha etkili olduğu düşünülürken, artık bu hipotez kabul edilmemektedir. Aksine, yapılan son çalışmalar hem AChE'ı hem de bütirilkolinesterazi

(BChE) inhibe eden dual kolinesteraz inhibitörleri ve enzim inhibisyonu yanında nöroprotektif etkilerinin de olduğu gösterilmiştir (Wilkinson ve ark., 2002)

AChE'in inhibitörleri AH dışında, Myastenia gravis ve glokom tedavisinde de kullanılmaktadır. Myastenia gravis, nöromüsküler iletimin düzensizliğinden kaynaklanan bir kas hastalığıdır. Hastalık bitkinlikle karakterize olup nedenleri arasında ACh reseptör proteinine karşı antikor oluşması, buna bağlı olarak da kas motor sinir aksonunun, çizgili kas içinde sonlanan uç kısmında reseptör sayısında azalma oluşması bulunmaktadır. Sonuç olarak kas lifleri sinir impulslarına cevap veremez hale gelir ve kasları etkileyen bir bitkinlik gelişir. AChE inhibitörleri bu hastalıkta semptomatik tedavi sağlamaktadır (Mehndiratta ve ark., 2008).

Glokom hastalığında ise göz içi basıncı artmaktadır. Artan göz içi basıncını düşürmek için dolaylı parasempatomimetik etkili oküler antikolinesterazlar kullanılmaktadır (Estermann ve ark., 2006).

Bakır içeren bir enzim TYR, funguslarda, bitkilerde ve hayvanlarda bulunur, moleküler oksijeni kullanarak monofenollerin *o*-difenollere hidrosilasyonunu, *o*-difenollerin de *o*-kinonlara oksidasyonunu katalizler (Matsuura ve ark., 2006).

TYR gıda endüstrisinde meyve ve sebzelerin ekonomik değerlerinin korunmasında anahtar bir enzimdir. Sebze ve meyvelerdeki enzimatik kahverengileşmeden sorumludur. İstenmeyen renk ve lezzetler, kinon bileşenlerinin proteinlerin amino ve sülfidril gruplarıyla arasındaki geri dönüşümsüz olarak oluşan kahverengileşme reaksiyonları sonucu oluşur. Kinon-protein reaksiyonları proteinlerin sindirimini zorlaştıran lizin ve sisteinin de içinde bulunduğu esansiyel amino asitlerin biyoyararlanımını düşüren sonuçlar doğurur. Bu bağlamda, kuvvetli TYR inhibitörlerine tarım ve beslenme alanında çok ihtiyaç bulunmaktadır (Mayer, 1986).

Gıdalarda, TYR'a bağlı olarak doğal rengi dışında kararmalar oluşabilir. Görünüş ve lezzetinde bozulma olabilir ve meyve suyu, şarap gibi içeceklerde bulanıklıklar ve çökelmeler oluşabilir. Bunun sebebi TYR aktivitesidir. Bu durumlar gerek tüketiciler, gerekse üreticiler tarafından istenmemektedir. Tercih edilmeyen ürünler gıda sektöründe zarara sebep olmaktadır. Gıda sektörü bu istenmeyen durumları ortadan kaldırmak için TYR inhibitörlerini kullanmaktadır (Marshall ve ark., 2000).

Melanin cilt kanserine karşı önemli bir koruyucu rol üstlense de, anormal düzeyde melanin pigmentasyonu insanlarda önemli bir estetik problemdir. Ayrıca, TYR inhibitörleri melanin pigmentasyonu ile ilgili cilt bozukluklarını tedavi etmek için klinik

olarak kullanılabilir, ayrıca cilt beyazlatma etkileri nedeniyle de kozmetik için önemlidir (Maeda ve Fukuda, 1991).

Son zamanlarda, cilt beyazlatıcı kozmetikler özellikle Uzakdoğu Asya ve Ortadoğu bölgesinde çok fazla talep gören ürünler arasında yer almaktadır. Sentetik kökenli TYR inhibitörleri arasında en yaygın olanı hidrokinon türevlerinden biri olan 1,4-dihidrokinon etkin bir melanosit olmakla beraber, sitotoksik bir ajandır. DNA ve RNA sentezini etkileyerek geri dönüşümlü inhibisyona sebep olmaktadır. Fakat şu anda kullanımı pek çok ülkede yasaklanmıştır. Bu örneğe benzer şekilde, birçok sentetik inhibitörün toksik etkileri bulunmakta ve bu sebeple, yeni TYR inhibitörleri keşfetme arayışı devam etmektedir. Doğal kaynaklardan elde edilen mikrofungus kaynaklı bir sekonder metabolit olan alfa-kojik asit ve bitkisel kökenli arbutin ile aloesin gibi bazı TYR inhibitörleri de bulunmaktadır (Orhan ve Khan, 2014).

Cilt beyazlatıcılar aktif bileşenlerine göre gruplandırıldığında; i. kimyasal kökenli TYR inhibitörleri (hidrokinon vb. bileşikler), ii. doğal bileşikler (özellikle bitki ve alg kaynaklı bileşikler), iii. antioksidan etkili bileşikler, iv. vitaminler (Vitamin A, B, C ve E), v. peptitler ve vi. alfa- ve beta-hidroksi asitler ile türevleri olarak sınıflandırılmaktadır (Kamakshi, 2012).

TYR haşerelerle mücadele için geliştirilen ürünlerde de önemli bir rol oynar. TYR haşerelerde melanojenizde, yara iyileşmesinde ve parazitlerin enkapsülasyonunda görevlidir (Barrett, 1984).

TYR inhibitörlerindeki gelişmeler zararlı haşerelere karşı kullanılacak alternatif bir yol olacaktır. Tüm bu sebeplerden dolayı TYR inhibitörleri ilaç ve kozmetik ürünlerinde pigmentasyon rahatsızlıklarını önlemede gittikçe artan bir öneme sahiptir (Maeda ve Fukuda, 1991).

Doğal kaynaklardan elde edilen bileşiklerin miktarı gün geçtikçe artmaktadır. Bunlar deriyi ekzojen ve endojen zararlı ajanlara karşı koruyabilir ve çeşitli cilt problemlerinin giderilmesine yardım ederler. Potansiyel kullanımları için besin kalitesini arttırmada ve insanlarda pigmentasyon bozukluklarını engellemede bu çalışmalar önemli olup yeni TYR inhibitörlerinin araştırılması ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (Parvez ve ark., 2006).

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Botanik Bilgiler

3.1.1. Rutaceae familyası

Rutaceae [Cneoraceae dahil]-Turunçgiller familyası (Latince sedefotu için kullanılır). 158-161 cins/1800-1900 tür.

Rutaceae familyası, ağaç, çalılar, sarılıcılar ve otsu bitkilerden oluşur. Bazı taksonların gövdeleri dikenlidir. Yapraklar basit, trifoliat veya pinnat, bazen pinnatifit, stipulsuz, genellikle pellusit veya benekli glandlıdır. Çiçeklenme durumu simöz, rasemöz, nadiren tek çiçeklidir. Çiçekler genellikle iki eşeyli ve aktinomorf; hipogin, nadiren epigindir. Kaliks aposepal veya 4-5 [2-3] sepalli sinsepaldir. Korona apopetal veya 4-5 [0,2-3] parçalı simpetal, imbrikat veya valvat petal veya lobludur. Stamenler, 8-10 ya da ∞ sayıda, genellikle diplostemon, 2 [1-4] halkada, bazı taksonlarda staminodlu; filamentler genellikle tabanda birleşiktir. Anterler boyuna açılır. Ginekeum sinkarp, nadiren apokarp; üst durumlu ovaryumlu, 4-5. [1- ∞] karpelli ve 4-5 [1- ∞] gözlüdür. Plasentalanma aksillar; ovüller anatrop veya hemitrop, bitegmik, her karpel için 2 [1- ∞] sayıdadır. Nektaryumlar, genellikle ovaryumun tabanında dairesel bir şekindedir. Meyve şizokarp, üzüksü, drupa veya hesperidyumdur (hesperidyum içerisinde su kesesi olarak adlandırılan şişkin tüyler var). Yapraklar ve perikarp (meyve kabuğu) dahil çoğu dokularda uçucu yağlar içeren salgı boşlukludur.

Rutaceae familyası üyeleri özellikle tropikal bölgelerde geniş yayılışa sahiptir. *Citrus* türleri arasında çok önemli meyveler (portakal, greyfurt, limon vb.), *Ruta graveolens* gibi kereste ağaçları, tıbbi bitkiler ve çok sayıda süs bitkisi olarak yetiştirilen türler familyanın ekonomik önemini oluşturur. Familyanın filogenetik analizi için Groppo ve ark. (2012) ve Bayer ve ark. (2009)'na bakınız. Önceki araştırmacılar familyanın Spathelioideae ve geniş Rutoideae alt familyaları halinde yeniden olası bir sınıflandırma önerisi sunmuşlardır (Bayer ve ark., 2009; Groppo ve ark., 2012).

Rutaceae familyası, tipik olarak halkasal bir nektar salan diskli, aktinomorf, hipogin, 4-5 parça çiçeklere; şizokarp, üzüksü, hesperidyum veya drupa şeklinde meyveye; perikarp ve yapraklarda pellusit benekli glandlar şeklinde görünen, birçok dokuda ortaya çıkan, uçucu yağlar içeren salgı bezlerine sahip basit-bileşik yapraklı ve genellikle iki eşeyli ağaçlar, çalılar, sarılıcılar ve otsu bitkiler olmalarıyla ayırt edilirler (Simpson, 2012).

3.1.2. *Haplophyllum* A.Juss. cinsinin genel özellikleri

Haplophyllum A.Juss., Me'm. Mus. Paris 12: 464 (1825)

Çok yıllık kokulu, bazen tabanda odunsu ve yarı çalimsı, vejetatif kısımlar düz veya tümsek glandlı; gövde silindirik, tek ya da genellikle tabanda çok sayıda dallı, çiçek durumu altı dallı veya değil, tabanda verimsiz sürgünlü ya da sürgünsüz. **Yapraklar** basit, bazen 3 parçalı, nadiren iki parçalı, kenarları tam, saplı ya da sapsız, stipulsuz, üst yapraklar verimsiz sürgünlü. **Çiçeklenme durumu** dallı, simöz ve sıklıkla korimboz, gevşek ya da sıkı, birkaç ya da çok çiçekli, brakteli, brakteler az ya da çok sayıda. **Sepaller** 5, serbest ya da aşağı yukarı tabanda birleşmiş, şekilleri linear ya da genişçe deltoit-ovat, belirgin ya da belli belirsiz punktat glandlı, tüysüz, aşağı yukarı piloz tüylü. **Petal** 5, genişçe kordat-ovat ya da eliptik-oblong, tam, krem-beyaz ya da parlak sarı, bazen nadirde olsa merkezleri yeşilimsi ya da kırmızı karışımı, konkav, sırt kısmı belirgin omurgalı, tüysüz ya da piloz tüylü, glandular noktalı. **Stamen** 10, filamentler petallerden daha kısa, tabandan uca daralır ve genellikle taban kısmında aniden genişlemiş, eşit veya içteki 5 filament (antisepalous), bütün filamentler tüylü ve glandular, nadiren glabroz, serbest ya da monadelf; anterler eliptik-oblong, boyuna açılır. **Ginekum** kısa, ginofor kalın, etli disk şeklinde; ovaryum 3-5 lokuluslu, her lokulus (1-)2-4(-9) ovüllü, plasentasyon aksil, lokuller düz veya konveks glandular, sıklıkla apikal tüberküllü ya da apendajlı; stilus hemen hemen ginobasik, tüysüz ya da piloz; stigma globoz veya hemisferikal, açıkça 5-loblu. **Kapsül** subgloboz ya da uzunluğundan daha geniş, 3-5 lokulus, olgunlukta açılır, nadiren açılmaz, segmentler punktant ya da tuberkulat glandular, büyük apikal apendajların tüberkülleri ve boynuzumsu apendajlar kalıcı veya değil, tüysüz ya da piloz tüylü; tohumlar böbreksi, tohumlar üzerindeki çizgiler çoğunlukla enine, boyuna, kahverengi-gri ve siyah renkli (Townsend, 1986).

Haplophyllum cinsinin Uluslararası Botanik Adlandırma Koduna (2001) göre bitkiler alemindeki yeri aşağıdaki gibidir;

Alem (Regnum) Vegetabile (Bitkiler alemi)

Bölüm (Divisio) Spermatophyta (Tohumlu Bitkiler)

Sınıf (Classis) Dicotyledoneae (Çift Çenekliler)

Takım (Ordo) Sapindales

Aile (Familia) Rutaceae

Cins (Genus) *Haplophyllum*

3.1.2.1. *Haplophyllum sahinii* Tugay & Ulukuş

Tip:—TURKIYE. C4 Konya; Çumra, Apasaraycık-Apa Köyü arası, 1090 m, 37°22. N, 32°28. E, 18 Haziran 2014, *O.Tugay* 9266 & *D.Ulukuş*, KNYA Herb. No: 26.908 (Holotype: KNYA).

Bitki çok yıllık, 8-18 cm, tabandan dallanmış, çok sayıda dik gövdeli ve verimsiz sürgünler var ya da yok; gövde basit, açık sarımsı yeşil renkli, çok kısa stipit glandlı tüylü ve ara ara patent-fleksuoöz beyaz tüylü, çok sayıda sarımsı punktat glandlı. **Yapraklar** yoğun, bazen gövde ortalarında birbirini örten, bazen lanseolat ya da eliptik lanseolat, 6-9 x 3-4 mm (gövde orta yapraklar), akut uçlu, taban yaprakları daha küçük ve birbirini örten, gövde de birbirine benzeyen karışık tüylü, çok sayıda küçük koyu renkli punktat glandlı, brakteler 4-5 × 1-1.5 mm. **Çiçeklenme durumu** bazen yoğun, korimboz, çiçek sayısı 1-4 (-5) cm çapında, karışık tüyle kaplı, çok sayıda punktat glandlı; brakte, linear ya da linear-lanseolat. **Sepaller** deltoit-ovat, serbest, akut ya da akuminat, yeşil, 2-2.5 x 1-1.5 mm, özellikle kenar boyunca uzun beyaz tüylü, yalnızca ışıktta görülen birkaç küçük glandlı. **Petaller** 6-8 x 3.5-4 mm, açık sarı, obovat, klavat, klav1-1.5 mm, tüysüz, çok glandlı fakat küçük, klav 1-1.5 mm. **Filamentler** alt yarısında genişlemiş, tabandan uca daralır, serbest, 2.5-3 mm, 2/3'üne kadar uzun beyaz tüylü, küçük az sayıda glandlı; anterler krem, oblong, 1.25-1.75 mm. **Ovaryum** 5 segmentli, uzun beyaz tüylü, konveks glandlı, her bir segmentin dış kısmından çıkan konik uç apendajlı, lokuller; 2 ovüllü; stilus ince tüysüz, 1.5-2 mm. **Kapsül** olgunlukta açılır, 2.5-3 x 4-5 mm, yoğun beyaz villoz, belirgin dik akut uç apendajlı; tohumlar siyah, böbrek şeklinde, 1.25-1.75 x 1-1.15 mm, genişçe boyuna aralıklı ve anastomoz (Şekil 3.1).

Lokalite Kayıtları: C4 Konya: Çumra, Apasaraycık-Apa Köyü arası, 1080 m, 14 Haziran 2002, *O.Tugay* 2658 (KNYA); Çumra, Apasaraycık-Apa Köyü arası, 1090 m, 28 Haziran 2013, *O.Tugay* 14.115 & *E.Karahisar* (KNYA Herb. No: 28.388) (Şekil 3.2).

Çiçeklenme zamanı: Haziran

Olgun meyve: Temmuz - Ağustos

Yetiştirme ortamı: Kayalık alanlar

Yetiştirme yüksekliği: 1080-1100 m

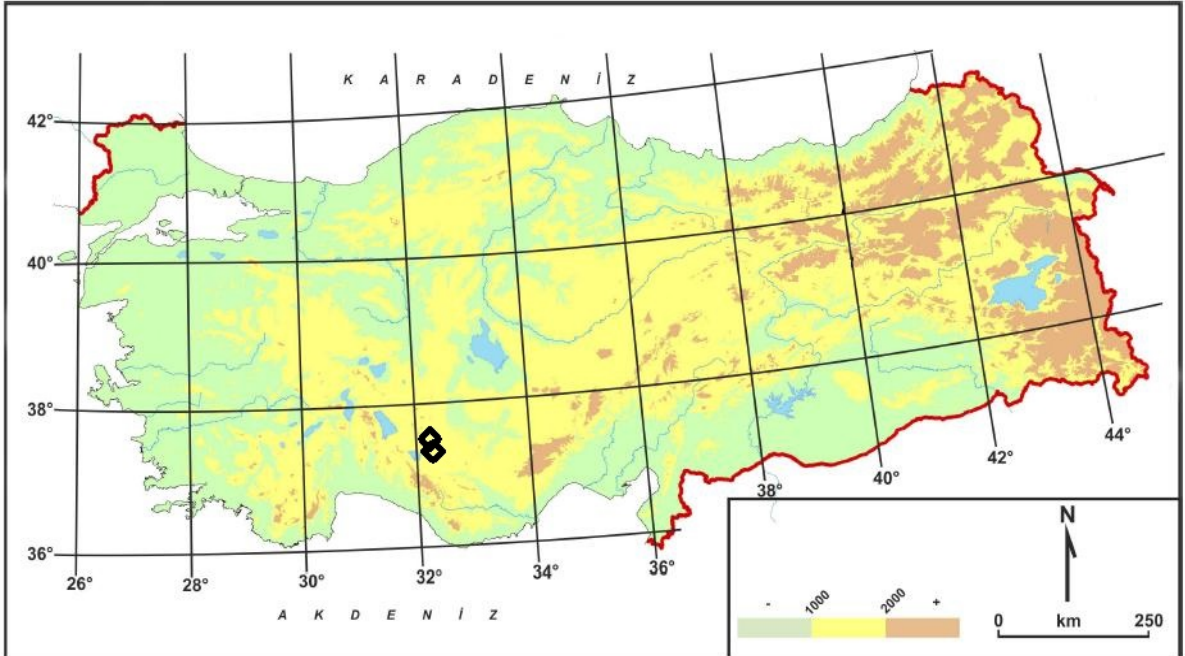
Endemizm durumu ve yayılışı: Konya ili endemiği.

Tehlike kategorisi: EN

Fitocoğrafik bölge: İran-Turan elementi (Tugay ve Ulukuş, 2017).



Şekil 3.1. *Haplophyllum sahinii* genel görünüm (Foto: Dr. Osman Tugay)



Şekil 3.2. *Haplophyllum sahinii* taksonunun Türkiye'deki yayılışı

3.1.2.2. *Haplophyllum vulcanicum* Boiss. & Heldr.

Tip: In monte Karadagh-Lycaoniae June 1845, Heldreich 922 (ED, K, P, W, isotip).

Bitki çok yıllık, 8-25 cm, tabandan dallanmış, çok sayıda dik gövdeli, verimsiz sürgünler var ya da yok; gövde çiçek durumu altında dallanma yok, soluk sarımsı yeşil renkli, kısa saplı glandlı tüylü ve uzun dik eğik tüylü, çok sayıda sarımsı punktat glandlı. **Yapraklar** yoğun, lanseolat ya da ovat-lanseolat, 9-14 x 6-9 mm (gövde orta yapraklar), akut uçlu, saplı glandlı ve dik-eğik tüylü, çok sayıda küçük koyu renkli punktat glandlı, brakteler 6-8 x 2-3 mm. **Çiçeklenme durumu** sıkı, çiçek sayısı 5-25, 1.5-6.5 cm çapında, uzun dik-eğik tüylü, çok sayıda punktat glandlı; brakte, lanseolat ya da yapraksı. **Sepaller** deltoit-ovat ya da lanseolat 1-3 x 0.75-1.5 mm, serbest ya da tabanda birleşik, akuttan küt uçluya beyaz uzun tüylü, küçük glandlı, kenarları düz meyvede kalıcı. **Petaller** 8-11 x 4-5 mm, krem-beyaz, oblong-ovat, belirgin omurgalı değil, tüysüz, çok sayıda küçük glandlı, beyaz, kurduğunda sırt kısmında koyu çizgili değil, klav 2-2.5 mm. **Filamentler** dar, alt yarısında genişlemiş, tabandan uca darılır, serbest, 4.5-5.5 mm, 2/3'üne kadar beyaz tüylü, küçük az sayıda glandlı; anterler oblong, 1.5 2 mm. **Ovaryum** 5 segmentli, yoğun beyaz yünsü tüylü, konveks glandlı, her bir segmentin tabanından çıkan linear uç apendajlı, lokuller 2 ovüllü; stilus ince tüysüz, 2.5 mm. **Kapsül** olgunlukta açılır, 3.5-4 x 6-7 mm, tüylü, çubuk şeklinde ince silindirik glandlı, içe doğru kıvrık akut uç apendajlı; tohumlar siyah kahverengi, böbrek şeklinde, 2-2.25 x 1-1.5 mm, enine çizgili, tohum üzerindeki oluklar çizgilerden geniş (Townsend, 1967; Tugay ve Ulukuş, 2017) (Şekil 3.3).

Lokalite Kayıtları: B5 Niğde: Aksaray, Ihlara, kayalık yerler, *Thymus* stepi, 1220 m, 17.05.1989, *M.Vural* 4577 (GAZI); C4 Konya: Karapınar erozyon sahası bölgesi, 1000-1100 m, 13.06.1990, *Z.Aytaç* 3119 (GAZI!); Karapınar, step, 980 m, 21.07.2012, *D.Ulukuş* 1491 & *O.Tugay* (KNYA); Karapınar Erozyon Sahası, kumlu step, 1020 m, 22.07.2012, *O.Tugay* 7.741 & *D.Ulukuş* (KNYA); Karadağ, 06 1845, Heldreich 922 (isotip, K, G); Karaman: Karadağ, kumlu step, 1200 m, 15.06.2014, *O.Tugay* 9.614 & *D.Ulukuş* (KNYA); Karaman: Karadağ, kumlu step, 1200 m, 28.06.2014, *O.Tugay* 14.366 & *E.Karahisar* (KNYA Herb. No: 28.389). C5 Konya: Ereğli, 1350 m, Siehe 92 (K); Ereğli, 1300 m, 20.06.1998, Siehe 135 (K) (Şekil 3.4).

Çiçeklenme zamanı: Mayıs-Haziran

Olgun meyve: Temmuz

Yetiştirme ortamı: Step, taşlık alanlar, kireçli topraklar

Yetiştirme yüksekliği: 980-1380 m

Endemizm durumu ve yayılışı: Endemik. Türkiye’de İç Anadolu Bölgesi’nde yayılış göstermektedir.

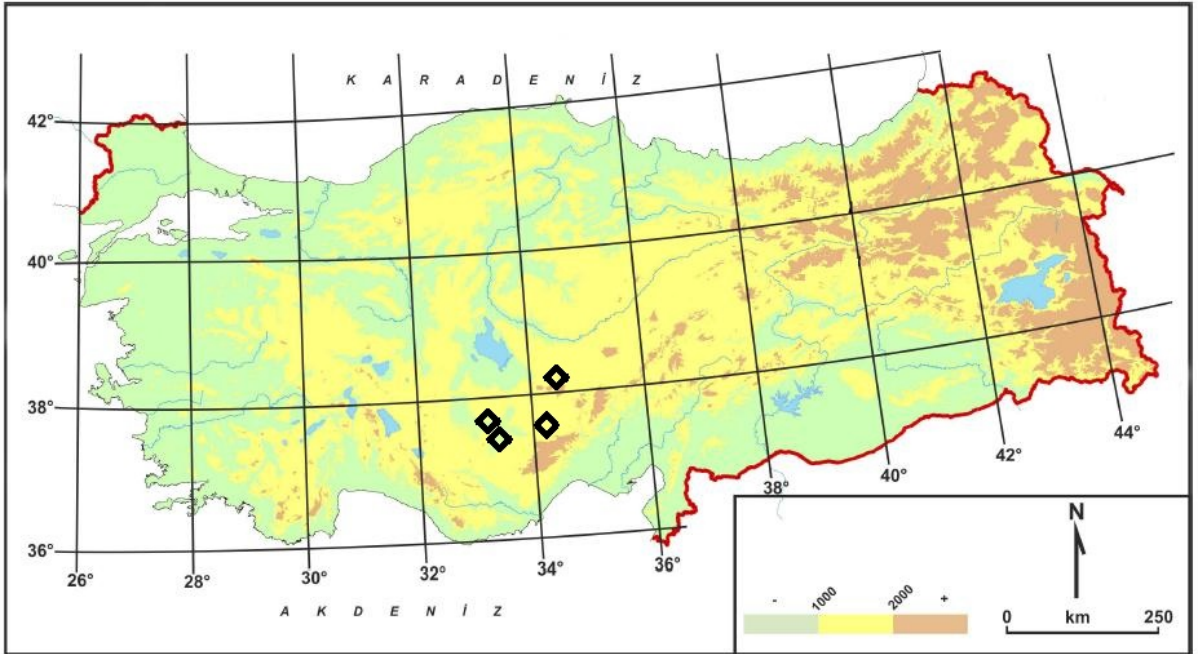
Tehlike kategorisi: VU (Ekim ve ark., 2000); VU (IUCN, 2001; Nature ve ark., 2001; IUCN, 2014).

Fitocoğrafik bölge: İran-Turan elementi (Davis, 1970)





Şekil 3.3. *Haplophyllum vulcanicum* genel görünüm (Foto: Dr. Osman Tugay)



Şekil 3.4. *Haplophyllum vulcanicum* taksonunun Türkiye'deki yayılışı

3.2. *Haplophyllum* Türlerinin Etnobotanik Bulguları

Sudan'da tüm hastalıkların bitkisi olarak adlandırılan *Haplophyllum* (Raissi ve ark., 2016)'un Türkiye'de 18 taksonunun bulunduğu (Tugay ve Ulukuş, 2017), ülkemizde halk arasında bilinen bir kullanılışları olmamasına karşın, bu cinsin bazı türlerinin Sudan ve diğer Afrika ülkeleri ile Moğolistan'da halk hekimliğinde antipiretik olarak ve tümör tedavisinde kullanıldıkları (Bessonova ve ark., 1984), ayrıca infüzyon ve dekoksiyonu halinde de antispazmodik ve karminatif amaçlarla yararlanıldığı ilgili bazı kaynaklarda belirtilmiştir (Al-Shamma ve ark., 1979; Mohamed ve ark., 1996).

Haplophyllum tuberculatum türleri İran-Turan kökenlidir ve şu anda Doğu Anadolu, Gobi çölü, Sina Yarımadası, Tien Shan, Altay dağ aralıkları, Lübnan, Ürdün, İsrail, Filistin, Suriye, İran, Kuzey Irak, Afganistan, Pakistan, Hindistan ve Orta Asya'da mevcuttur (Salvo ve ark., 2011). Yerel adı 'tafar'dır; Bununla birlikte, Muscat, El-Sharqiya ve diğer illerde "senan" olarak bilinir (Ghazanfar ve Al-Al-Sabahi, 1993). Bu bitkinin Arapça'da ortak isimleri 'sazab, zeita, kheisa ve mesaika'dır.

Haplophyllum tuberculatum'un toprak üstü organları ateş düşürücü, gaz giderici ve dekojenstan olarak geleneksel tedavide kullanılır. Yapraklar ve gövdeler harici olarak kulak ve göz problemlerinin tedavisinde uygulanır. Böcek ve sinek ısırıklarından korunmak için gövdenin özü deriye sürülür. Ayrıca alerjik rinit tedavisinde, antispazmodik ve antifatulent olarak kullanılır (Ghazanfar ve Al-Al-Sabahi, 1993). Umman'da ateş, mide sancıları, bağırsak solucanları, sıtma ve kırıklara karşı geleneksel olarak kullanılır (Ünver ve ark., 2012).

H. tuberculatum bazı jinekolojik tedavilerde, sıtmada ve romatoit artrite karşı kullanılır (Al-Yahya ve ark., 1992).

Haplophyllum villosum kullanımını Suudi Arabistan'da romatoit artrit, sıtma ve kadın hastalıklarını iyileştirdiği rapor edilmiştir (Al-Yahya ve ark., 1992).

Haplophyllum tuberculatum yerel olarak doğumda spazmolitik olarak ve bağırsak solucanlarını tedavi etmek için kullanılır (Ali ve Mohamed, 1992).

Arazi çalışması sırasında yöre halkıyla röportaj yaparak, çiçek açma aşamasındaki *Haplophyllum telephioides*'in toprak üstü kısımlarının, Sivas ilinin bazı bölgelerindeki influenzaya karşı mikrop öldürücü olarak kullanıldığını kaydedilmiştir (Tekin ve Eruygur, 2016).

Haplophyllum tuberculatum baş ağrısı, artrit, cilt rengi bozukluklarında, suyunun siğil kaldırılmasında, paraziter hastalıklar ve diğer enfeksiyonlar da geleneksel tedavi olarak kullanılır (Al-Burtamani ve ark., 2005). Ayrıca sinir sistemi, ateş ve kısırlık tedavisinde kullanılır (Said ve ark., 2002).

Haplophyllum türleri Sudan ve diğer Afrika ülkeleri ile Moğolistan'da halk hekimliğinde deri hastalıklarında, siğil ve uçuklarda, mide ve diş ağrılarında kullanılmaktadır (Bessonova ve ark., 1989). Ayrıca bazı türler testis kanseri tedavisinde kullanılmaktadır (Sompheary ve ark., 2008).



3.3. *Haplophyllum sahinii* ve *H. vulcanicum* Türleri Üzerinde yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Tez hazırlık aşamasında yapılan literatür taramalarında tez konusunu oluşturan *Haplophyllum* cinsi ile ilgili bugüne kadar ülkemizde ve dünyada pek çok fitokimyasal çalışmalar ve bazı aktivite çalışmaları yapıldığı görülmüştür. Tez materyallerinden biri olan *Haplophyllum sahinii* türü üzerinde yapılmış bir tane yeni tür olarak yayınlandığı botanik çalışma olup, fitokimyasal çalışma ise hiç yapılmamıştır.

Haplophyllum vulcanicum türünden Gözler ve arkadaşları tarafından vulkanin adlı bir β -karbolin alkaloidi izole edilmiştir (Gözler ve ark., 1996b).

Haplophyllum vulcanicum türünden Gözler ve arkadaşları tarafından 6 adet lignan yapısında bileşikler olan (-) -haplomirfolol, (-) -haplomirfolin, (-) -kusunokinin, (-) -siringarezinol, difillin ve (-) -tuberkulatin, 5 adet furokinolin alkaloidi, diktamnin, γ -fagarine, haplopin, robustin ve skimmianin ile 2 kumarin türevi; skopoletin ve umbelliferon izole edilmiştir (Gözler ve ark., 1996a).

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Materyal

Laboratuvar çalışmalarında bitkisel materyal olarak kullanılan *Haplophyllum sahinii* ve *H. vulcanicum* türlerine ait örnekler danışman hocam Prof. Dr. Osman TUGAY ile beraber Konya'nın farklı bölgelerinden toplanmış ve teşhis edilmiştir. Teşhis edilen türler Selçuk Üniversitesi KNYA Herbaryumunda muhafaza edilmektedir.

4.2. Yöntem

4.2.1. Ekstrelerin hazırlanması

Tez materyallerini oluşturan *Haplophyllum sahinii* ve *H. vulcanicum* türlerinin kök ve toprak üstü kısımları ayrı ayrı gölgede kurutulmuş ve materyaller toz edilmiştir. Daha sonra toz edilen örnekler (20 g – 60 g) üzerine etanol (250 ml) eklenerek bitki örnekleri iki gün boyunca oda sıcaklığında maserasyona bırakılmıştır. Süre sonunda filtre kağıdından süzülen organik çözücüler, alçak basınç altında 45°C su banyosu kullanılarak evaporatörde kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen ekstrelerin verimleri (a/a) hesaplanmış ve daha sonra aktivite deneylerinde kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır. Türlerle ait % ekstre verimleri (a/a) Çizelge 5.2.'de verilmektedir.

4.2.2. *Haplophyllum sahinii* ve *H. vulcanicum* türlerinde kolinesteraz ve tirozinaz inhibisyonu tayini

4.2.2.1. Asetilkolinesteraz (AChE) enzim inhibisyonu

AChE inhibitör aktivite Ellman ve ark. tarafından geliştirilen, modifiye edilmiş spektrofotometrik Ellman yöntemi kullanılarak ölçülmüştür (Ellman ve ark., 1961). Enzim kaynağı olarak elektrikli yılan balığı AChE'ı (Sigma, EC 3.1.1.7) kullanılırken, substrat olarak asetiltiyokolin iyodür (Sigma, ABD), 5,5'-Ditiyo-bis(2-nitrobenzoik) asit (DTNB, Sigma, ABD) ise renklendirici madde olarak kullanılmıştır.

Hazırlanan numuneler tartılarak etanolde (% 75) çözülmüş ve örneklerden hareketle final konsantrasyonları 200 µg/mL olacak şekilde dilüsyonlar hazırlanmıştır.

Deney protokolüne göre; 96 kuyucuklu mikroplaktaki bütün kuyucuklara ilk önce 140 µL 0,1 M fosfat tamponu çok kanallı mikropipet (Eppendorff) ile konulmuştur. Daha sonra 96 kuyucuklu mikroplağın ilk 4 ve son 8 kuyucuğu kontrol

olarak ayrılmıştır. Bu ayrılan kuyucuklara kontrol olarak kullanılan 20 µl etanol yine mikropipet (Eppendorf) yardımıyla eklenmiştir. Hazırlanmış olan örneklerden 20'şer µl, her örnek 4 paralel olacak şekilde geriye kalan kuyucuklara ilave edilmiştir. AChE enzim çözeltisinden 20 µL bütün kuyucuklara eklendikten sonra mikroplaklar 10 dakika 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda mikroplaktaki tüm kuyucuklara 10 µL DTNB çözeltisi, hemen arkasından 10 µL 0,4 mM substrat çözeltisinden (asetiltiyokolin iyodür) eklenmiştir. Mikroplaklar 412 nm dalga boyunda 96 kuyucuklu ELISA mikroplak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Örneklerin % AChE inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen % inhibisyonların ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A₁= Örnek çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

Sonuçlar Softmax PRO 4.3.2.L.S bilgisayar programı ile değerlendirilmiştir.

4.2.2.2. Bütirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyonu

BChE inhibitör aktivite ölçümünde AChE enzim inhibisyonu ölçümünde (4.2.2.1) verilen yöntemin aynısı uygulanmıştır (Ellman ve ark., 1961). Enzim kaynağı olarak at serum bütirilkolinesterazı (Sigma, EC 3.1.1.8) kullanılırken, substrat olarak bütiriltiyokoliniklorür (Sigma, ABD), renklendirici olarak ise DTNB (Sigma, ABD) kullanılmıştır.

Uygulanan deney yöntemi AChE enzim inhibisyonu yöntemi ile aynı olup, tek fark burada enzim olarak BChE, substrat olarak bütiriltiyokoliniklorür kullanılmış olmasıdır. Örneklerin % BChE inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen % inhibisyonların ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A₁= Örnek çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 412 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

4.2.2.3. Tirozinaz (TYR) enzim inhibisyonu

TYR enzim inhibisyonu Masamoto ve diğçerleri tarafından geliştirilen L-DOPA'nın (Sigma, ABD) substrat olarak kullanıldığı spektrofotometrik bir yöntemle tayin edilmiştir (Masamoto ve Kubo, 1980; Lee ve ark., 2009). Substratın enzim ile reaksiyonu sonucu oluşan dopakromun absorbansının 492 nm dalga boyunda ölçülmesi yöntemin esasını oluşturmaktadır. Yönteme göre, 96 kuyucuklu mikroplağa 10 µL örnek çözeltisi veya DMSO eklenmiştir. Ardından 80 µL 67 mM fosfat tamponu (pH 6,8) ve 30 µL 5 mM L-DOPA ilave edilmiştir. 37 °C'de 10 dk inkübasyonun ardından 30 µL mantar kaynaklı tirozinaz (Sigma, EC 1.14.18.1) enzim solüsyonu eklenmiştir. 20 dk daha inkübasyondan sonra 492 nm'de absorbans ELISA mikroplak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) ölçülmüştür. Referans olarak alfa-kojik asit, kontrol olarak ise dimetilsülfoksit (DMSO) kullanılmıştır. Örneklerin % TYR inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen % inhibisyonların ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A1= Örnek çözeltilerinin 492 nm dalga boyundaki absorbansı

A2= Kontrol çözeltilerinin 492 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

5.1. Ekstre Verimine Ait Sonuçlar

Haplophyllum sahinii ve *H. vulcanicum* örneklerinden hareketle hazırlanan etanollü ekstrelerin % verimleri (a/a) Çizelge 5.1. de verilmektedir.

Çizelge 5.1.:*H. sahinii* ve *H. vulcanicum* örneklerinden elde edilen ekstrelerin % verimleri (a/a)

Ekstreler		% Verim (a/a)
<i>Haplophyllum sahinii</i> O.Tugay -14.115 & E.Karahisar	Kök	4,54
	Gövde	7,3
	Çiçek	9,5
<i>Haplophyllum vulcanicum</i> O. Tugay -14.366 & E. Karahisar	Kök	3,73
	Gövde	7,26
	Çiçek	7,76

5.2. *H. sahinii* ve *H. vulcanicum* Ekstrelerinin Kolinesteraz Enzim İnhibisyonu Tayinine Ait Sonuçlar

5.2.1. AChE enzim inhibisyonuna ait sonuçlar

Tez materyallerini oluşturan *H. sahinii* ve *H. vulcanicum* örneklerinden elde edilen etanollü ekstrenin 200 µg/mL final konsantrasyonda AChE inhibisyonuna ait bulgular Çizelge 5.2. de verilmektedir.

Çizelge 5.2.:*H. sahinii* ve *H. vulcanicum* örneklerinden elde edilen ekstrelerin AChE inhibitör etkileri (% İnhibisyon±S.S*)

Ekstreler		AChE Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon ± S.S.*) 2000 µg/mL**
<i>Haplophyllum sahinii</i> O.Tugay -14.115 & E.Karahisar	Kök	34,85 ± 0,58
	Gövde	17,90 ± 3,84
	Çiçek	16,63 ± 3,29
<i>Haplophyllum vulcanicum</i> O.Tugay -14.366 & E.Karahisar	Kök	50,71 ± 5,50
	Gövde	36,05 ± 3,96
	Çiçek	18,68 ± 4,45
Referans	Galantamin	92,14 ± 2,49

*Standart sapma, ** Stok konsantrasyon

5.2.2. Bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonuna ait sonuçlar

Tez materyallerini oluşturan *H. sahinii* ve *H. vulcanicum* örneklerinden elde edilen etanollü ekstrenin 200 µg/mL final konsantrasyonda BChE inhibisyonuna ait bulgular Çizelge 5.3. de verilmektedir.

Çizelge 5.3.: *H. sahinii* ve *H. vulcanicum* örneklerinden elde edilen ekstrelerin BChE inhibitör etkileri (% İnhibisyon±S.S*)

Ekstreler		BChE Enzim İnhibisyonu (%İnhibisyon ± S.S.) 2000 µg/mL**
<i>Haplophyllum sahinii</i> O.Tugay -14.115 & E.Karahisar	Kök	53,01 ± 2,68
	Gövde	73,02 ± 0,85
	Çiçek	75,54 ± 0,38
<i>Haplophyllum vulcanicum</i> O.Tugay -14.366 & E.Karahisar	Kök	51,05 ± 5,76
	Gövde	79,05 ± 4,34
	Çiçek	69,71 ± 3,50
Referans	Galantamin	81,93 ± 2,52

*Standart sapma, ** Stok konsantrasyon

5.2.3. TYR enzim inhibisyonuna ait sonuçlar

Tez materyallerini oluşturan *H. sahinii* ve *H. vulcanicum* örneklerinden elde edilen ekstrenin DMSO'da çözülmesiyle elde edilen solüsyonların 133,33 µg/mL final konsantrasyonda tirozinaz inhibisyonuna ait bulgular Çizelge 5.4.'de verilmektedir.

Çizelge 5.4.: *H. sahinii* ve *H. vulcanicum* örneklerinden elde edilen ekstrelerin TYR inhibitör etkileri (% İnhibisyon ± S.S*)

Ekstreler		TYR Enzim İnhibisyonu (%İnhibisyon ± S.S.) 2000 µg/mL**
<i>Haplophyllum sahinii</i> O.Tugay -14.115 & E.Karahisar	Kök	3,60 ± 1,27
	Gövde	30,68 ± 1,19
	Çiçek	34,41 ± 0,83
<i>Haplophyllum vulcanicum</i> O.Tugay -14.366 & E.Karahisar	Kök	1,88 ± 0,76
	Gövde	6,87 ± 1,76
	Çiçek	25,19 ± 1,62
Referans	α-Kojik asit	89,71 ± 0,54

*Standart sapma, ** Stok konsantrasyon

Yapılan literatür taramalarında *H. sahinii* ve *H. vulcanicum* türleri için herhangi bir AChE/BChE ve TYR enzim inhibisyon çalışması yapılmadığı görülmüştür. İlk kez tarafımızca türlere ait AChE/BChE ve TYR enzim inhibisyon çalışması yapılmıştır.

Rutaceae familyasına ait diğer türler üzerinde yapılan AChE inhibisyon aktivite çalışmaları incelendiğinde, *Ruta graveolens* bitkisinden hazırlanan metanol ekstresinin 100 mg/mL konsantrasyonda AChEI aktivitesi % 39 olarak bulunmuştur (Adsersen ve ark., 2006). Elde ettiğimiz bulgular ile kıyaslandığında, *H. vulcanicum* kökünden hazırlanan etanol ekstresinin 2 mg/mL konsantrasyonda AChE enzimi üzerine % 50.71 inhibisyon ile daha yüksek aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Ruta chalepensis ve *R. montana* türlerinin yaprak ve gövde ekstresinden elde edilen etanol ve dekoksasyon ekstrelerinin AChE inhibisyon etkisine bakıldığında *R. chalepensis*'in yaprak etanol ekstresinin gövde etanol, yaprak ve gövde dekoksasyonuna göre daha etkili olduğu IC₅₀ değerinin 12 ±1.1 olarak tespit edilmiştir. *R. montana*'nın gövde etanol ekstresi yaprak etanol, yaprak ve gövde dekoksasyonuna göre daha etkili olduğu IC₅₀ değerinin 52 ± 0.4 olarak tespit edilmiştir (Khadhri ve ark., 2017). Çalışmamız neticesinde elde ettiğimiz sonuçlarla karşılaştırıldığında bu iki *Ruta* türünden elde edilen ekstrelerin daha etkili olduğu görülmüştür.

Ruta graveolens türünden hazırlanan metanol ve su ekstrelerinin 400 mg/mL konsantrasyonda BChE inhibisyon etkisi sırasıyla % 29 ve % 32.2, AChE inhibisyon etkisi sırasıyla % 73.8 ve % 80'dir (Talić ve ark., 2014). Deneylerimizin sonucu karşılaştırıldığında tez materyallerimizin *R. graveolens* türünden elde edilen ekstrelerden daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Citrus hassaku kabuğundan elde edilen etanol ekstresinin TYR inhibisyon IC₅₀ değeri 4.7 mg/ml olarak tespit edilmiştir (Itoh ve ark., 2009). Bizim elde ettiğimiz sonuçlarla karşılaştırıldığında, *Citrus hassaku* kabuğunun etanol ekstresi 2mg/mL konsantrasyonunda % 24 inhibisyon gösterirken, *H. sahinii* çiçek ve gövde ekstresi sırasıyla % 30,68 ve % 34,41 TYR inhibisyon göstermiştir, *H. vulcanicum*'a ait çiçek ekstresi ise % 25,19 olarak bulunmuştur. Sonuçlarımız bu çalışma ile kıyaslandığında, *Haplophyllum* ekstresinin özellikle çiçek ekstresinin iyi bir TYR inhibisyon aktivitesine sahip olduğu görülmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bitkiler içerdikleri biyoaktif bileşikler sebebiyle ilaç adayı moleküllerin bulunmasında önemli bir hedef olarak görülmekte ve dünyada bu konuda yoğun araştırmalar yapılmaktadır.

Mevcut çalışmada *Haplophyllum sahinii* ve *H. vulcanicum* türlerinin çiçek, gövde ve köklerinden elde edilen etanol ekstralarının AChE/BChE ve TYR inhibisyon aktivitesi ELISA mikropak okuyucu kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde AChE inhibitör aktivitesi *Haplophyllum vulcanicum*'un, *H. sahinii* türüne göre daha etkili olduğu gözlenmiştir. BChE ve TYR inhibitör aktivite deneylerinde ise *H. sahinii*'nin, *H. vulcanicum* türüne göre daha aktif olduğu tespit edilmiştir.

Haplophyllum sahinii türünün çiçek, gövde ve kökleri elde edilen ekstraların enzim inhibisyon aktiviteleri karşılaştırıldığında AChE inhibisyon değeri kök ekstresinde (%34,85 ± 0,58); BChE (%75,54 ± 0,38) ve TYR (%34,41 ± 0,83) inhibisyon değerleri ise çiçek ekstresinde en yüksek bulunmuştur.

Haplophyllum vulcanicum türünün çiçek, gövde ve kökleri elde edilen ekstraların enzim inhibitör aktiviteleri karşılaştırıldığında AChE inhibisyon değeri kök ekstresinde (% 50,71 ± 5,50); BChE inhibitör değeri gövde ekstresinde (% 79,05 ± 4,34) ve TYR inhibisyon değeri çiçek ekstresinde (% 25,19 ± 1,62) ise en yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında, Türkiye'de yetişen ve üzerinde herhangi bir fitokimyasal ve biyoaktivite yönünden çalışma yapılmamış *Haplophyllum sahinii* ve daha önce biyoaktivite çalışması yapılmamış *H. vulcanicum* türlerinden hazırlanan ekstraların AChE, BChE ve TYR enzim inhibitör aktiviteleri ortaya çıkarılmıştır. Bitkilerin AChE, BChE ve TYR enzim inhibisyonu ilk defa tarafımızdan tayin edilmiştir.

Bu çalışmada; *Haplophyllum sahinii* ve *Haplaphyllum vulcanicum* türlerinde düşükten orta dereceye kadar AChE TYR inhibisyonu tespit edilmesine rağmen, yüksek AChE inhibitör etkiye sahip olmaları nedeniyle bu iki türün de AH'nın semptomlarını azaltmada etkili ve klinikte kullanılan ilaç grubunun etki mekanizması olan yeni AChE inhibitörlerinin keşfedilmesi açısından önemli bir doğal kaynak oldukları kanaatine varılmıştır. *Haplophyllum villosum* türü ile yapılan fitokimyasal araştırmalar sırasında bitkinin toprak üstü kısımlardan; yeni bir 4,8-diaril-3,7-dioksobisiklo- (3,3,0) -oktan tipi

lignan eudesmin A(1) ile birlikte bilinen dört bileşik-eudesmin (2), haplamin (3), umbelliferone (4) ve skopetin (5) (Parhoodeh ve ark., 2011), *H. suaveolens* türünde ise yine toprak üstü organlarından flindersin, γ -fagarin ve kokusaginın alkaloidlerinin tespit edilip izole edilmesi tarafımızdan çalışılan bitkilerde de alkaloid ve kumarin türevlerinin olabileceği kanaatine varılmıştır. Birçok alkaloid ve kumarin türevinin yüksek kolinesteraz inhibitör etkisi bildirildiği için, bu türlerde etkiden sorumlu bileşiklerin de alkaloid veya kumarin türevleri olacağı tahmin edilmektedir. Tezden sonraki planlanan diğer çalışmalar, her iki türde de özellikle AChE inhibisyonundan sorumlu bileşiklerin ortaya çıkarılması yönünde devam edecektir.



KAYNAKLAR

- Adams, R. L., Craig, P. L. ve Parsons, O. A., 1984, Neuropsychology of Dementia, *Neurolog. Clinical*, 4 (2), 387-405.
- Adsersen, A., Gauguin, B., Gudiksen, L. ve Jäger, A. K., 2006, Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity, *Journal of ethnopharmacology*, 104 (3), 418-422.
- Aisen, P. S. ve Davis, K. L., 1997, The Search for Disease-Modifying Treatment for Alzheimer's Disease, *Neurology*, 48, 35-41.
- Al-Burtamani, S. K. S., Fatope, M. O., Marwah, R. G., Onifade, A. K. ve Al-Saidi, S. H., 2005, Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Oman, *Journal of ethnopharmacology*, 96 (1-2), 107-112.
- Al-Shamma, A., Al-Douri, N. A. ve Phillipson, J. D., 1979, Alkaloids of *Haplophyllum tuberculatum* from Iraq, *Phytochemistry*, 18 (8), 1417-1419.
- Al-Yahya, M. A., Al-Rehaily, A. J., Ahmad, M. S., Al-Said, M. S., El-Ferally, F. S. ve Hufford, C. D., 1992, New alkaloids from *Haplophyllum tuberculatum*, *Journal of Natural Products*, 55 (7), 899-903.
- Ali, M. ve Mohamed, A., 1992, Pharmacological Investigation of *Haplophyllum tuberculatum*, *International journal of pharmacognosy*, 30 (1), 39-45.
- Arnold, S. E. ve Kumar, A., 1993, Reversible Dementias, *Medical Clinics of North America*, 77 (1), 215-225.
- Bachman, D., Wolf, P. A., Linn, R., Knoefel, J., Cobb, S. J., Belanger, A., D'agostino, R. ve White, L., 1992, Prevalence of dementia and probable senile dementia of the Alzheimer type in the Framingham Study, *Neurology*, 42 (1), 115-115.
- Bachurin, S., 2003, Medicinal chemistry approaches for the treatment and prevention of Alzheimer's disease, *Medicinal Research Reviews*, 23 (1), 48-88.
- Barrett, F. M., 1984, Wound-healing phenoloxidase in larval cuticle of *Calpodex ethlius* (Lepidoptera: Hesperidae), *Canadian journal of zoology*, 62 (5), 834-838.
- Bartolini, M., Bertucci, C., Cavrini, V. ve Andrisano, V., 2003, β -Amyloid aggregation induced by human acetylcholinesterase: inhibition studies, *Biochemical pharmacology*, 65 (3), 407-416.
- Bayer, R. J., Mabblerley, D. J., Morton, C., Miller, C. H., Sharma, I. K., Pfeil, B. E., Rich, S., Hitchcock, R. ve Sykes, S., 2009, A molecular phylogeny of the orange subfamily (Rutaceae: Aurantioideae) using nine cpDNA sequences, *American Journal of Botany*, 96 (3), 668-685.
- Bessonova, I., Batsuren, D. ve Yunusov, S. Y., 1984, Alkaloids Of *Haplophyllum-Dauricum*, *KHIMIYA PRIRODNYKH SOEDINENII* (1), 73-76.
- Bessonova, I., Kurbanov, D. ve Yunusov, S. Y., 1989, Components of *Haplophyllum ramosissimum*, *Chemistry of Natural Compounds*, 25 (1), 39-40.
- Bores, G. M., Huger, F. P., Petko, W., Mutlib, A. E., Camacho, F., Rush, D. K., Selk, D. E., Wolf, V., Kosley, R. ve Davis, L., 1996, Pharmacological evaluation of novel Alzheimer's disease therapeutics: acetylcholinesterase inhibitors related to

- galanthamine, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 277 (2), 728-738.
- Brufani, M., Filocamo, L., Lappa, S., Maggie, A. ve 1997, New acetylcholinesterase inhibitors, *Drugs Future*, 22, 397-411.
- Cummings, J. L. ve Benson, D. F., 1992, *Dementia: a clinical approach*, Butterworth-Heinemann, p.
- Davis, P. H., 1970, *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, *Edinburgh University Press*, 3.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z. ve Adıgüzel, N., 2000, *Red Data Book of Turkish Plants (Peridophyta and Spermatophyta)*, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, p.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V. ve Featherstone, R. M., 1961, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical pharmacology*, 7 (2), 88-95.
- Engler, A. ve Prantl, K. A. E., 1898, *Die natürlichen Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigeren Arten, insbesondere den Nutzpflanzen, unter Mitwirkung zahlreicher hervorragender Fachgelehrten begründet*, W. Engelmann, p.
- Estermann, S., Daepf, G.-C., Cattapan-Ludewig, K., Berkhoff, M., Frueh, B. E. ve Goldblum, D., 2006, Effect of oral donepezil on intraocular pressure in normotensive Alzheimer patients, *Journal of Ocular Pharmacology & Therapeutics*, 22 (1), 62-67.
- Forette, F. ve Boller, F., 2000, Alzheimer Hastalığında İlaç Geliştirilmesi: Tarihçesine Bakış ve Geleceğine İlişkin Öngörüler, In: *Alzheimer Hastalığının Farmakoterapisi* Eds: Gauthier, S., *İstanbul: Yelkovan Yayıncılık*, p. 1-15.
- Franssen, M. C., Steunenberg, P., Scott, E. L., Zuilhof, H. ve Sanders, J. P., 2013, Immobilised enzymes in biorenewables production, *Chemical Society Reviews*, 42 (15), 6491-6533.
- Ghazanfar, S. A. ve Al-Al-Sabahi, A. M., 1993, Medicinal plants of northern and central Oman (Arabia), *Economic Botany*, 47 (1), 89-98.
- Giacobini, E., 1995, Cholinesterase inhibitors. From preclinical studies to clinical efficacy in Alzheimer disease, *Enzymes of the cholinesterase family*, 463-469.
- Gillbro, J. ve Olsson, M., 2011, The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents—existing and new approaches, *International journal of cosmetic science*, 33 (3), 210-221.
- Gözler, B., Rentsch, D., Gözler, T., Ünver, N. ve Hesse, M., 1996a, Lignans, alkaloids and coumarins from *Haplophyllum vulcanicum*, *Phytochemistry*, 42 (3), 695-699.
- Gözler, T., Gözler, B., Linden, A. ve Hesse, M., 1996b, Vulcanine, a β -carboline alkaloid from *Haplophyllum vulcanicum*, *Phytochemistry*, 43 (6), 1425-1426.
- Groppo, M., Kallunki, J. A., Pirani, J. R. ve Antonelli, A., 2012, Chilean *Pitavia* more closely related to Oceania and Old World Rutaceae than to Neotropical groups:

- evidence from two cpDNA non-coding regions, with a new subfamilial classification of the family, *PhytoKeys* (19), 9.
- Ito, S., 2003, A chemist's view of melanogenesis, *Pigment Cell & Melanoma Research*, 16 (3), 230-236.
- Itoh, K., Hirata, N., Masuda, M., Naruto, S., Murata, K., Wakabayashi, K. ve Matsuda, H., 2009, Inhibitory effects of Citrus hassaku extract and its flavanone glycosides on melanogenesis, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32 (3), 410-415.
- IUCN, 2001, IUCN Red List Categories, In: Version 3.1. Prepared by the IUCN Species Survival Commission. IUCN, Eds, *Gland Switzerland and Cambridge*, p.
- IUCN, 2014, IUCN Red List Categories, In: Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria, Eds, *Gland Switzerland and Cambridge*, p.
- Kamakshi, R., 2012, Fairness via formulations: a review of cosmetic skin-lightening ingredients, *Journal of cosmetic science*, 63 (1), 43-54.
- Kawas, C. H., 1997, Epidemiology of Alzheimer's Disease: Dementia Update. American Academy of Neurology 49th Annual Meeting. Boston, American Academy of Neurology Yayıncılık 23-28.
- Khadhri, A., Bouali, I., Belkhir, S., Mokded, R., Smiti, S., Falé, P., Araújo, M. E. M. ve Serralheiro, M. L. M., 2017, In vitro digestion, antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of two species of Ruta: *Ruta chalepensis* and *Ruta montana*, *Pharmaceutical biology*, 55 (1), 101-107.
- Kubitzki, K., Kallunki, J. A., M., D. ve Wilson, P. G., 2011, Rutaceae, In: Flowering Plants. Eudicots, Eds: Kubitzki, K.: Springer-Verlag Berlin Heidelberg Yayıncılık, p. 276–356.
- Lee, S., Sandesh, S., Shruti, S. ve Seo, S., 2009, Potent antielastase and antityrosinase activities of *Astilbe chinensis*, *American journal of pharmacology and toxicology*, 4 (4), 127-129.
- Linnet, M., 2000, Evolution of cancer epidemiology, *Epidemiol Rev*, 22, 35–56.
- Maeda, K. ve Fukuda, M., 1991, In vitro effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 42 (42), 361-368.
- Marshall, M. R., Kim, J. ve Wei, C., 2000, Enzymatic browning in fruits, vegetables and sea foods.
- Masamoto, Y. ve Kubo, M., 1980, Inhibitory effect of Chinese crude drugs on tyrosinase, *Planta medica*, 40 (12), 361-365.
- Matsuura, R., Ukeda, H. ve Sawamura, M., 2006, Tyrosinase inhibitory activity of citrus essential oils, *Journal of agricultural and food chemistry*, 54 (6), 2309-2313.
- Mayer, A. M., 1986, Polyphenol oxidases in plants-recent progress, *Phytochemistry*, 26 (1), 11-20.
- Mehndiratta, M. M., Kuntzer, T. ve Pandey, S., 2008, Anticholinesterase treatment for myasthenia gravis, *Cochrane Database Syst Rev*, 1.

- Mendes, E., Perry, M. d. J. ve Francisco, A. P., 2014, Design and discovery of mushroom tyrosinase inhibitors and their therapeutic applications, *Expert opinion on drug discovery*, 9 (5), 533-554.
- Mohamed, A., Ali, M., Bashir, A. ve Salih, A., 1996, Influence of *Haplophyllum tuberculatum* on the cardiovascular system, *International journal of pharmacognosy*, 34 (3), 213-217.
- Nature, I. U. f. C. o., Resources, N., Commission, I. S. S., Nature, I. U. f. C. o. ve Commission, N. R. S. S., 2001, IUCN Red List categories and criteria, IUCN, p.
- Navarro, F., Suarez-Santiago, V. ve Blanca, G., 2004, A new species of *Haplophyllum* A. Juss.(Rutaceae) from the Iberian Peninsula: evidence from morphological, karyological and molecular analyses, *Annals of botany*, 94 (4), 571-582.
- Orhan, I. ve Khan, M., 2014, Flavonoid derivatives as potent tyrosinase inhibitors—A survey of recent findings between 2008-2013, *Current topics in medicinal chemistry*, 14 (12), 1486-1493.
- Parhoodeh, P., Rahmani, M., Hashim, N. M., Sukari, M. A. ve Cheng Lian, G. E., 2011, Lignans and other constituents from aerial parts of *Haplophyllum villosum*, *Molecules*, 16 (3), 2268-2273.
- Parvez, S., Kang, M., Chung, H. S., Cho, C., Hong, M. C., Shin, M. K. ve Bae, H., 2006, Survey and mechanism of skin depigmenting and lightening agents, *Phytotherapy Research*, 20 (11), 921-934.
- Raissi, A., Arbabi, M., Roustakhiz, J. ve Hosseini, M., 2016, *Haplophyllum tuberculatum*: an overview, *Journal of HerbMed Pharmacology*, 5.
- Said, O., Khalil, K., Fulder, S. ve Azaizeh, H., 2002, Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region, *Journal of ethnopharmacology*, 83 (3), 251-265.
- Salvo, G., Manafzadeh, S., Ghahremaninejad, F., Tojibaev, K., Zeltner, L. ve Conti, E., 2011, Phylogeny, morphology, and biogeography of *Haplophyllum* (Rutaceae), a species-rich genus of the Irano-Turanian floristic region, *Taxon*, 60 (2), 513-527.
- Selinheimo, E., 2008, Tyrosinase and laccase as novel crosslinking tools for food biopolymers, VTT Technical Research Centre of Finland, p.
- Seo, S.-Y., Sharma, V. K. ve Sharma, N., 2003, Mushroom tyrosinase: recent prospects, *Journal of agricultural and food chemistry*, 51 (10), 2837-2853.
- Serraino, D., Fratino, L., Gianni, W., Campisi, C., Pietropaolo, M., Trimarco, G. ve Marigliano, V., 1998, Epidemiological aspects of cutaneous malignant melanoma, *Oncology reports*, 5 (4), 905-914.
- Simpson, M. G., 2012, Plants Systematics, In: Çiçekli Bitkilerin Çeşitliliği ve Sınıflandırılması: Ödikotlar, Eds: Aytaç, Z., p. 368.
- Slominski, A., Fishcher, T. W., Zmejowski, M. A., Wortsman, J., Semak. I., Zbytek, B., Slominski, R. M. ve Tobin, J. D., 2005, On the role of melatonin in skin physiology and pathology, *Endocrine*, 27 (2), 137-147.
- Soltani, M. ve Khosravi, A. R., 2005, A new species of *Haplophyllum* (Rutaceae) from SW Iran, *Willdenowia*, 35 (2), 293-298.

- Sompheary, E., Giacometti, S., Ciccolini, J., Akhmedjanova, V. ve Aubert, C., 2008, Cytotoxic effects of haplamine and its major metabolites on human cancer cell lines, *Planta medica*, 74 (10), 1265-1268.
- Talić, S., Dragičević, I., Čorajević, L. ve Martinović Bevanda, A., 2014, Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of extracts from medicinal plants, *Bull Chem Technol Bosnia Herzegovina*, 43, 11-14.
- Tekin, M. ve Eruygur, N., 2016, The structural studies on the medicinal plant *Haplophyllum telephioides*, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26 (5), 544-552.
- Terry, R. D. ve Katzman, R. K., 1983, Senile dementia of the Alzheimer type, *Annals of neurology*, 14 (5), 497-506.
- Townsend, C. C., 1967, *Haplophyllum* A.Juss. , In: Flora of Turkey and The Aegean Islands, Eds: Davis, P. H., *Edinburgh: Edinburgh University*, p. 496–506.
- Townsend, C. C., 1986, Taxonomic revision of the genus *Haplophyllum* (Rutaceae).
- Tugay, O. ve Ulukuş, D., 2017, *Haplophyllum sahinii* (Rutaceae), a new species from Central Anatolia (Turkey), *Phytotaxa*, 297 (3), 265-272.
- Ünver, N., Kaya, G. İ., Sarıkaya, B., Önür, M. A., Özdemir, C., Demirci, B. ve Baser, K. H. C., 2012, Composition of the essential oil of endemic *Haplophyllum megalanthum* Bornm. from Turkey, *Records of Natural Products*, 6 (1), 80.
- Wilkinson, D., Passmore, A., Bullock, R., Hopker, S., Smith, R., Potocnik, F., Maud, C., Engelbrecht, I., Hock, C. ve Ieni, J., 2002, A multinational, randomised, 12-week, comparative study of donepezil and rivastigmine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease, *International journal of clinical practice*, 56 (6), 441-446.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Esengül KARAHİSAR
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara / 01.01.1993
Telefon : 0.332.2233455
e-mail : esenkarahisar@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Pursaklar Anadolu Meslek Lisesi, ANKARA	2010
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi, Selçuklu/KONYA	2015
Yüksek Lisans	: S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Selçuklu/KONYA	-

YABANCI DİLLER

İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

- Karahisar, E., Tugay, O., Orhan, İ., Şenol, F.S. 2018. 'Türkiye'de Yetişen *Haplophyllum sahinii* ve *Haplaphyllum vulcanicum* Türlerinin Antikolinesteraz Aktivitesinin Tayini' 1st International Congress on Plant Biology, 10-12 Mayıs, Konya.
- Karahisar, E., Tugay, O., Ulukus, D., Şenol, F.S., Orhan, İ. 2018. 'Research on Tyrosinase Inhibitory Effects of Endemic *Haplaphyllum vulcanicum* (Rutaceae) Growing in Turkey', The 4th International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB2018), 03-06 Temmuz 2018, Kiev, Ukrayna.