

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HALK İLACI VE GIDA OLARAK KULLANILAN
PRUNUS MAHALEB L. TOHUM VE MEYVE
KABUKLARINDA FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Ecz. Zühal GÜVEN

**Farmakognozi Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2020**

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında karşılaştığım her türlü problemin çözümüne katkılar sağlayan, kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli hocam sayın Prof. Dr. Arif Ahmet BAŞARAN'a;

Tez maddelerimin NMR analizlerinin yapılması, yapı tayini ve yorumlanması sırasında yardımlarını esirgemeyen ve her ihtiyaç duyduğumda kıymetli zamanını bana ayıran, sevgili hocam Prof. Dr. İclal SARAÇOĞLU'na,

Tez çalışmalarım boyunca uygun ortam ve şartların oluşmasını sağlayan, desteklerini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Funda N. YALÇIN'a,

Elde ettiğim maddelerin, NMR analizlerine katkı sağlayan Prof. Dr. Akito NAGATSU (Kinjo Gakuin University/Japonya)'ya, Kütle spektroskopisi analizini gerçekleştiren Prof. Dr. Erhan PALASKA'ya (H. Ü., Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Abd) ve Prof. Dr. Bekir SALİH' e (H. Ü., Fen Fakültesi, Fiziko kimya Abd),

Melanoma hücrelerini temin ettiğim Dr. Neslihan TAŞLI (Yeditepe Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik) ve Prof. Dr. Azmi YERLİKAYA' ya (Kütahya Sağlık Bilimleri Ü., Tıbbi Biyoloji Abd.),

Ekstrelerimin eser element analizini yapan Prof. Dr. Ebubekir BAKAN ve Araş. Gör. Neslihan YÜCE' ye (Atatürk Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Abd),

A2058 hücre hattı üzerinde sitotoksikite çalışmalarında destek olan Dr. Laurent PICOT ' a (La Rochelle University/Fransa),

Hücre kültürü çalışmalarımda desteğini gördüğüm Dr. Ecz. Zeynep DOĞAN' a ve Dr. Ecz. Ömer BAYAZEİD'e, tez çalışmalarım sırasındaki yardımları için Dr. Ecz. Murat KUTLUAY'a ve Dr. Ecz. Nadire ÖZENVER'e, bu sürecin başından beri her zaman yanımda olan Aslıhan GÜR'e,

Tez çalışmasını destekleyen Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (Proje No: THD-2017-15620) ve ÖYP Koordinatörlüğü' ne,

Doktora eğitimim süresince huzurlu bir çalışma ortamında pek çok güzelliği paylaştığım, birlikte olmaktan mutluluk duyduğum Farmakognozi ve F.Botanik ailesindeki tüm öğretim üyeleri ve yardımcılarına,

Hayatımın her alanında olduğu gibi bu süreçte de daima yanımda olan, bugünlere ulaşmamı sağlayan, varlıklarından güç aldığım değerli ANNEM, BABAM ve ABİLERİM'e,

ve hayat arkadaşım, kıymetlim FATİH GÜVEN'e,

en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Zühal GÜVEN

ÖZET

Güven Z., Halk İlacı ve Gıda Olarak Kullanılan *Prunus mahaleb* L. Tohum ve Meyve Kabuklarında Farmakognozik Araştırmalar. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozik Programı Doktora Tezi, Ankara, 2020. Tıbbi bitkiler arasında yer alan *Prunus mahaleb* L. (syn. *Cerasus mahaleb* L. Mill.) mahlep, mehlep, idris agac, pis agac olarak bilinmekte olup özellikle tohumları gıda olarak tüketilmekte ve diğer ülkelere ihraç edilmektedir. Tez çalışmamızda *P. mahaleb* tohum ve meyve kabukları üzerinde ayrıntılı fitokimyasal ve biyolojik etki çalışmaları yapılmıştır. Meyve kabuklarından (endokarp) elde edilen sulu metanollü ekstreden çeşitli kromatografik metotlarla gerçekleştirilen izolasyon çalışmaları sonucunda 15 saf bileşik elde edilmiş, 1 tanesi doğa için yeni olmak üzere 11 tanesinin yapısı (2-O- β -glukopiranoziloksi-4-metoksi-hidrosinamik asit, *cis*-melilotozit, dihidromelilotozit, *trans*-melilotozit, 2-O- β -glukoziloksi-4-metoksi *trans*-sinamik asit, 2-hidroksi-4-metoksi hidrosinamik asit, gallik asit, kersetin-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil)- β -glukopiranozit, kemferol-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil)- β -glukopiranozit, β -sitosterol 3-O- β -glukopiranozit ve ursolik asit) ileri spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. *P. mahaleb* tohum ve meyve kabuklarından (enkokarp) elde edilen ekstre, fraksiyon ve saf bileşiklerin mantar tirozinaz enzim inhibisyonları incelenmiştir. Tohum ve kabuk etilasetatlı fraksiyonlar ile bazı saf bileşiklerin etkisinin oldukça yüksek olduğu bulunmuştur. Etkili bulunan sinamik asit türevi yapısındaki bileşiklerin enzim kinetiği incelenerek, inhibisyon tipleri ve enzime bağlanma sabitleri K_i hesaplanmıştır. Melanogeneze karşı etkilerini belirlemek için saf bileşiklerin spektrofotometrik yöntem kullanılarak B16F10 hücrelerindeki melanin içeriğine olan etkileri ve hücresel tirozinaz enzim inhibisyonu araştırılmış ve yapı-etki ilişkisi ortaya konmuştur. Ekstre ve fraksiyonların DPPH, NO, SO, ABTS radikallerine karşı süpürücü etkileri ile TEAC ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. L929 (fare fibroblast), B16F10 (fare melanoma), A2058 (insan melanoma) ve HeLa (insan servikal karsinoma) hücre hatları üzerinde sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Tüm yöntemlerde belirgin antioksidan etki gösteren ekstre ve fraksiyonlar, melanoma hücrelerine karşı konsantrasyona bağlı yüksek sitotoksik etki gösterirken, HeLa ve L929 hücrelerine karşı etki çok düşük bulunmuştur. Sonuçlar sitotoksik etkinin seçici olduğunu göstermiştir. Tez çalışmamız, yüksek etkili cilt beyazlatıcı özelliğe sahip bileşikleri içeren *P. mahaleb* meyve kabuklarının kozmetik endüstrisi için önemli potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, halen ciddi anlamda kullanılmayan mahlep kabuklarının tohumlardan sonra ekonomik olarak değer kazandıracak olması açısından önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Prunus mahaleb* L., Rosaceae, sinamik asit türevi bileşikler, antitirozinaz etki, enzim kinetiği, antioksidan etki, sitotoksik etki

Destekleyen kurumlar: H.Ü.B.A.B. Hızlı Destek (THD-2017-15620), ÖYP Koordinatörlüğü Tez Desteği

ABSTRACT

Güven Z., Pharmacognostical Investigations On the Seeds and Seed Kernels of *Prunus mahaleb* L. Used as Food and Folk Medicine, Hacettepe University, Graduate School of Health Sciences, Pharmacognosy Program, Doctor of Philosophy Thesis, Ankara, 2020. *Prunus mahaleb* L. (syn. *Cerasus mahaleb* L. Mill.), a member of medicinal plant kingdom, is known as mahlep, mehlep, idris ağac or pis agac and the seeds used as food and exported. In the present study, In our thesis, phytochemical and biological effects studies were carried out on *P. mahaleb* seed and seed kernels. The water:methanolic extract of the seed kernels (endocarp) applied to various chromatographic methods and as a result of the phytochemical studies 15 compounds were isolated, 1 of which is new, 11 compounds (2-*O*- β -glucopyranosyloxy-4-methoxy-hydrocinnamic acid, *cis*-mellilotoside, dihydromellilotoside, *trans*-mellilotoside, 2-*O*- β -glucosyloxy-4-methoxy- *trans*-cinnamic acid, 2-hydroxy-4-metoxy hydrocinnamic acid, gallic acid, quercetin-3-*O*-(2-*O*,6-*O*- α -dirhamnopyranoside)- β -glucopyranoside, kaempferol-3-*O*-(2-*O*,6-*O*- α -dirhamnopyranosyl)- β -glucopyranoside), β -sitosterol 3-*O*- β -glucopyranoside and ursolic acid) were elucidated by advanced spectroscopic methods. Fungi tyrosinase enzyme inhibitions of the extracts and fractions obtained from the seeds and seed kernels (endocarp) of *P. mahaleb* with those of the compounds isolated from the seed kernels only were investigated. The enzyme kinetics of some of the active cinnamic acid derivatives were studied and their inhibition types and the K_i values, showing the linkage of the enzyme, were calculated. In order to evaluate their effects towards melanogenesis, a spectroscopic method was chosen and melanine content in B16F10 cells and their cellular tirosinase enzyme inhibitions were investigated to clarify the structure-activity relations. The scavenger activities of the extracts and fractions against DPPH, NO, SO, ABTS radicals and antioxidant capacities by using TEAC ve CUPRAC methods were determined. Their cytotoxic activities were investigated by L929 (mouse fibroblast), B16F10 (Mouse melanoma), A2058 (human melanoma) ve HeLa (human cervical carsinoma) cell lines. The extracts and the fractions which have strong antioxidant activity, showed a high dose dependent toxicity to melanoma cells but no toxicity to HeLa and L929 cells. The results made clear the selectivity of the cytotoxicity activity. Our thesis study showed that *P. mahaleb* seed kernels containing high effective skin whitening compounds have significant potential for the cosmetic industry. These results are important in terms of the fact that mahaleb kernels, which are still not used seriously, will add value economically after the seeds.

Keywords: *Prunus mahaleb* L., Rosaceae, cinnamic acid derivatives, antityrosinase activity, enzyme kinetics, antioxidant activity, cytotoxicity.

Supporter Foundations: H.Ü.B.A.B. (Project No: THD-2017-15620), ÖYP (Teaching Staff Training Program)

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xvi
TABLolar	xx
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Botanik Bilgiler	5
2.1.1. Rosaceae Familyası	5
2.1.2. <i>Prunus</i> L. Cinsi	5
2.1.3. Yayılış ve Habitat	7
2.2. <i>Prunus</i> L. Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	9
2.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar	9
2.1.2. <i>Prunus</i> L. Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Etkileri	58
3. GEREÇ VE YÖNTEM	82
3.1. Fitokimyasal Çalışmalar	82
3.1.1. Bitkisel Materyal	82
3.1.2. Kromatografik Yöntemler	82
3.1.3. Ekstraksiyon Çalışmaları	89
3.1.4. Fraksiyonlandırma ve İzolasyon Çalışmaları	90
3.2. Biyolojik Etki Çalışmaları	94
3.2.1. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini	94
3.2.2. Hücresel Tirozinaz Enzim İnhibisyonu	95
3.2.3. Hücresel Melanin İçeriğinin Belirlenmesi	96
3.2.4. Ekstrelerdeki Eser Element Düzeyi Ölçümü	97
3.2.5. Tirozinaz Enzim Kinetiği	98
3.2.6. Antioksidan Kapasite Tayini	99

3.2.7. Sitotoksik Etki Tayini	103
3.3. Biyolojik Etki Çalışmaları ve Fitokimyasal Çalışmalarda Kullanılan Aletler	105
4. BULGULAR	106
4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular	106
4.1.2. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri	112
4.1.2. YBSK Çalışmalarına Ait Bulgular	201
4.2. Biyolojik Etki Çalışmalarına Ait Bulgular	202
4.2.1. Mantar Tirozinaz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular	202
4.2.2. Hücresel Melanin İçeriğinin Belirlenmesine Ait Bulgular	205
4.2.3. Hücresel Tirozinaz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular	206
4.2.4. Tirozinaz Enzim Kinetiğine Ait Bulgular	207
4.2.5. Antioksidan Etkinlik Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular	211
4.2.6. Sitotoksik Etki Çalışmalarına Ait Bulgular	221
5. TARTIŞMA	231
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	252
7. KAYNAKLAR	255
8. EKLER	
EK-1: <i>Prunus mahaleb</i> L.	
EK-2: Dijital Makbuz	
EK-3: Tez Çalışması Orjinallik Raporu	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

α-MSH	Melanosit Uyarıcı Hormon
Abs	Absorbans
ABTS	2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
Ac	Asetil
Ağ	Ağırlık
Ara	Arabinoz
A2058	Human Metastatic Malignant Melanoma
CD₃OD	Dötero Metanol
CH₃	Metil
CHCl₃	Kloroform
CH₃OH	Metanol
cm	Santimetre
¹³C NMR	¹³ C-Nuclear Magnetic Resonance
CO₂	Karbondioksit
COSY	Correlated Spectroscopy
CUPRAC	Cupric Reducing Antioxidant Capacity
d	Dublet
D₂O	Dötero Su
dd	Dublet Dublet
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	Dimetilsülfoksit

DEPT	Distortionless Enhancement By Polarization Transfer
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
ESI-MS	Electron Spray Ionization Mass Spectrometry
Et	Etil
EtOAc	Etil Asetat
Fr	Fraksiyon
g	Gram
Gal	Galaktoz
GIA	Küresel Endütri Analisti
Glu	Glukoz
gd	Geniş Dublet
gs	Geniş Singlet
HCl	Hidroklorik asit
HeLa	Human Cervix Adenocarcinoma
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HNO₃	Nitrik asit
¹H NMR	¹ H-Nuclear Magnetic Resonance
H₂O	Su
H₂SO₄	Sülfürik asit
Hz	Hertz
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi

J	Kenetlenme Sabiti
Kin	Kinik asit
KK	Kolon Kromatografisi
Ksi	Ksiloz
L929	Mouse Fibroblast Cell
L	Litre
LC-MS/MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
m	Multiplet
mM	Milimolar
μM	Mikromolar
M	Molar
Man	Mannoz
MA	Molekül Ağırlığı
Me	Metil
MEM	Minimum Essential Medium
MeOH	Metanol
mg	Miligram
MHz	Megahertz
Mol	Molekül
MTS	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3- karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum)
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür

ml	Mililitre
μl	Mikrolitre
μg	Mikrogram
μM	Mikromolar
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
nm	Nanometre
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NO	Nitrik Oksit
OBSK	Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi
OCH₃	Metoksil
OH	Hidroksil
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
PBS	Phosphate Buffered Saline
PİTK	Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi
ppb	Milyarda bir kısım
ppm	Milyonda bir kısım
Ram	Ramnoz
ROS	Reaktif Oksijen Türevleri
Rut	Rutinoz
s	Singlet
SO	Süper Oksit
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

UV	Ultra-violet
VSK	Vakumlu Sıvı Kromatografisi
YBSK	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
3. 1. <i>P. mahaleb'</i> in meyve kabuklarının sulu fraksiyonu üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	92
3.2. <i>P. mahaleb'</i> in meyve kabuklarının etilsetatlı fraksiyonu üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	93
4. 1. <i>P. mahaleb</i> tohum ve meyve kabuğu ekstresine ait İTK plağı	107
4.2. 2- <i>O</i> - β -glukopiranoziloksi-4-metoksi hidrosinamik asit'in ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , ^1H : 400 MHz)	116
4. 3. 2- <i>O</i> - β -glukopiranoziloksi-4-metoksi- hidrosinamik asit'in ^{13}C NMR ve DEPT spektrumu (CD_3OD , ^{13}C : 100 MHz)	117
4. 4 . 2- <i>O</i> - β -glukopiranoziloksi-4-metoksi-hidrosinamik asit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)	118
4.5. 2- <i>O</i> - β -glukopiranoziloksi-4-metoksi-hidrosinamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)	119
4. 6. 2- <i>O</i> - β -glukopiranoziloksi-4-metoksi-hidrosinamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)	120
4. 7. <i>cis</i> - Melilotozit' in ^1H NMRsSpektrumu (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)	125
4. 8. <i>cis</i> - Melilotozit'in ^{13}C NMR spektrumu (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)	126
4. 9. <i>cis</i> - Melilotozit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)	127
4. 10. <i>cis</i> -Melilotozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)	128
4. 11. <i>cis</i> -Melilotozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)	129
4. 12. Dihidromelilotozit' in ^1H NMR pektrumu (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)	134
4. 13. Dihidromelilotozit'in ^{13}C NMR ve DEPT spektrumları (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)	135
4. 14. Dihidromelilotozit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)	136
4. 15. Dihidromelilotozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)	137
4. 16. Dihidromelilotozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)	138
4. 17. <i>trans</i> -Melilotozit' in ^1H NMR spektrumu I (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)	143

4. 18.	<i>trans</i> -Melilotozit'in ^1H NMR spektrumu II (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)	144
4. 19.	<i>trans</i> -Melilotozit'in ^{13}C NMR ve DEPT spektrumu (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)	145
4. 20.	<i>trans</i> - Melilotozit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)	146
4. 21.	<i>trans</i> - Melilotozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)	147
4. 22.	<i>trans</i> - Melilotozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu I (HMBC)	148
4. 23.	<i>trans</i> - Melilotozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu II (HMBC)	149
4. 24.	2- <i>O</i> - β -glukoziloksi-4-metoksi <i>trans</i> -sinnamik asit'in ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)	154
4. 25.	2- <i>O</i> - β -glukoziloksi-4-metoksi <i>trans</i> -sinnamik asit'in ^{13}C NMR spektrumu (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)	155
4. 26.	2- <i>O</i> - β -glukoziloksi-4-metoksi <i>trans</i> -sinnamik asit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)	156
4. 27.	2- <i>O</i> - β -glukoziloksi-4-metoksi <i>trans</i> -sinnamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)	157
4. 28.	2- <i>O</i> - β -glukoziloksi-4-metoksi <i>trans</i> -sinnamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)	158
4. 29.	2-hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)	163
4. 30.	2-hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in ^{13}C NMR spektrumu (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)	164
4. 31.	2-hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)	165
4. 32.	2-Hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)	166
4. 33.	2- hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)	167
4. 34.	Gallik asit'in ^1H NMR spektrumu (D_2O , ^1H : 500 MHz)	171
4. 35.	Gallik asit'in ^{13}C NMR spektrumu (D_2O , ^{13}C : 125 MHz)	172
4. 36.	Kemferol-3- <i>O</i> -(2- <i>O</i> ,6- <i>O</i> - α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)	178
4. 37.	Kemferol-3- <i>O</i> -(2- <i>O</i> ,6- <i>O</i> - α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in ^{13}C NMR spektrumu (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)	179

4. 38.	Kemferol-3- <i>O</i> -(2- <i>O</i> , 6- <i>O</i> - α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)	180
4. 39.	Kemferol-3- <i>O</i> -(2- <i>O</i> ,6- <i>O</i> - α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)	181
4. 40.	Kemferol-3- <i>O</i> -(2- <i>O</i> ,6- <i>O</i> - α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)	182
4. 41.	Kersetin-3- <i>O</i> -(2- <i>O</i> ,6- <i>O</i> - α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)	184
4. 42.	Ursolik asit'in ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , ^1H : 500 MHz)	188
4. 43.	Ursolik asit'in ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , ^{13}C : 125 MHz)	189
4. 44.	Ursolik asit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)	190
4. 45.	Ursolik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)	191
4. 46.	Ursolik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)	192
4. 47.	β -sitosterol-3- <i>O</i> - β -glukopiranozit' in ^1H NMR spektrumu (DMSO, ^1H : 500 MHz)	196
4. 48.	β -sitosterol-3- <i>O</i> - β -glukopiranozit' in ^{13}C NMR spektrumu (DMSO, ^{13}C : 125 MHz)	197
4. 49.	β -sitosterol-3- <i>O</i> - β -glukopiranozit' in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)	198
4. 50.	β -sitosterol-3- <i>O</i> - β -glukopiranozit' in asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)	199
4. 51.	β -sitosterol-3- <i>O</i> - β -glukopiranozit' in asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)	200
4. 52.	<i>P. mahaleb</i> ekstrelerinin tirozinaz enzim inhibisyonu	202
4. 53.	Saf bileşiklerin B16F10 hücrelerinde melanin içeriği değişiminin kontrol grubu ile kıyaslanması	205
4. 54.	Saf bileşiklerin B16F10 hücreleri üzerinde hücrel tirozinaz enzim inhibisyonu	206
4. 55.	PM-1 kodlu bileşiğin Lineweaver-Burk eğrisi	207
4. 56.	PM-3 kodlu bileşiğin Lineweaver-Burk eğrisi	208
4. 57.	PM-6 kodlu bileşiğin Lineweaver-Burk eğrisi	208
4. 58.	PM-15 kodlu bileşiğin Lineweaver-Burk eğrisi	209

4. 59.	<i>P. mahaleb</i> ekstre ve fraksiyonlarının biyootografik yöntem ile DPPH radikal süpürücü etki tayini	211
4. 60.	<i>P. mahaleb</i> ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkileri	213
4. 61.	<i>P. mahaleb</i> ekstrelerinin NO radikalini süpürücü etkileri	215
4. 62.	<i>P. mahaleb</i> ekstrelerinin SO radikalini süpürücü etkileri	217
4. 63.	<i>P. mahaleb</i> tohum ekstre ve ana fraksiyonlarının L929 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi	222
4. 64.	<i>P. mahaleb</i> kabuk ekstre ve ana fraksiyonlarının L929 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi	222
4. 65.	<i>P. mahaleb</i> tohum ekstre ve ana fraksiyonlarının B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi	223
4. 66.	<i>P. mahaleb</i> kabuk ekstre ve ana fraksiyonlarının B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi	224
4. 67.	Sisplatin ve etopozit' in B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi	224
4. 68.	Kabuk etilasetat poliamit ana fraksiyonları; Fr. B, Fr. C ve Fr. D' nin B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi	226
4. 69.	<i>P. mahaleb</i> ekstrelerinin ve etilasetat poliamit ana fraksiyonlarının A2058 hücrelerine karşı sitotoksik etkileri	227
4. 70.	<i>P. mahaleb</i> tohum ekstre ve ana fraksiyonlarının HeLa hücrelerine karşı sitotoksik etkisi	228
4. 71.	<i>P. mahaleb</i> meyve kabuğu sulu ekstre ve ana fraksiyonlarının HeLa hücrelerine karşı sitotoksik etkisi	229
4. 72.	Sisplatin ve etopozit' in HeLa hücrelerine karşı sitotoksik etkisi	230
5. 1.	Aktif olan saf maddelerin izolasyon şeması	245
5. 2.	Tirozinaz enziminin yapısı	246
5. 3.	Tohum ve meyve kabuğu ekstre ve fraksiyonlarının Cu düzeyi ölçüm değerleri	247

TABLOLAR

Tablo		Sayfa
2. 1.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen flavonol ve flavonol glikozitleri-I	10
2. 2.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen flavonol ve flavonol glikozitleri-II	14
2. 3.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen flavonol ve flavonol glikozitleri-III	15
2. 4.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen flavon ve flavon glikozitleri- I	16
5. 5.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen flavon ve flavon glikozitleri- II	17
2. 6.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen flavanon ve flavanon glikozitleri	18
2. 7.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen dihidroflavonol ve dihidroflavonol glikozitleri	20
2. 8.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen izoflavonoit ve izoflavonoit glikozitleri	21
2. 9.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen flavan dimerleri	22
2. 10.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen antosiyanin ve antosiyanin glikozitleri	23
2. 11.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen proantosiyanidin yapısındaki bileşikler	24
2. 12.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen tanen yapısına sahip bileşikler	25
2. 13.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen kumarin ve kumarin glikozitleri	27
2. 14.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen kumarin yapısında bileşikler	27
2. 15.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen fenolik asitler ve glikozitleri-I	28
2. 16.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen basit fenolik asitler -II	30
2. 17.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen fenolik asitler ve glikozitleri-III	31
2. 18.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen fenolik asitler ve glikozitleri-IV	32
2. 19.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen feniletanoit esterleri- I	34
2. 20.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen feniletanoit esterleri- II	35
2. 21.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen lignan ve glikozitleri- I	37
2. 22.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen lignan ve glikozitleri- II	38
2. 23.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen lignan ve glikozitleri- III	38
2. 24.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen steroidal yapıdaki bileşikler-I	39
2. 25.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen steroidal yapıdaki bileşikler-II	41
2. 26.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen triterpen yapıdaki bileşikler-I	42
2. 27.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen triterpen yapıdaki bileşikler-II	45

2. 28.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen seskiterpen yapıdaki bileşikler-I	46
2. 29.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen seskiterpen yapıdaki bileşikler-II	47
2. 30.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen diğer bileşikler-I	49
2. 31.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen diğer bileşikler-II	50
2. 32.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen diğer bileşikler-III	51
2. 33.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen diğer bileşikler-IV	51
2. 34.	<i>Prunus</i> türlerinde tespit edilen diğer bileşikler-V	53
2. 35.	<i>Prunus</i> türlerinin sabit yağlarında tespit edilen bileşikler	54
2. 36.	<i>Prunus</i> türlerinin uçucu yağlarında tespit edilen bileşikler	56
2. 37.	<i>Prunus</i> türlerinin biyolojik etkileri (<i>in vitro</i> çalışmalar)	58
2. 38.	<i>Prunus</i> türlerinin biyolojik etkileri (<i>in vivo</i> çalışmalar)	69
2. 39.	<i>Prunus</i> türlerinin biyolojik etkileri (klinik çalışmalar)	74
4.1.	2-O- β -glukopiranoziloksi-4-metoksi hidrosinamik asit'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (CD_3OD , ^{13}C : 100 MHz, ^1H : 400 MHz)	115
4.2.	<i>cis</i> - Melilotozit' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri*(CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)	124
4. 3.	Dihidromelilotozit' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)	133
4. 4.	<i>trans</i> - Melilotozit' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)	142
4.5.	2-O- β -glukoziiloksi-4-metoksi <i>trans</i> -sinamik asit' in ^{13}C ve ^1H NMR Spektroskopik Değerleri* (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)	153
4.6.	2-hidroksi-4-metoksi hidrosinamik asit in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)	162
4.7.	Gallik asit'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (D_2O , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)	170
4. 8.	Kemferol-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri *(CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)	177
4. 9.	Kersetin-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)	183
4. 10.	Ursolik asit ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (CDCl_3 , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)	187
4. 11.	β -sitosterol-3-O- β -glukopiranozit' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (DMSO , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)	195

4. 12.	<i>P. mahaleb</i> kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon anafraksiyonlarının mantar tirozinaz enzim inhibisyonları	203
4. 13.	<i>P. mahaleb</i> kabuklarından izole edilen saf bileşiklerin mantar tirozinaz enzim inhibisyonları	204
4. 14.	Meyve kabuğu ekstralarının Cu düzeyi ölçüm değerleri	210
4. 15.	Tohum ekstralarının Cu düzeyi ölçüm değerleri	210
4.16.	<i>P. mahaleb</i> ekstralarının DPPH radikalini süpürücü etkileri	212
4.17.	<i>P. mahaleb</i> kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının dpph radikalini süpürücü etkileri	213
4.18.	<i>P. mahaleb</i> ekstralarının NO radikalini süpürücü etkileri	214
4.19.	<i>P. mahaleb</i> kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının NO radikalini süpürücü etkileri	214
4.20.	<i>P. mahaleb</i> ekstralarının SO radikalini süpürücü etkileri	216
4. 21.	<i>P. mahaleb</i> kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının SO radikalini süpürücü etkileri	216
4.22.	<i>P. mahaleb</i> ekstralarının ABTS radikalini süpürücü etkileri	218
4.23.	<i>P. mahaleb</i> kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının ABTS radikalini süpürücü etkileri	218
4.24.	Tohum ekstralarının TEAC değerleri	219
4.25.	Kabuk ekstralarının TEAC değerleri	219
4.26.	Poliamit kolon ana fraksiyonlarının TEAC değerleri	219
4. 27.	Tohum ekstralarının CUPRAC değerleri	220
4. 28.	Kabuk ekstralarının CUPRAC değerleri	220
4. 29.	Poliamit kolon ana fraksiyonlarının CUPRAC değerleri	220
4. 30.	<i>P. mahaleb</i> kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkileri	225
4. 31.	<i>P. mahaleb</i> kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının HeLa hücrelerine karşı sitotoksik etkileri	229
5.1.	<i>P. mahaleb</i> meyve kabuklarından elde edilen sinnamik asit türevi bileşikler	233
5.2.	<i>P. mahaleb</i> meyve kabuklarından elde edilen flavonol glikozitleri	236
5. 3.	<i>P. mahaleb</i> meyve kabuklarından elde edilen sitosterol glikoziti ve fenolik asit	236

5. 4.	<i>P. mahaleb</i> meyve kabuklarından elde edilen triterpen yapısındaki bileşik	237
5. 5.	Poliamid kolon ana fraksiyonlarının tirozinaz enzim inhibisyonu IC ₅₀ değerleri	239
5. 6.	Saf bileşiklerin tirozinaz enzim inhibisyonu IC ₅₀ değerleri	240
5. 7.	Saf bileşiklerin hücrel antitirozinaz etkileri	240
5. 8.	Aktif bileşiklerin Lineweaver-Burk eğrileri	242
5. 9.	Saf bileşiklerin enzim kinetiği sonuçları	243
5. 10.	Etkili bulunan sinamik asit türevi bileşikler	243
5. 11.	<i>P. mahaleb</i> tohum ve meyve kabuklarından elde edilen ekstre ve fraksiyonlara ait tüm antioksidan etki sonuçları	248
5. 12.	<i>P. mahaleb</i> kabuklarından elde edilen etilasetatlı fraksiyonun poliamid ana fraksiyonlarına ait tüm antioksidan etki sonuçları	249

1. GİRİŞ

Cilt beyazlatma bazı toplumlar için oldukça fazla önem arz eden ve kökeni yüzyıllar öncesine kadar uzanan çok eski bir uygulamadır. Hindistan, Çin, Japonya ve Kore gibi Asya ülkelerinde pürüzsüz ve beyaz bir cilt tonu güzellikle ilişkilendirilirken, Afrika'da insanlar, ciltlerini estetik, psikolojik, sosyolojik, politik ve ekonomik motivasyonlara kadar çeşitli nedenlerle beyazlatmaktadır. Bu amaçla kullanılan etkili bileşiklerin, cilt beyazlatıcı ürünlerdeki kullanımının yanı sıra cilt görünümünü düzeltici ve yaşlanma karşıtı ürünlerde de kullanımı mevcuttur. Bu durum cilt beyazlatma ürünlerini klinik ve kozmetik olarak öne çıkarmaktadır (1). Dünya nüfusunun yaklaşık % 15'inin cilt beyazlatıcı ürün kullandığı tahmin edilmekte ve Küresel Endüstri Analistlerine (GIA) göre 2024 yılına kadar cilt beyazlatmada kullanılan ürünlere ait pazarın dünya çapında yaklaşık 31.2 milyar ABD dolarına ulaşacağı öngörülmektedir (2).

Melanin cilt, saç ve göz renginin birincil belirleyicisidir ve zararlı ultraviyole radyasyonu, toksik ilaçlar ve kimyasallardan kaynaklanan strese karşı cildin korunmasında rol oynamaktadır. Cildi zararlı ışınlardan korumasına rağmen melanin pigmentinin aşırı derecede üretimi veya anormal dağılımı ciltte melazma, postenflamatuvar melanoderma, çil, lentigo, akne izleri ve yaşlılık lekeleri gibi hiperpigmentasyon problemlerine neden olmaktadır (3). Ayrıca tarım ve gıda endüstrisinde melaninin fazla üretiminden kaynaklanan enzimatik kararma, çok sayıda sebze ve meyvenin görünümünü olumsuz yönde değiştirmekte ve besin değerlerinin azalmasına neden olmaktadır. Tüm bunlar kozmetik ve gıda endüstrisinde, melanin üretimini inhibe eden ürünleri önemli bir yere taşımakta ve ekonomik değerlerinin artmasına sebep olmaktadır (2, 4, 5).

Tirozinaz enzimi, hayvanlarda pigmentasyondan sorumludur ve memelilerde melanogenezin düzenlenmesinde en önemli role sahiptir. Tirozinaz terimi substratı tirozinden köken almaktadır. İlk biyokimyasal araştırmalar, 1895 yılında *Russula nigricans* üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kesildiğinde ilk durumda eti kırmızı olan bu mantar havanın teması sonucunda zamanla koyulaşmıştır. Günümüzde memelilerle

oldukça benzer olan champignon mantarı *Agaricus bisporus*'tan çıkarılan enzim melanogenez çalışmaları için kullanılmaktadır. Bunlar dışında en iyi karakterize edilmiş başka tirozinaz kaynakları *Streptomyces glaucescens* ve *Neurospora crassa* mantarıdır (6).

Melanogenez yolağının inhibe edilmesinde en yaygın hedef, tirozinazın katalitik aktivitesinin doğrudan inhibisyonudur ve en sık kullanılan hipopigment ajanlar da tirozinaz enzim inhibitörleridir. Hidrokinon, arbutin, kojik asit, azelaik asit, L-askorbik asit, ellajik asit, traneksamik asit gibi birçok bileşik cilt beyazlatıcı ajanlar olarak kullanılmıştır. Ancak bu bileşikler çok fazla toksik yan etkilere sahiptir. Hidrokinonlar mutajeniktir ve kontakt dermatit, ciltte tahriş, geçici eritem, yanma, karıncalanma hissi, lökoderma gibi istenmeyen reaksiyonlar oluşturur. Arbutin doğal bir bileşiktir, tirozinazı inhibe ederek melanin sentezini azaltır veya inhibe eder. Doğal arbutin formları kimyasal olarak kararsızdır ve benzen metabolitlerine katabolize olan hidrokinon salınımı kemik iliği için potansiyel toksik etki oluşturmaktadır. L-Askorbik asit, ısıya duyarlıdır ve kolayca bozular. Elajik asit çözünürlük problemi nedeniyle zayıf biyolojik etki oluşturmaktadır. Kojik asitin ise karsinojenik ve diğer istenmeyen yan etkilere sahip olduğu bulunmuş ve bu nedenle kullanımına sınırlandırma getirilmiştir (2, 7). Tüm bu istenmeyen yan etkiler yeni tirozinaz inhibitörü bileşiklere olan ihtiyacı artırmaktadır. Bitkisel ekstre ve ekstrelerden izole edilen doğal saf bileşikler bu ihtiyacı karşılamak için iyi birer alternatiftir.

Prunus cinsi Rosaceae familyasının Prunoidea alt familyasına aittir ve gıda, ilaç endüstrisine büyük miktarda hammadde sağlayan önemli türleri içerisinde bulundurur. Bu türlerden biri olan *Prunus mahaleb* L. (syn. *Cerasus mahaleb* L. Mill.) mahlep, mehlep, idris agac, pis agac olarak bilinmekte olup Akdeniz, orta Avrupa, kuzey Afrika, orta ve batı Asya ülkelerinde yayılım göstermektedir. Bitkinin çeşitli kısımları birçok amaçla kullanılmaktadır.

Mahlep tohumları ülkemizde halk arasında kuvvet verici, cinsel gücü kuvvetlendirici, balgam söktürücü, idrar artırıcı, nefes darlığına karşı ve prostat bezi büyümesini önleyici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca meyve ve tohumlarından

diyabette ve gastrointestinal problemlerin giderilmesinde faydalanılmaktadır (8). Meyve kabukları Sudan'da çocuklarda görülen ishalde, Arap ülkelerinde ise sakinleştirici ve vazodilatör olarak kullanılmaktadır (9, 10).

Tıbbi bitkiler arasında yer alan *P. mahaleb* halk arasındaki kullanılışı yanında endüstriyel olarak da önemli bir yere sahiptir. Mahlep ve mahlepten elde edilen ürünler Almanya, Avustralya, ABD, Mısır, İsrail ve Yunanistan başta olmak üzere birçok ülkeye ihraç edilmekte ve bu nedenle ülke ekonomimize katkı sağlamaktadır (11). Tohumlar gıda endüstrisinde ekmek ve pasta sektöründe kullanılmakta, meyvelerinden hazırlanan alkollü içeceğinden iştah açıcı olarak yararlanılmaktadır. Fabrikalara gelen meyve kurutulduktan sonra kırılmakta, tohum (çekirdek) klasik eleklerle mekanik yolla kabuk kısmından ayrılarak toz edilmektedir. Ancak çoğu zaman çekirdek kabuktan iyi ayrılmamakta ve piyasada satılan mahlep içinde kabuk tozuna da rastlanmaktadır. *P. mahaleb* üzerinde yapılan literatür çalışmaları incelendiğinde tohum ve meyve kabukları üzerinde çok az çalışmaya rastlanmış ve özellikle kabuklar üzerindeki fitokimyasal çalışmalar ve biyolojik etki çalışmalarının çok kısıtlı olduğu görülmüştür. Buradan hareketle, meyve kabukları üzerinde fitokimyasal çalışmalar yürütülerek, kimyasal yapısı aydınlatılmak istenmiştir.

Tez bitkimizin de içinde bulunduğu *Prunus* türleri üzerinde yapılan literatür çalışmaları incelendiğinde, tirozinaz enzim inhibisyonunun araştırıldığı birçok ekstre ve bu ekstrelerden izole edilen saf maddelerin olduğu görülmüş, yine içerisinde bu türlere ait bitkilerin bulunduğu 400 civarı cilt beyazlatıcı ürün patenti bulunmuştur. *P. mahaleb'* in tek ya da karışım halinde bulunduğu herhangi bir patente rastlanmamış olması çalışmaya özgün bir değer katacağından, tohum ve meyve kabuklarından elde edilen ekstre, fraksiyon ve saf bileşiklerin antitirozinaz aktivitelerinin detaylı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Piyasada sıklıkla kullanılan cilt beyazlatıcı ajanların istenmeyen yan etkileri olduğu bilinmektedir. Bu çalışma ile elde edilen ekstre ve saf bileşiklerin sitotoksosite çalışmaları ile güvenle kullanılacak konsantrasyon aralıklarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

Reaktif oksijen türevleri (ROS) (süperoksit radikalleri, hidroksil radikalleri, nitrik oksit) tarafından başlatılan hücre içi ve hücre dışı oksidatif stres yaşlanma ve atipik pigmentasyon ile karakterizedir. UV, hücrelerde ROS oluşumunu arttırdığından, cilt yaşlanması ve pigmentasyon genellikle UV maruziyeti ile ilgili olarak tartışılmaktadır. Antioksidanların kullanımı, cildin UV ve diğer etmenlerden kaynaklanan yaşlanma ile ilgili semptomları önlemek için önemli bir yaklaşımdır (12, 13). Bu nedenle etkili bir cilt beyazlatıcı bileşik ya da ekstrenin, antioksidan aktivitesinin de yüksek olması ile daha anlamlı olacağı düşünülerek ekstre ve fraksiyonların antioksidan etkinliği belirlenecektir.

Bunların yanı sıra melanositlerin kontrolsüz çoğalması sonucu oluşan melanoma hücreleri üzerinde sitotoksik etki araştırılarak tirozinaz enzim inhibisyonu ile arasındaki bağlantıyı belirlemek amaçlanmıştır. Ayrıca melanoma dışında farklı bir kanser hücre serisine karşı da etki incelenerek ekstre ve fraksiyonların seçicilikleri test edilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Rosaceae Familyası

Otsu veya odunsu bazen dikenli. Yapraklar alternat, genellikle stipulalı, basit veya bileşik, sıklıkla kenarları dişli. Çiçek durumu çeşitli, ağaç ve çalılarda genellikle kısa sürgünler üzerinde. Çiçekler hermafrodit ya da tek eşeyli, aktinomorf, perigin ya da epigin. Sepaller 4-5 tane serbest, epikaliks var ya da yok. Petaller 4-5 tane, serbest ya da değil. Stamenler 1 ya da çok sayıda. Ovaryum üst ya da alt durumlu, 1 veya çok karpelli. Meyveler kuru ya da etli, reseptakulum ya da farklı formda hipantiyuma sahip, foliküllü, aken ya da drupa. Tohumlar genellikle endospermsiz (14).

2.1.2. *Prunus* L. Cinsi

Ağaç ya da çalı, nadiren yarıdikenli. Yapraklar düşücü, tomurcukta iç içe katlı. Çiçekler tek ya da demetler halinde, umbella ya da gevşek rasemoz. Sepal ve petaller 5 tane. Stamenler çok sayıda. Drupa etli ve usareli, açılmayan, üstü mum ile kaplı değil. Çekirdek küremsi ya da ovoid, pürüzsüz, pürüzlü ya da kabarcıklı.

***Cerasus* türlerine ait tayin anahtarı**

1. Çiçekler tek ya da çiftler çiftler; hipantiyum silindirik; stipulalar kalıcı
2. Çiçekler bariz saplı, saplar 20 mm'ye kadar **6. *microcarpa***
2. Çiçekler sapsız ya da hemen hemen sapsız, pediseller 2(-5) mm'den fazla değil
3. Yapraklar linear-lanseolat, 5-8 x genişliği kadar uzun; kenarları içe doğru kıvrık
4. Yapraklar tüysüz ya da beyaz-belirgin yumuşak tüylü; kaliks tübü sepallerden 3 kat uzun **4. *angustifolia***
4. Yapraklar bileteral gri-yumuşak tüylü; kaliks tübü sepallerden 2 kat daha uzun **5. *hippopbaeoides***
3. Yapraklar dar oblanseolat \pm orbikular 4 kata kadar geniş; kenarlar alta doğru kıvrık değil ya da çok belirgin değil

5. Toprak üstüne yatık çalılar; yapraklar genişliğinin 1-2,5 katı kadar uzun

5. Yapraklar \pm yoğun kısa yumuşak tüylü ya da üstü az-sık yumuşak tüylü; stilusun alt yarısı ve ovaryumun tepesi kısa yumuşak tüylü

2. *brachypetala* var. *bornmuelleri*

6. Yaprakların üstü seyrek olarak kısa yumuşak tüylü; ovaryum tüysüz ya da stilusun tabanında hafifçe tüylü

1. *prostrata*

5. Dik çalı; yapraklar genişliğinin 2,5-4 katı kadar uzun

3. *incana*

1. Çiçekler az- çiçek durumu umbella ya da gevşek rasemoz; hipantiyum çan şeklinde; stipulalar düşücü

7. Çiçekler gevşek rasemoz; yapraklar \pm orbikulardan geniş ovata kadar şekillerde

9. *mahaleb*

7. Çiçekler az- çiçek durumu umbella; yapraklar eliptikten obovat-oblonga kadar şekillerde

8. Çiçek durumunda taşıyıcı yaprak yok; involukrum pulları geri kıvrık

7. *avium*

8. Çiçek durumunda küçük taşıyıcı yaprak var; involukrum pulları dik

8. *vulgaris*

***Cerasus mahaleb* var *mahaleb* (L.) Miller**

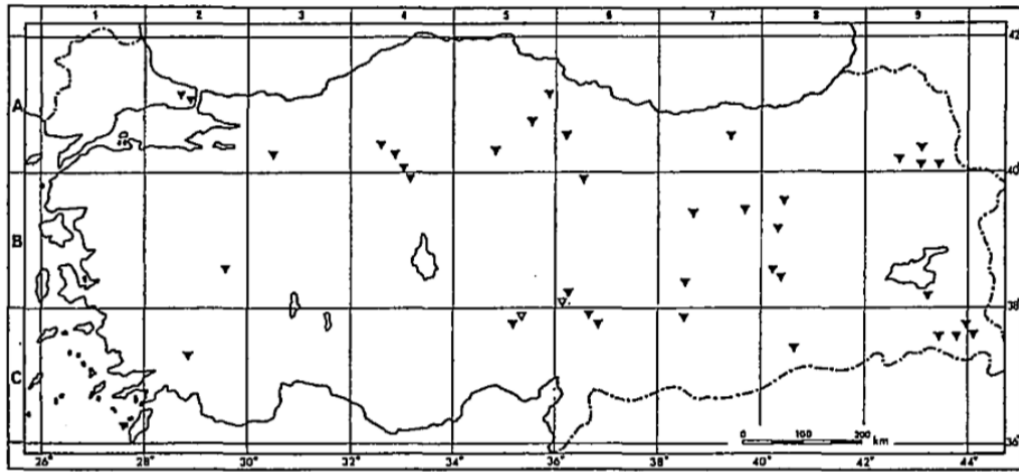
Sinonimleri: *Prunus mahaleb* L.

Çalı ya da 10-15 m'ye kadar uzanan küçük ağaç, tüysüz ya da çok az kısa tüylü. Stipulalar düşücü. Yapraklar orbikulardan geniş ovata kadar, boyları 25-80 x 15-60 mm' ye kadar, glandular-krenat, çıplak ya da orta damarın alt yüzeyi boyunca ince kısa yumuşak tüylü; petiollerin boyu 30 mm'ye kadar. Çiçekler 6-12 tane, 2 küçük yaprağa bağlı gevşek rasemoz; pedisellerin boyu 20 mm'ye kadar; hipantiyum geniş kampanulat; petaller beyaz, c. 8 mm; ovaryum çıplak. Drupa ovoid, 6-12 x 4-10 mm, ilk başta rengi sarı, sonra kırmızı ve siyaha dönen; etli, acı; çekirdek pürüzsüz

1. Yapraklar 60(-80) x 50(-60) mm; petioller 30 mm boyunda; drupa 7-12 x 6-10 mm **var. mahaleb**

1. Yapraklar 25(-30) x 15(-20) mm; petioller 10(-12) mm boyunda; drupa 6 x 4 mm **var. alpina**

2.1.3. Yayılış ve Habitat



Cerasus mahaleb ▼ *var. mahaleb* ▽ *var. alpina*.

A2 (E) Istanbul: Küçük Gök Su, 27 iv 1896, Nemetz. **A3** Bolu: 20 km Mudurnu, 1500 m, Kühne 3447. **A4** Ankara: Kızılcahamam, M. Zohary 51351. **A5** Amasya: Samsun-Ladik, 850 m, Kayacik ve Eliçin (ISTO 2175). **A6** Amasya: Erbaa- Çatalan, 300 m, Tobey 1568.,**Tokat: Niksar, Yolkonak Köyü, (HÜEF 18002!), Tokat: Niksar, Musapınarı Köyü, (HUEF 18003!), A7** Gümüşhane: Gümüşhane, 1500 m, Stainton 8428. **A9** Kars: 30 km Horasan-Karakurt, Aras Nehri kenarı, 1500 m, D. 46500. **B2** Uşak: Bulkaz Da., Bal. **B4** Ankara: Dikmen, Ankara'nın güneyi, Orshan 5023. **B6** Adana: Saimbeyli, 900 m, D. 26696. **B7** Tunceli: Munzur Dağı, Aksu, Ovacık'ın yukarısı, 1700m, D. 31465. **B8** Diyarbakır: 50 km Bingöl'ün güneyi, 1380m, M.Zohary2064-9. **B9** Van: 15 km Çatak'ın kuzeyi, D. 23151. **C2** Muğla: Muğla, 1488. **C6** Maraş: Ahir Dağı, 1500 m, 1117. **C8** Mardin: Mardin, Hauskn. **C9** Hakkari: Zap geçidi, 50 km Başkale'nin güneyi, D. 23816. **C10** Hakkari: Van-Hakkari/Yüksekova yolu, 1700 m, D. 4470.

2.2. *Prunus* L. Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Prunus türleri üzerinde günümüze kadar yapılmış olan çeşitli araştırmalar;

2.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar

2.2.2. *Prunus* Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Etkileri

başlıkları altında, iki kısımda derlenmiştir.

2.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar

Bu kısımda *Prunus* türleri üzerinde daha önceki yıllarda yapılmış olan fitokimyasal çalışmalara ait bulgular, çalışılan madde grupları esas alınarak aşağıdaki gibi gruplara ayrılmış ve tablolar halinde sunulmuştur.

Flavonoitler

Antosiyaninler

Proantosiyanidinler

Kumarinler

Fenolik Asitler

Feniletanoit Esterleri

Lignanlar

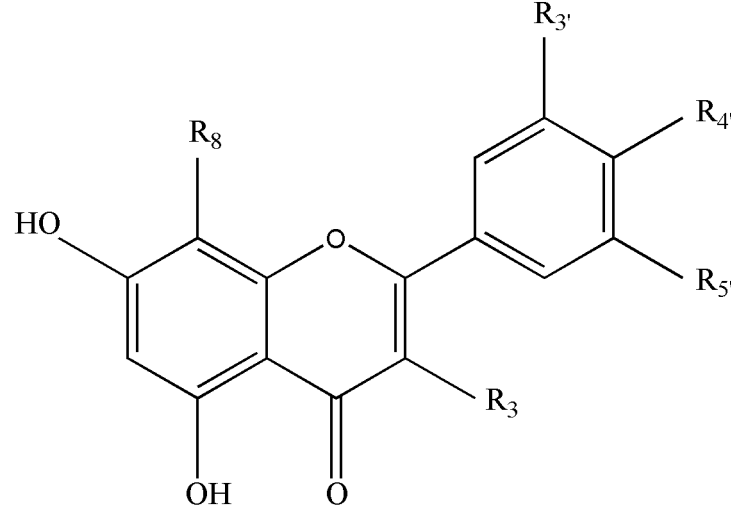
Steroid ve Terpenik Bileşikler

Diğer Bileşikler

Tablolar, aynı temel iskelete sahip bileşikler için ortak bir formül oluşturularak hazırlanmış, tablolardaki ana iskeletlere uymayan bileşikler ise diğer bileşikler başlığı altında kendi özgün yapıları ile ayrıca verilmiştir. Bileşiklerin isimlendirilmesinde literatürdeki isimlendirilmeleri esas alınıp, Türkçe olarak yapılmıştır.

Flavonoitler

Flavonol ve Flavonol Glikozitleri



Tablo 2. 1. *Prunus* türlerinde tespit edilen flavonol ve flavonol glikozitleri-I

Bileşik	R ₃	R ₈	R _{3'}	R _{4'}	R _{5'}	Bitki	Kaynak
3,4',5,7-tetrahidroksi-3',5'-dimetoksi flavon-3-O-[β-L-ramnopiranozil (1→6)]-β-D-galaktopiranozit	OGal-Ram	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	<i>P. armeniaca</i>	(15)
3'-O-metilkersetin 3-O-β-D-glukopiranozit	OGlu	H	OCH ₃	OH	H	<i>P. amygdalus</i>	(16)
3'-O-metilkersetin 3-O-β-D-galaktopiranozit	OGal	H	OCH ₃	OH	H	<i>P. amygdalus</i>	(16)
3'-O-metilkersetin 3-rutinozit	ORam-Glu ⁶	H	OCH ₃	OH	H	<i>P. amygdalus</i>	(16)
Astragalin	OGlu	H	H	OH	H	<i>P. padus</i>	(17)
						<i>P. persica</i>	(18)
Avikularin	O Ara	H	OH	OH	H	<i>P. spinosa</i>	(19, 20)
						<i>P. serotina</i>	(21)

Ram- Glu⁶: Glukozun 6 numaralı karbonuna ramnoz bağlı

Tablo 2. 1. (Devam) *Prunus* türlerinde tespit edilen flavanol ve flavanol glikozitleri-I

Bileşik	R ₃	R ₈	R _{3'}	R _{4'}	R _{5'}	Bitki	Kaynak
İzokersetin	OGlu	H	OH	OH	H	<i>P. mume</i>	(22)
İzokersitrin	ORam	H	OH	OH	H	<i>P. mume</i>	(22, 23)
İzoramnetin	OH	H	OCH ₃	OH	H	<i>P. mume</i>	(23)
İzoramnetin 3-O- β-D- galaktopiranozit	OGal	H	OCH ₃	OH	H	<i>P. mume</i>	(24)
İzoramnetin 3-O- β-D-glukopiranozit	OGlu	H	OCH ₃	OH	H	<i>P. dulcis</i>	(25)
İzoramnetin 3-O- β -ksilopiranozil- (1→2)-β- galaktopiranozit	OKsi ¹ - ² Gala	H	OCH ₃	OH	H	<i>P. padus</i>	(17)
İzoramnetin 3-O- β-D-rutinozit	ORam ¹ - ⁶ Glu	H	OCH ₃	OH	H	<i>P. serotina</i>	(21)
Juglanin	O Ara	H	H	OH	H	<i>P. spinosa</i>	(19, 20)
Rutin	ORam ¹ - ⁶ Glu	H	OH	OH	H	<i>P. armeniaca</i>	(26)
						<i>P. domestica</i>	(27, 28)
						<i>P. cerasifera</i>	(28, 29)
						<i>P. cerasus</i>	(30)
						<i>P. mume</i>	(22, 31)
						<i>P. spinosa</i>	(28, 32)
						<i>P. serotina</i>	(21)
						<i>P. persica</i>	(18)
Kemferitrin	OMan	H	H	OH	H	<i>P. spinosa</i>	(19)

Ram¹-⁶Glu: Glukozun 6 numaralı karbonuna ramnoz bağlı

Ksi¹-²Gala: Galaktozun 2 numaralı karbonuna ksiloz bağlı

Tablo 2. 1. (Devam) *Prunus* türlerinde tespit edilen flavonol ve flavonol glikozitleri-I

Bileşik	R ₃	R ₈	R _{3'}	R _{4'}	R _{5'}	Bitki	Kaynak
Kemferol	OH	H	H	OH	H	<i>P. amygdalus</i>	(33)
						<i>P. spinosa</i>	(19)
						<i>P. dulcis</i>	
						<i>P. davidiana</i>	(34)
						<i>P. tomentosa</i>	(35)
							(36)
Kemferol-3-O-β-D-galaktopiranozid	OGal	H	H	OH	H	<i>P. mume</i>	(23)
						<i>P. persica</i>	(37)
Kemferol-3-O-β-D-glukozit	OGlu	H	H	OH	H	<i>P. dulcis</i>	(25)
						<i>P. persica</i>	(37)
Kemferol-3-O-β-D-ksilopiranozil-(1→2) O-β-D-glukopiranozid	OKsi- ² Glu	H	H	OH	H	<i>P. laurocerasus</i>	(38)
Kersetin-3-O-(2-asetilglukozit)	OGlu (2Ac)	H	OH	OH	H	<i>P. mume</i>	(24)
Kersetin-3-O-(6-asetilglukozit)	OGlu(6Ac)	H	OH	OH	H	<i>P. mume</i>	(24)
Kersetin 3-O-α-L-ramnopiranozid	ORam	H	OH	OH	H	<i>P. dulcis</i>	(25)
						<i>P. spinosa</i>	(39)
Kersetin-3-O-β-D-galaktopiranozid	OGala	H	OH	OH	H	<i>P. dulcis</i>	(25)
Kersetin-3-O-neohesperisozit	ORam- ² Glu	H	OH	OH	H	<i>P. mume</i>	(22)
						<i>P. serotina</i>	(21)
Kersetin-3-O-β-D-ksilopiranozid	OKsi	H	OH	OH	H	<i>P. spinosa</i>	(20, 39)
						<i>P. serotina</i>	(21)

Ksi-²Glu: Glukozun 2 numaralı karbonuna ksiloz bağlı

Glu (2Ac): Glukozun 2 numaralı karbonuna asetil bağlı

Glu(6Ac): Glukozun 6 numaralı karbonuna asetil bağlı

Ram-²Glu: Glukozun 2 numaralı karbonuna ramnoz bağlı

Tablo 2. 1. (Devam) *Prunus* türlerinde tespit edilen flavanol ve flavanol glikozitleri-I

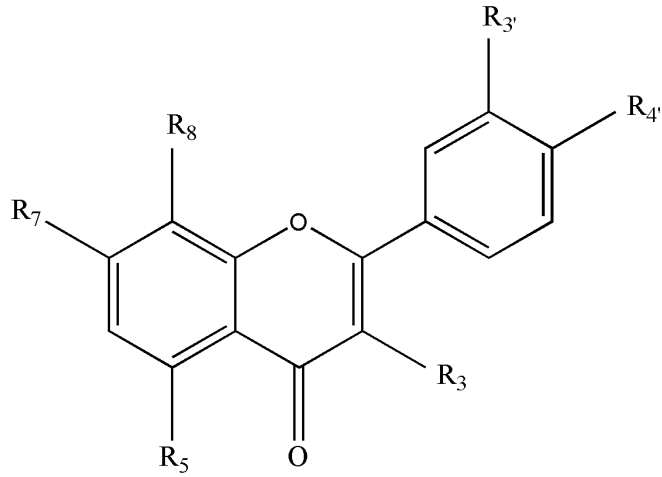
Bileşik	R ₃	R ₈	R _{3'}	R _{4'}	R _{5'}	Bitki	Kaynak
Kersetin-3-O-β-ksilopiranozil-(1→2)-β-galaktopiranozit	OKsi- ² Gala	H	OH	OH	H	<i>P. padus</i>	(17)
Kersetin-3-O-β-ksilopiranozil-(1→2) β-glukopiranozit	OKsi- ² Glu	H	OH	OH	H	<i>P. padus</i>	(17)
Kersitrin	ORam	H	OH	OH	H	<i>P. armeniaca</i>	(26)
						<i>P. tomentosa</i>	(36)
Mirisetin	OH	H	OH	OH	OH	<i>P. avium</i>	(40)
Multiflorin A	OGlu(6Ac)- ⁴ Ram	H	H	OH	H	<i>P. persica</i>	(41)
						<i>P. tomentosa</i>	(36)
Multiflorin B	OGlu- ⁴ Ram	H	H	OH	H	<i>P. persica</i>	(41)
						<i>P. tomentosa</i>	(36)
Mikuelianin	OGluA	H	OH	OH	H	<i>P. spinosa</i>	(19)
Multinozit A	OGlu- ⁴ Ram	H	OH	OH	H	<i>P. tomentosa</i>	(36)
Prudomestin	OH	OCH ₃	H	OCH ₃	H	<i>P. domestica</i>	(42)

Ksi¹⁻²Gala: Galaktozun 2 numaralı karbonuna ksiloz bağlı

Ksi-²Glu: Aglikona 1 numaradan bağlı glukozun 2 numaralı karbonuna ksiloz bağlı

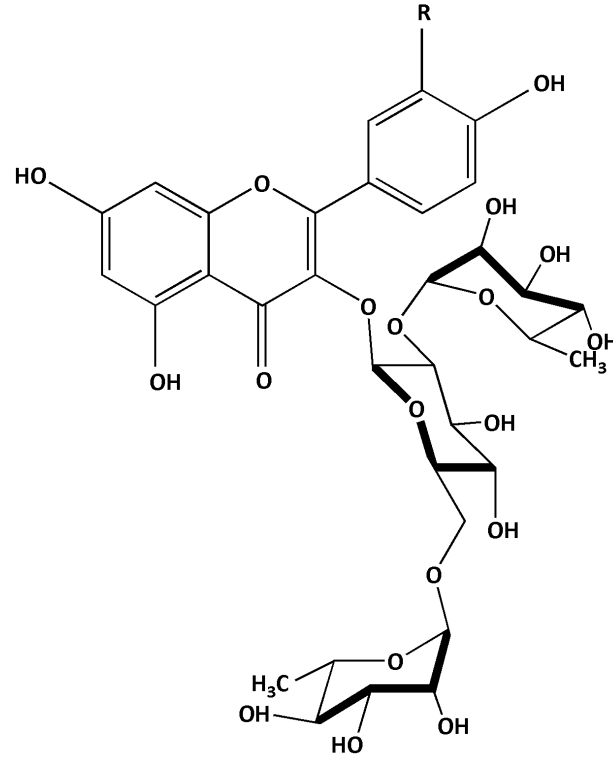
Glu(6Ac)-⁴Ram: Aglikona 1 numaradan bağlı ramnozun 4 numaralı karbonuna 6 asetilglukoz bağlı

Glu-⁴Ram: Aglikona 1 numaradan bağlı ramnozun 4 numaralı karbonuna glukoz bağlı



Tablo 2. 2. *Prunus* türlerinde tespit edilen flavonol ve flavonol glikozitleri-II

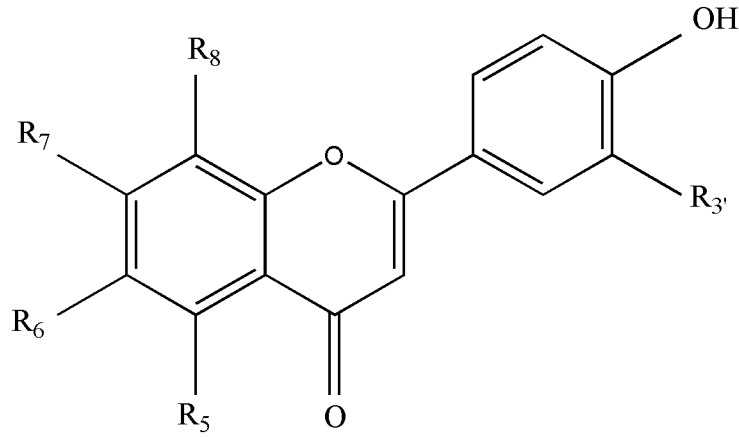
Bileşik	R ₃	R ₅	R ₇	R ₈	R _{3'}	R _{4'}	Bitki	Kaynak
Kersetin 3- <i>O</i> - rutinozil-7,3'- <i>O</i> - bisglukozit	ORut	OH	OGLu	H	OGLu	OH	<i>P. avium</i>	(43)
							<i>P. cerasus</i>	(43)
Prudomenin	OH	OH	OGLu	OCH ₃	H	OCH ₃	<i>P. mume</i>	(44)



Tablo 2. 3. *Prunus* türlerinde tespit edilen flavonol ve flavonol glikozitleri-III

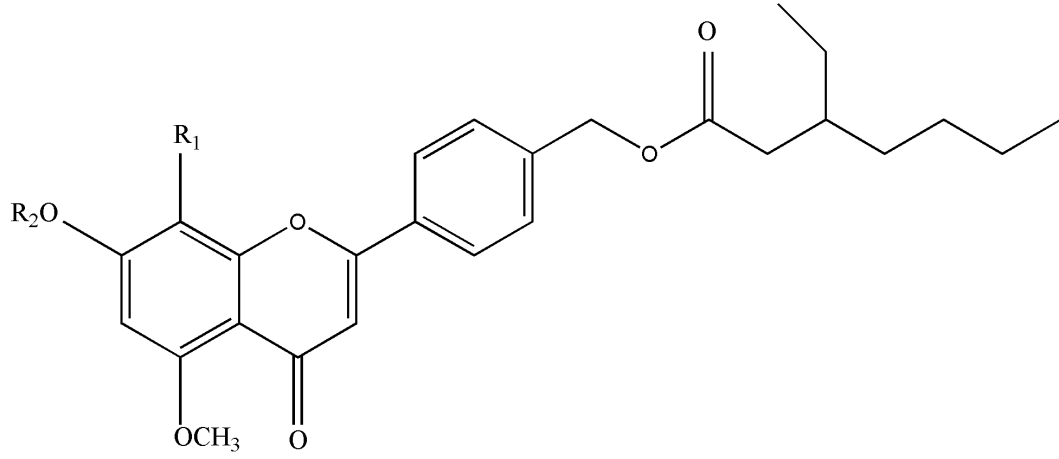
Bileşik	R	Bitki	Kaynak
Kemferol-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)	H	<i>P. mume</i>	(45)
Kersetin-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)	OH	<i>P. mume</i>	(45)

Flavon ve Flavon Glikozitleri

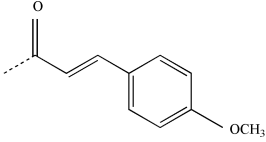
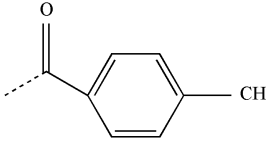


Tablo 2. 4. *Prunus* türlerinde tespit edilen flavon ve flavon glikozitleri- I

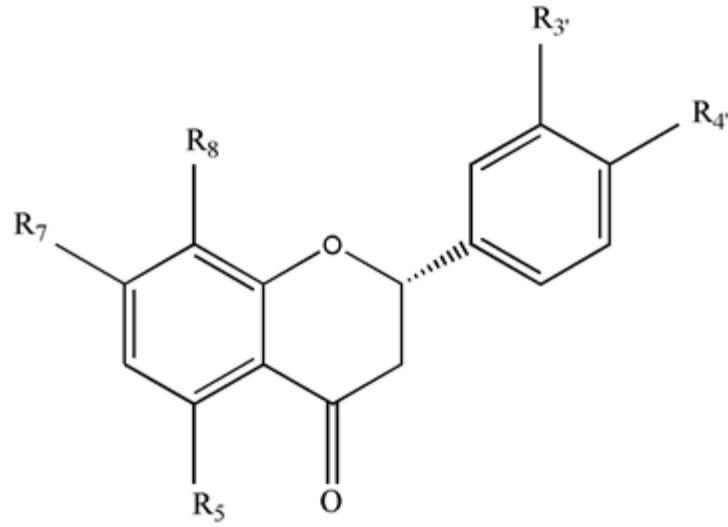
Bileşik	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R _{3'}	Bitki	Kaynak
4',5,7-trihidroksi-flavon-7-O-[β-D-mannopiranozil-(1'''→2'')]- β-D-allopiranozit	OH	H	OAl-Man	H	H	<i>P. armeniaca</i>	(15)
Flavon 3',4', dihidroksi-6 metoksi 7-O-α -L-ramnopiranozit	H	OCH ₃	ORam	H	OH	<i>P. persica</i>	(46)
Genkwanin 5-O-β-D-glukopiranozit	Oglu	H	OCH ₃	H	H	<i>P. cerasoides</i>	(47)
Luteolin	OH	H	OH	H	OH	<i>P. cerasifera</i>	(29)
						<i>P. spinosa</i>	(32)
Luteolin 7-O-β-glukozit	OH	H	Oglu	H	OH	<i>P. persica</i>	(48)
						<i>P. pseudocerasus</i>	(49)
Viteksin	OH	H	OH	Glu	H	<i>P. pseudocerasus</i>	(49)



Tablo 5. 5. *Prunus* türlerinde tespit edilen flavon ve flavon glikozitleri- II

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Prunusin A	H		<i>P. domestica</i>	(50)
Prunusin B	OCH ₃		<i>P. domestica</i>	(50)

Flavanon ve Flavanon Glikozitleri



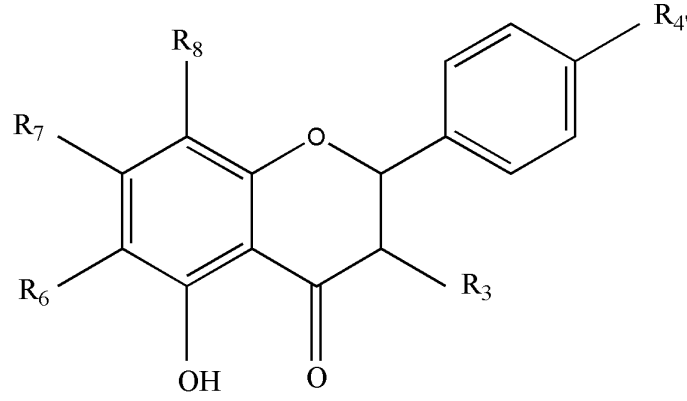
Tablo. 2. 6. *Prunus* türlerinde tespit edilen flavanon ve flavanon glikozitleri

Bileşik	R ₅	R ₇	R ₈	R _{3'}	R _{4'}	Bitki	Kaynak
Dihidrovogonin 7- <i>O</i> -β-glukozit	OH	OGLu	H	H	H	<i>P. padus</i> var. <i>seoulensis</i>	(51)
Dihidrovogonin	OH	OH	OCH ₃	H	H	<i>P. padus</i> var. <i>seoulensis</i>	(51)
Genkvanin	OH	OCH ₃	H	H	OH	<i>P. padus</i> var. <i>seoulensis</i>	(51)
Hesperidin-5- <i>O</i> - β-D-glukopiranozit	OGLu	OH	H	OH	OCH ₃	<i>P. davidiana</i>	(35, 52)
Hesperidin-7-rutinozit	OH	ORut	H	OH	OCH ₃	<i>P. persica</i>	(48)
İzosakuranetin	OH	OH	H	H	OCH ₃	<i>P. domestica</i>	(42, 53)
İzosakuranetin 7- <i>O</i> -β- D-galaktopiranozit	OH	OGal	H	H	OCH ₃	<i>P. cerasoides</i>	(54)

Tablo 2. 6. (Devam) Prunus türlerinde tespit edilen flavanon ve flavanon glikozitleri

Bileşik	R₅	R₇	R₈	R_{3'}	R_{4'}	Bitki	Kaynak
Naringenin-4'- metoksi-7-O-β-D- ksilopiranozit	OH	OKsi	H	H	OCH ₃	<i>P. cerasoides</i>	(55)
Naringenin 7-O-β-D- glukopiranozit	OH	OGLu	H	H	OH	<i>P. amygdalus</i> <i>P. armeniaca</i> <i>P. davidiana</i> <i>P. mahaleb</i>	(16) (56) (35, 57) (58)
Naringenin	OH	OH	H	H	OH	<i>P. domestica</i> <i>P. dulcis</i> <i>P. davidiana</i> <i>P. persica</i> <i>P. jamasakura</i>	(42, 53) (34) (35) (59) (60)
Persikogenin 3'-O-β- D-glukopiranozit	OH	OCH ₃	H	OGLu	OH	<i>P. amygdalus</i>	(61)
Pinosembrin	OH	OH	H	H	H	<i>P. domestica</i>	(53)
Sakuranetin	OH	OCH ₃	H	H	OH	<i>P. jamasakura</i>	(60)
Sakuranetin 5-O-β-D - ksilopiranozit	OKsi	OCH ₃	H	H	OH	<i>P. jamasakura</i>	(62)

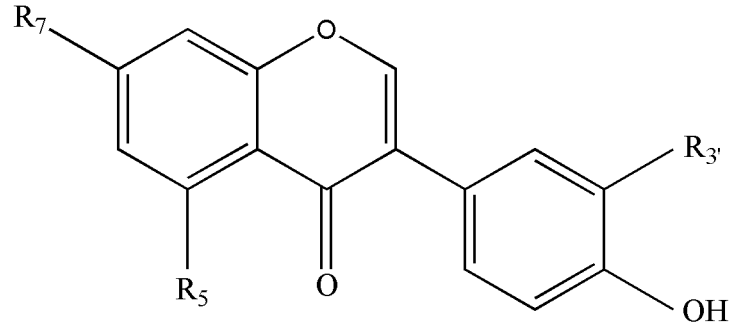
Dihidroflavonol ve Dihidroflavonol glikozitleri



Tablo. 2. 7. *Prunus* türlerinde tespit edilen dihidroflavonol ve dihidroflavonol glikozitleri

Bileşik	R ₃	R ₆	R ₇	R ₈	R _{4'}	Bitki	Kaynak
2,3-dihidrokemferit	OH	H	OH	H	OCH ₃	<i>P. domestica</i>	(42)
3,4',5,7-tetrahidroksiflavanon	OH	H	OH	H	OH	<i>P. mahaleb</i>	(58)
3,5,7-trihidroksi-6,4'-dimetoksiflavanon	OH	OCH ₃	OH	H	OCH ₃	<i>P. domestica</i>	(42)
3,5,7-trihidroksi-8-metoksiflavanon	OH	H	OH	OCH ₃	H	<i>P. padus</i> var. <i>seoulensis</i>	(51)
3,5,7-trihidroksi-8,4'-dimetoksiflavanon	OH	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	<i>P. domestica</i>	(42)
5,7,4'-trihidroksi-3-metoksiflavanon	OCH ₃	H	OH	H	OH	<i>P. domestica</i>	(42)
Dihidrokemferol	OH	H	OH	H	OH	<i>P. domestica</i> <i>P. davidiana</i>	(53) (35)
Dihidroprudomenin	OH	H	OGLu	OCH ₃	OCH ₃	<i>P. mume</i>	(44)
Kemferit 7-O-β-D-glukopiranozit	OH	H	OGLu	H	OCH ₃	<i>P. davidiana</i>	(35)
Kemferol 7-O-β-D-glukopiranozit	OH	H	OGLu	H	OH	<i>P. davidiana</i>	(35)
Ramositrin	OH	H	OCH ₃	H	OH	<i>P. padus</i> var. <i>seoulensis</i>	(51)

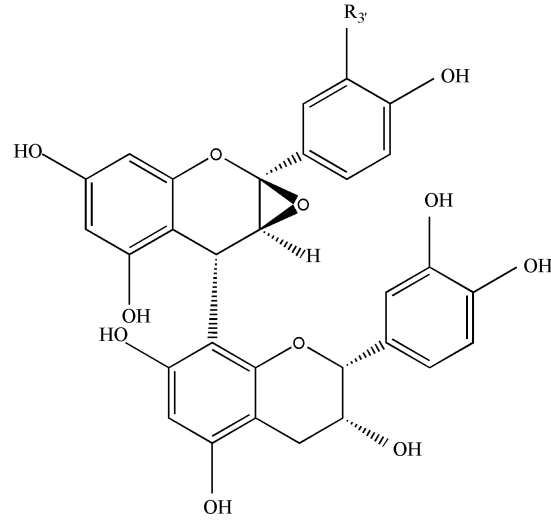
İzoflavonoit ve izoflavonoit glikozitleri



Tablo. 2. 8. *Prunus* türlerinde tespit edilen izoflavonoit ve izoflavonoit glikozitleri

Bileşik	R ₅	R ₇	R _{3'}	Bitki	Kaynak
Daidzein	H	OH	H	<i>P. cerasus</i>	(30)
				<i>P. spinosa</i>	(32)
Orobol 7-O-glukozit	OH	OGlu	OH	<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	(63)
Prunetin	OH	OCH ₃	H	<i>P. mahaleb</i>	(64)
				<i>P. yedoensis</i>	(65)
Prunetin-5-O-β-D-glukopiranozit	OGlu	OCH ₃	H	<i>P. avium</i>	(66)
				<i>P. cerasoides</i>	(47)
				<i>P. cerasus</i>	(66)
				<i>P. persica</i>	(46)

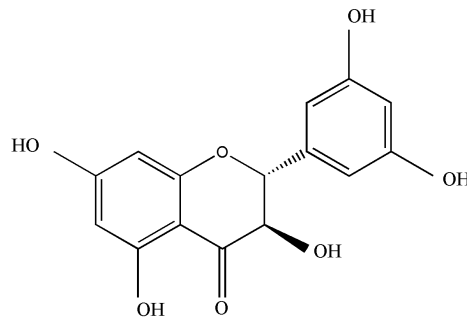
Flavan Dimerleri



Tablo 2. 9. *Prunus* türlerinde tespit edilen flavan dimerleri

Bileşik	R _{3'}	Bitki	Kaynak
2β,3β-epoksi-5,7,4'-trihidroksiflavan-(4α→8)-epikateşin	H	<i>P. mume</i>	(22)
2β,3β-epoksi-5,7,3',4'-tetrahidroksiflavan-(4α→8)-epikateşin	OH	<i>P. mume</i>	(22)

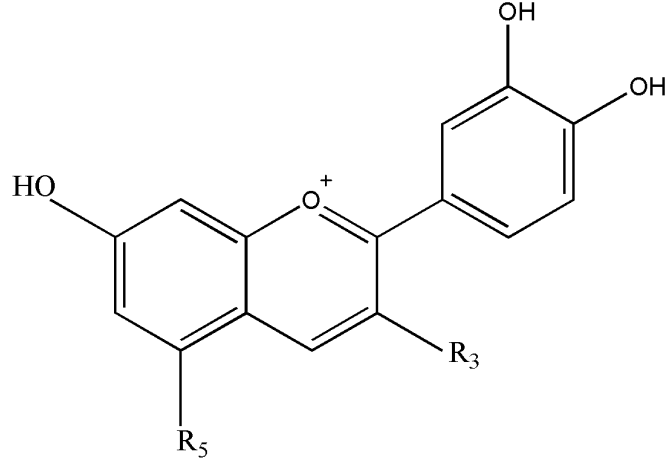
Diğer Flavonoitler



Bileşik	Bitki	Kaynak
3,5,7,3',5'-pentahidroksiflavan	<i>P. tucumanensis</i>	(67)

Antosiyaninler

Antosiyanin ve Antosiyanin glikozitleri



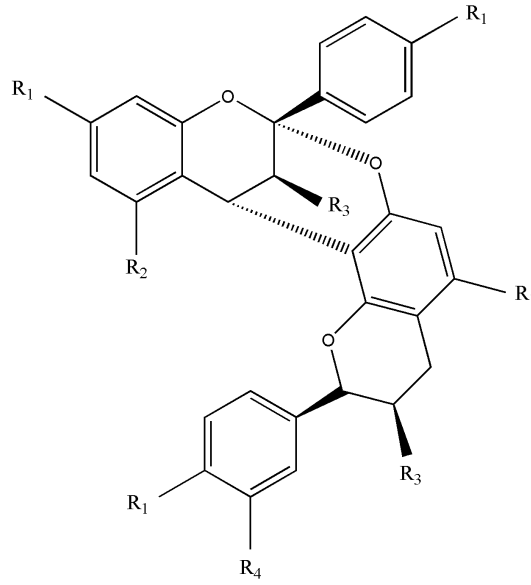
Tablo 2. 10. *Prunus* türlerinde tespit edilen antosiyanin ve antosiyanin glikozitleri

Bileşik	R ₃	R ₅	Bitki	Kaynak
Siyanidin	OH	OH	<i>P. mahaleb</i>	(68)
Siyanidin -3-asetil-glukozit	OGlu (3Ac)	OH	<i>P. humilis</i>	(69)
Siyanidin -3-O-galaktozit	OGal	OH	<i>P. cerasifera</i>	(70)
Siyanidin -3-O-glukozit	OGlu	OH	<i>P. avium</i>	(71)
			<i>P. cerasifera</i>	(70)
			<i>P. humilis</i>	(69)
			<i>P. lannesiana</i>	(72)
			<i>P. mahaleb</i>	(68)
			<i>P. persica</i>	(18)
			<i>P. spinosa</i>	(73)
Siyanidin- 3-O-ksilozit	OKsi	OH	<i>P. cerasifera</i>	(70)
Siyanidin 3-O-ksilozil-rutinozit	OKsi- ² Rut	OH	<i>P. mahaleb</i>	(68, 74)
Siyanidin- 3-O-rutinozit	ORut	OH	<i>P. avium</i>	(71, 75)
			<i>P. cerasifera</i>	(70)
			<i>P. humilis</i>	(69)
Siyanidin- 3-O-sambubiozit	OKsi- ² Glu	OH	<i>P. mahaleb</i>	(68, 74)
Siyanidin 3,5-O-diglukozit	OGlu	OGlu	<i>P. mahaleb</i>	(68, 74)

Ksi-²Rut: Aglikona 1 numaradan bağlı rutinozun 2 numaralı karbonuna ksiloz bağlı

OKsi-²Glu: Aglikona 1 numaradan bağlı rutinozun 2 numaralı karbonuna ksiloz bağlı

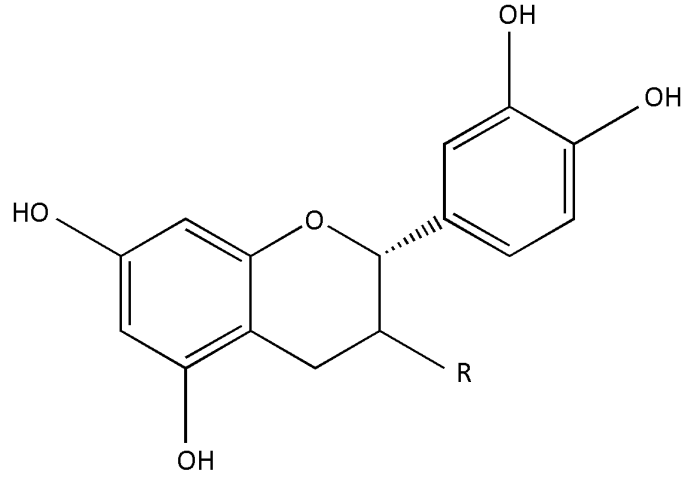
Proantosiyanidinler



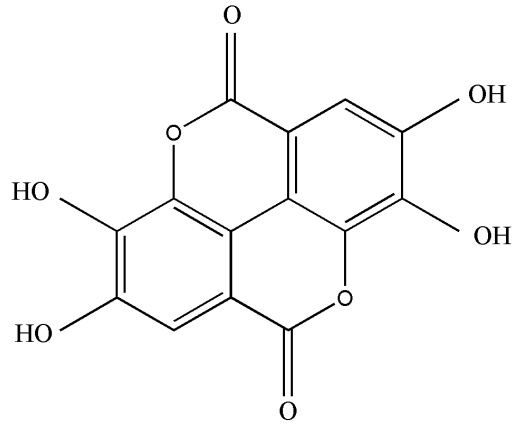
Tablo 2.11. *Prunus* türlerinde tespit edilen proantosiyanidin yapısındaki bileşikler

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
<i>ent</i> -epiafzelekin-(2 α →7,4 α →8)- epiafzelekin 7,12,5',12'-tetra- metil- eter	OCH ₃	OH	OH	H	<i>P. spinosa</i>	(76)
<i>ent</i> -epiafzelekin-(2 α →7,4 α →8)- epiafzelekin 7,12,5',12'-tetra- metil- eter -3,5,3'-triasetat	OCH ₃	OAc	OAc	H	<i>P. spinosa</i>	(76)
<i>ent</i> -epiafzelekin-(2 α →7,4 α →8)- epiafzelekin –hepta-asetat	OAc	OAc	OAc	H	<i>P. spinosa</i>	(76)
<i>ent</i> -epiafzelekin-(2 α →7,4 α →8)- epikateşin 7,12,5',11',12'- pentametil ether	OCH ₃	OH	OH	OH	<i>P. spinosa</i>	(76)
<i>ent</i> -epiafzelekin-(2 α →7,4 α →8)- epikateşin	OH	OH	OH	OH	<i>P. prostata</i> <i>P. spinosa</i>	(77) (76)
<i>ent</i> -epiafzelekin-(2 α →7,4 α →8)- epikateşin oktaasetat	OAc	OAc	OAc	OAc	<i>P. spinosa</i>	(76)
Mahuannin A	OH	OH	OH	H	<i>P. armeniaca</i> <i>P. spinosa</i>	(78) (76)

Tanenler

Tablo 2. 12. *Prunus* türlerinde tespit edilen tanen yapısına sahip bileşikler

Bileşik	R	Bitki	Kaynak
(-)- Epikateşin	α OH	<i>P. amygdalus</i>	(33)
		<i>P. dulcis</i>	(79)
		<i>P. mume</i>	(22)
		<i>P. padus</i>	(80)
		<i>P. persica</i>	(18, 48)
		<i>P. spinosa</i>	(32)
(+) - Kateşin	β OH	<i>P. amygdalus</i>	(16, 33, 81)
		<i>P. armeniaca</i>	(56)
		<i>P. cerasifera</i>	(28)
		<i>P. davidiana</i>	(35, 52)
		<i>P. dulcis</i>	(79, 82)
		<i>P. laurocerasus</i>	(38)
		<i>P. mahaleb</i>	(68)
		<i>P. persica</i>	(18, 48, 83)
		<i>P. spinosa</i>	(32)
		<i>P. padus</i>	(80)

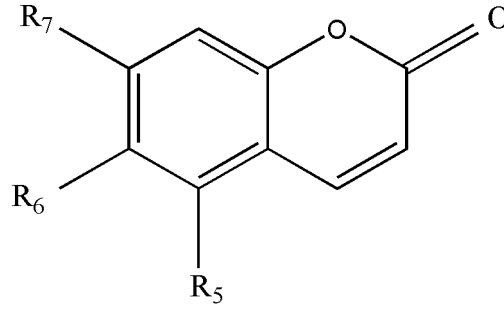
**Bileşik****Bitki****Kaynak**

Elajik asit

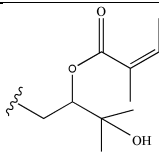
P. dulcis

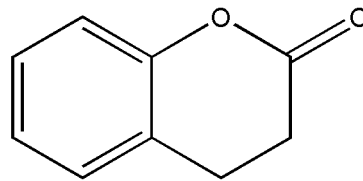
(79)

Kumarinler



Tablo 2. 13. *Prunus* türlerinde tespit edilen kumarin ve kumarin glikozitleri

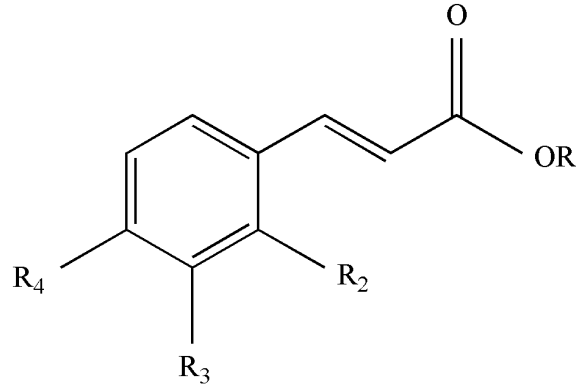
Bileşik	R ₅	R ₆	R ₇	Bitki	Kaynak
6,7-dihidroksi-5-metoksikumarin 6-β-glukopiranozit	OCH ₃	OGlu	OH	<i>P. prostrata</i>	(84)
Fraksinol 6-β-D-galaktopiranozit	OCH ₃	OGal	OCH ₃	<i>P. prostrata</i>	(84)
Herniarin	H	H	OCH ₃	<i>P. mahaleb</i>	(64, 85)
Prunat	H		OH	<i>P. mume</i>	(86)
Skopoletin	H	OCH ₃	OH	<i>P. domestica</i>	(87-89)



Tablo 2. 14. *Prunus* türlerinde tespit edilen kumarin yapısında bileşikler

Bileşik	Bitki	Kaynak
Melilotin	<i>P. mahaleb</i>	(90)

Fenolik Asitler



Tablo 2. 15. *Prunus* türlerinde tespit edilen fenolik asitler ve glikozitleri-I

Bileşik	R	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
2- glukozil-4-metoksi- etil- <i>trans</i> sinnemat	C ₂ H ₅	OGLu	H	OCH ₃	<i>P. mahaleb</i>	(91)
2- glukozil-4-metoksi- sinnamik asit	H	OGLu	H	OCH ₃	<i>P. mahaleb</i>	(85)
3- <i>O</i> - kafeoilkinik asit	³ Kin	H	OH	OH	<i>P. domestica</i>	(92)
					<i>P. mume</i>	(93)
					<i>P. persica</i>	(48)
					<i>P. spinosa</i>	(94)
3- <i>O</i> - kafeoilkinik asit metil ester	³ Kin-Me	H	OH	OH	<i>P. domestica</i>	(87, 88)
4- <i>O</i> - kafeoilkinik asit	⁴ Kin	H	OH	OH	<i>P. domestica</i>	(88, 92)
					<i>P. spinosa</i>	(94)
5- <i>O</i> -(<i>E</i>)- <i>p</i> - kumaroilkinik asit	⁵ Kin	H	H	OH	<i>P. mume</i>	(24)
					<i>P. persica</i>	(48)
4- <i>O</i> -kafeoilkinik asit metil ester	⁴ Kin-Me	H	OH	OH	<i>P. mume</i>	(95)
					<i>P. domestica</i>	(87, 88)
5- <i>O</i> -kafeoilkinik asit metil ester	⁵ Kin-Me	H	OH	OH	<i>P. mume</i>	(95)

³Kin: Kinik asitin 3 numarasından bağlı, ⁴Kin: Kinik asitin 4 numarasından bağlı

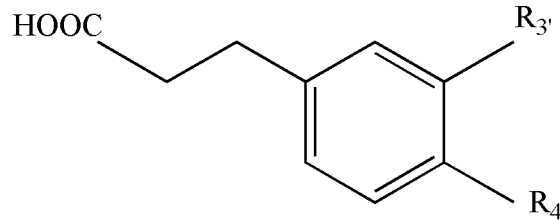
⁵Kin: Kinik asitin 5 numarasından bağlı

Tablo 2. 15. (Devam) *Prunus* türlerinde tespit edilen fenolik asitler ve glikozitleri-I

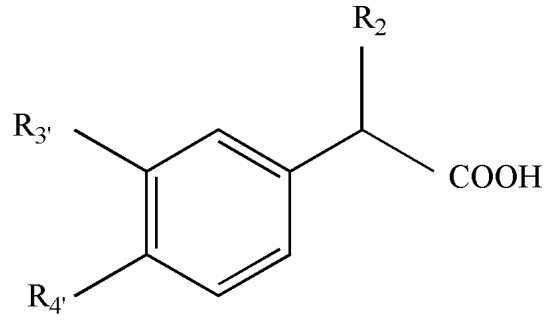
Bileşik	R	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
Etil kafeat	C ₂ H ₅	H	OH	OH	<i>P. yedoensis</i>	(96)
Ferlik asit β-D-glukopiranozit	H	H	CH ₃	OGLu	<i>P. domestica</i>	(87)
Ferulik asit	H	H	OCH ₃	OH	<i>P. dulcis</i>	(34)
					<i>P. padus</i>	(80)
					<i>P. spinosa</i>	(32, 97)
Ferulik asit β-D-glukopiranozit	H	H	OCH ₃	OGLu	<i>P. domestica</i>	(88)
Kafeik asit	H	H	OH	OH	<i>P. amygdalus</i>	(33)
					<i>P. domestica</i>	(88)
					<i>P. dulcis</i>	(34, 79)
					<i>P. spinosa</i>	(32)
Kafeik asit metil ester	CH ₃	H	OH	OH	<i>P. domestica</i>	(87, 88)
Klorojenik asit	⁵ Kin	H	OH	O	<i>P. armeniaca</i>	(56)
					<i>P. avium</i>	(40)
					<i>P. domestica</i>	(88, 92)
					<i>P. mume</i>	(24, 98)
					<i>P. padus</i>	(17, 80)
					<i>P. spinosa</i>	(19, 97)
					<i>P. serrulata var. spontanea</i>	(63)
					<i>P. persica</i>	(18, 48, 99)
					<i>P. persica</i>	(100)
					var. <i>platycarpa</i>	
					<i>P. pseudocerasus</i>	(49)

Tablo 2. 15. (Devam) *Prunus* türlerinde tespit edilen fenolik asitler ve glikozitleri-I

Bileşik	R	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
Klorojenik asit metil ester	⁵ Kin -Me	H	OH	OH	<i>P. mume</i>	(24)
Klorojenik asit etil ester	⁵ Kin -Et	H	OH	OH	<i>P. mume</i>	(24)
Metil-kumarat- O-β-D-glukopiranozit	OCH ₃	OGLu	H	H	<i>P. cornuta</i>	(101)
Okrazozil ferulat	(CH ₂) ₂₇ CH ₃	H	OCH ₃	OH	<i>P. jamasakura</i>	(102)
<i>p</i> -kumarik asit	H	H	H	OH	<i>P. amygdalus</i> <i>P. avium</i> <i>P. domestica</i> <i>P. spinosa</i>	(33) (40) (88) (19, 32)
<i>p</i> -kumarik asit- O-β-D-glukopiranozit	H	H	H	OGLu	<i>P. dulcis</i>	(25)
<i>t</i> -sinnamik asit	H	H	H	H	<i>P. persica</i>	(32)

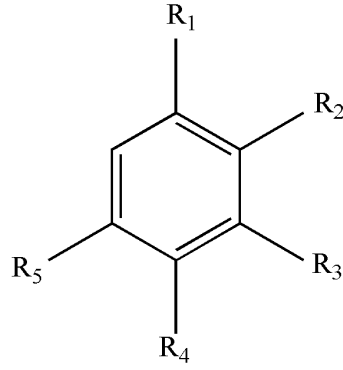
**Tablo 2. 16.** *Prunus* türlerinde tespit edilen basit fenolik asitler -II

Bileşik	R _{3'}	R _{4'}	Bitki	Kaynak
3-(4'-hidroksifenil) propionik asit	H	OH	<i>P. spinosa</i>	(19)
Dihidrokafeik asit	OH	OH	<i>P. spinosa</i>	(19)




Tablo 2. 17. *Prunus* türlerinde tespit edilen fenolik asitler ve glikozitleri-III

Bileşik	R ₂	R _{3'}	R _{4'}	Bitki	Kaynak
2-O-β-D-Glukopiranozil-2-hidroksifenil-asetik asit	Oglu	OH	OH	<i>P. laurocerasus</i>	(38)
2-(3',4'-dihidroksifenil)asetik asit	H	OH	OH	<i>P. spinosa</i>	(19)
Mandelik asit	OH	H	H	<i>P. maximowiczii</i>	(103)
				<i>P. mume</i>	(24)
				<i>P. persica</i>	(104)



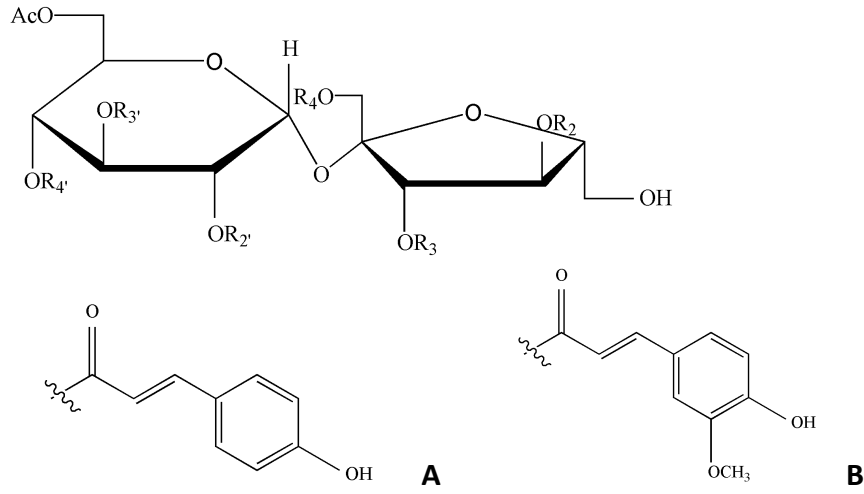
Tablo 2. 18. *Prunus* türlerinde tespit edilen fenolik asitler ve glikozitleri-IV

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Bitki	Kaynak
3-O-asetil-protokateşik asit	COOH	H	OAc	OH	H	<i>P. cerasifera</i>	(105)
3,4-dihidroksi benzaldehit	COH	H	OH	OH	H	<i>P. mume</i> <i>P. spinosa</i>	(106) (97)
3,4 dihidroksi benzoik asit	COOH	H	OH	OH	H	<i>P. armeniaca</i>	(26)
4-β-D-glukopiranoziloksi-3-(3-metil-2-butenil) benzoik asit	COOH	H		Oglu	H	<i>P. amygdalus</i> <i>P. prostrata</i>	(81) (84)
4-O-glukozilloksi-2-hidroksi-6-metoksi asetofenon	Oglu	H	OCH ₃	COCH ₃	OH	<i>P. armenica</i>	(107)
Atrarik asit	OH	CH ₃	OH	COOCH ₃	CH ₃	<i>P. africana</i>	(108)
Domestikozit	Oglu	COOH	OH	H	OCH ₃	<i>P. persica</i>	(109)
Etil-2,4-dihidroksi-3,6-dimetil benzoat	OH	CH ₃	OH	COOEt	CH ₃	<i>P. africana</i>	(108)
Etil gallat	COOEt	H	OH	OH	OH	<i>P. dulcis</i>	(110)
Gallik asit	COOH	H	OH	OH	OH	<i>P. amygdalus</i> <i>P. cerasifera</i> <i>P. domestica</i> <i>P. dulcis</i> <i>P. mahaleb</i> <i>P. padus</i> <i>P. persica</i> var. <i>platycarpa</i> <i>P. spinosa</i>	(28, 33) (28) (28) (79, 110) (111) (80) (100) (32, 97)

Tablo 2. 18. (Devam) *Prunus* türlerinde tespit edilen basit fenoller ve glikozitleri-IV

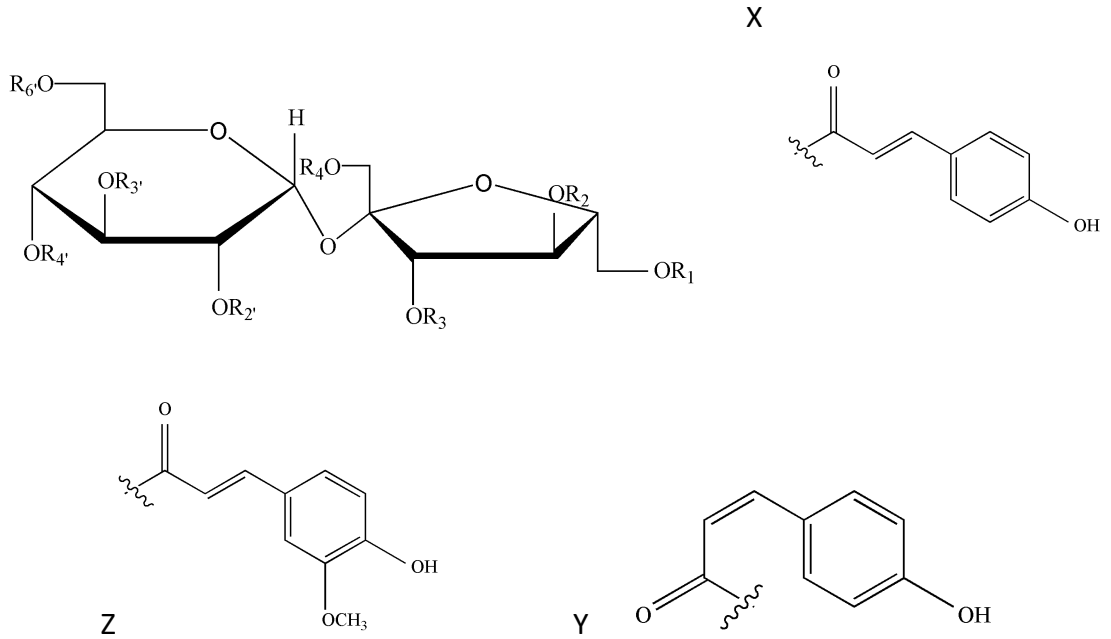
Bileşik	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	Bitki	Kaynak
<i>n</i> -butil-2,4-dihidroksi-3,6-dimetil benzoat	OH	CH ₃	OH	COOC ₄ H ₉	CH ₃	<i>P. africana</i>	(108)
<i>n</i> -propil-2,4-dihidroksi-3,6-dimetil benzoat	OH	CH ₃	OH	COOC ₃ H ₇	CH ₃	<i>P. africana</i>	(108)
<i>p</i> -hidroksi benzoik asit	COOH	H	H	OH	H	<i>P. amygdalus</i> <i>P. dulcis</i> <i>P. spinosa</i>	(16) (110) (32)
Pirogallol	OH	OH	OH	H	H	<i>P. dulcis</i>	(110)
Protokateşik asit	COOH	H	OH	OH	H	<i>P. amygdalus</i> <i>P. armeniaca</i> <i>P. cerasifera</i> <i>P. domestica</i> <i>P. dulcis</i> <i>P. persica</i> var. <i>platycarpa</i> <i>P. spinosa</i>	(16, 81) (56) (28) (28, 88) (110) (112) (19, 32, 97)
Siringik asit	COOH	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	<i>P. spinosa</i>	(32)
Vanilik asit	COOH	H	OCH ₃	OH	H	<i>P. amygdalus</i> <i>P. cerasifera</i> <i>P. domestica</i> <i>P. dulcis</i> <i>P. spinosa</i>	(16, 26) (28) (87, 88) (34, 110) (32, 97)
Vanilik asit β -D-glukopiranozit	COOH	H	OCH ₃	OGlu	H	<i>P. domestica</i>	(88)
Vanillin	COH	H	OCH ₃	OH	H	<i>P. spinosa</i>	(97)
Vanilloloit	OGlu	OCH ₃	H	CH ₂ OH	H	<i>P. persica</i>	(113)

Feniletanoit esterleri



Tablo 2. 19. *Prunus* türlerinde tespit edilen feniletanoit esterleri- I

Bileşik	R ₂	R ₃	R ₄	R _{2'}	R _{3'}	R _{4'}	Bitki	Kaynak
3- <i>p</i> -O- kumaroil- 1,3',6'-O- triasetil sukroz	H	A	COCH ₃	H	COCH ₃	H	<i>P. tomentosa</i>	(114)
3- <i>p</i> -O- kumaroil- 1,2',6'-O- triasetil sukroz	H	A	COCH ₃	COCH ₃	H	H	<i>P. tomentosa</i>	(114)
Mumeoz C	H	A	H	COCH ₃	COCH ₃	H	<i>P. tomentosa</i>	(114)
Tomezit A	COCH ₃	A	COCH ₃	H	H	H	<i>P. tomentosa</i>	(114)
Tomezit B	COCH ₃	A	H	H	H	COCH ₃	<i>P. tomentosa</i>	(114)
Tomezit C	H	A	H	H	COCH ₃	COCH ₃	<i>P. tomentosa</i>	(114)
Tomezit D	H	B	COCH ₃	COCH ₃	H	H	<i>P. tomentosa</i>	(114)



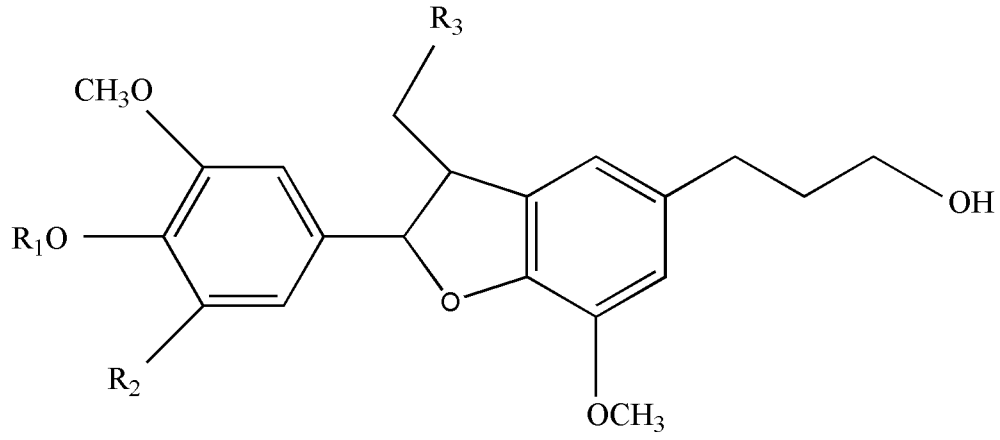
Tablo 2. 20. *Prunus* türlerinde tespit edilen feniletanoit esterleri- II

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₂ '	R ₃ '	R ₄ '	R ₆ '	Bitki	Kaynak
2',3',4',6'- tetra-O- asetil-3-O- (E)-p- kumaroil sukroz	H	H	X	H	Ac	Ac	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(115)
Mumeoz A	H	H	X	H	Ac	H	H	H	<i>P. maximowiczii</i>	(103)
									<i>P. mume</i>	(115)
Mumeoz B	H	H	X	H	H	Ac	H	Ac	<i>P. maximowiczii</i>	(103)
									<i>P. mume</i>	(115)
Mumeoz C	H	H	X	H	Ac	Ac	H	Ac	<i>P. maximowiczii</i>	(103)
									<i>P. mume</i>	(115)
Mumeoz D	H	H	X	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	<i>P. maximowiczii</i>	(103)
									<i>P. mume</i>	(115)
Mumeoz E	H	H	Y	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	<i>P. maximowiczii</i>	(103)
									<i>P. mume</i>	(115)

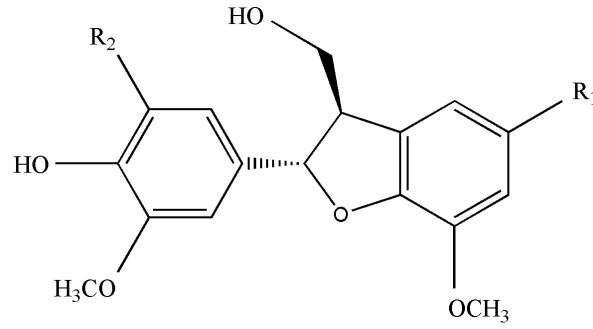
Tablo 2.20. (Devam) *Prunus* türlerinde tespit edilen feniletanoit esterleri- II

Bileşik	R₁	R₂	R₃	R₄	R_{2'}	R_{3'}	R_{4'}	R_{6'}	Bitki	Kaynak
Mumeoz F	H	H	X	H	H	Ac	Ac	Ac	<i>P. maximowiczii</i>	(103)
									<i>P. mume</i>	(115)
Mumeoz G	H	Ac	X	H	H	Ac	H	Ac	<i>P. maximowiczii</i>	(103)
									<i>P. mume</i>	(115)
Mumeoz H	H	Ac	X	H	Ac	Ac	H	H	<i>P. mume</i>	(115)
Mumeoz I	Ac	H	X	H	H	Ac	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(115)
Mumeoz J	H	Ac	X	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(115)
Mumeoz P	H	H	X	H	Ac	H	H	Ac	<i>P. mume</i>	(116)
Mumeoz Q	H	H	Z	H	Ac	Ac	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(116)
Mumeoz R	H	H	X	H	H	H	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(116)
Mumeoz S	H	Ac	X	H	H	H	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(116)
Mumeoz T	Ac	Ac	X	Ac	Ac	H	H	H	<i>P. mume</i>	(116)
Mumeoz U	H	Ac	X	H	H	Ac	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(116)
Mumeoz V	H	Ac	X	H	Ac	Ac	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(116)
Prunoz I	X	Ac	H	Ac	H	Ac	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(115, 117)
Prunoz II	X	H	H	Ac	H	Ac	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(115, 117)
Prunoz III	X	Ac	H	H	H	Ac	Ac	Ac	<i>P. mume</i>	(115, 117)

Lignanlar

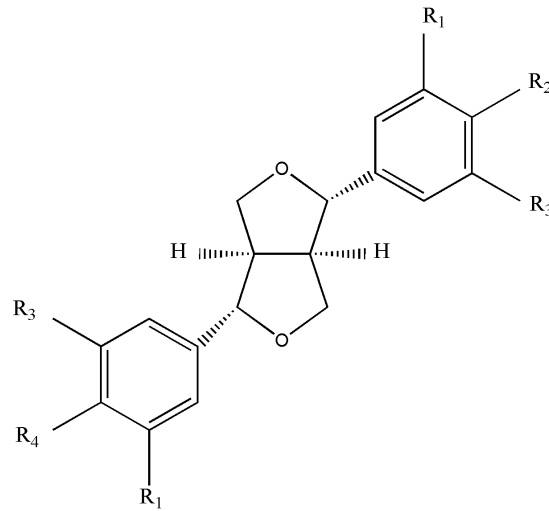
Tablo 2. 21. *Prunus* türlerinde tespit edilen lignan ve glikozitleri- I

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
Dihidrobudlenol B		OCH ₃	OH	<i>P. jamasakura</i>	(62)
Dehidrokoniferil alkol	H	H	OH	<i>P. domestica</i> <i>P. persica</i>	(89) (113)
Dehidrokoniferil alkol- 10-O-β-D- glukopiranozit	H	H	OGlu	<i>P. domestica</i> <i>P. persica</i>	(88) (113)
Dehidrokoniferil alkol- 4'-O-β-D- glukopiranozit	Glu	H	OH	<i>P. persica</i>	(113)
Sakurarezinol		OCH ₃	OH	<i>P. jamasakura</i> <i>P. tomentosa</i>	(62) (118)



Tablo 2. 22. *Prunus* türlerinde tespit edilen lignan ve glikozitleri- II

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
(7 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-3,3',5-trimetoksi-4',7-epoksi-8,5'-neolignan-4,9,9'-triol	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	OCH ₃	<i>P. tomentosa</i>	(118, 119)
Fikusal	CHO	H	<i>P. tomentosa</i>	(118, 119)
Fikusal-7-O-etilsedrusin	CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	H	<i>P. tomentosa</i>	(119, 120)
Tomentosanan A	CHO	OCH ₃	<i>P. tomentosa</i>	(118, 119)
Tomentosanan B	CH ₂ OH	H	<i>P. tomentosa</i>	(118, 119)

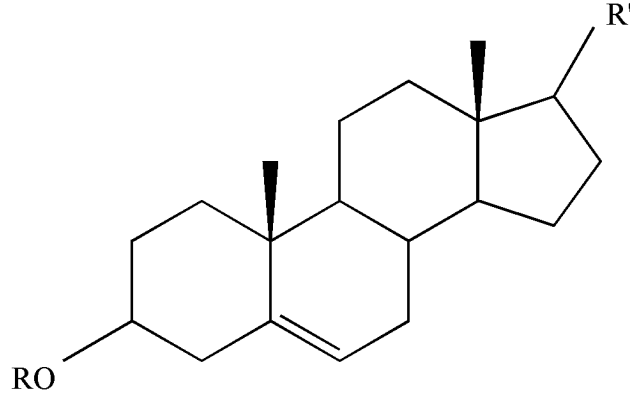


Tablo 2. 23. *Prunus* türlerinde tespit edilen lignan ve glikozitleri- III

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
Pinoresinol <i>O</i> -β-D-glukopiranozit	OCH ₃	OGlu	H	OH	<i>P. domestica</i>	(88)
(+)-Siringaresinol	OCH ₃	OH	OCH ₃	OH	<i>P. mume</i>	(121)

Terpenik Bileşikler

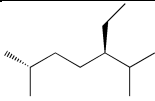
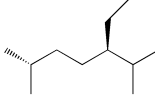
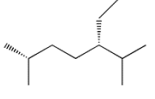
a) Steroidal Yapıdaki Bileşikler

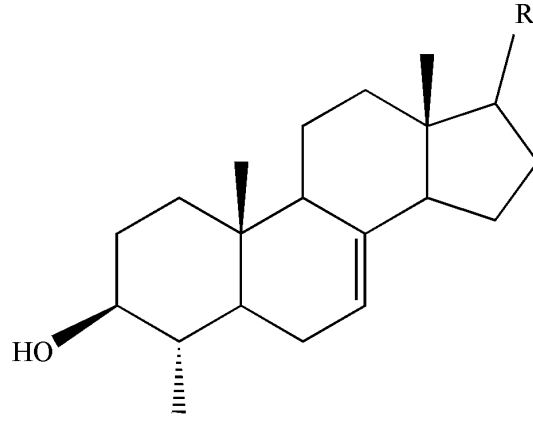


Tablo 2. 24. *Prunus* türlerinde tespit edilen steroidal yapıdaki bileşikler-I

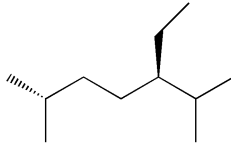
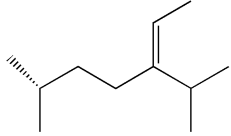
Bileşik	R	R'	Bitki	Kaynak
22-dehidroklerosteril asetat	Ac		<i>P. zippeliana</i>	(122)
22-dehidrokolesterol	H		<i>P. zippeliana</i>	(122)
Klerosterol	H		<i>P. zippeliana</i>	(122)
Stigmasteril asetat	Ac		<i>P. zippeliana</i>	(122)
Stigmasterol	H		<i>P. cerasoides</i> <i>P. cocomilia</i> <i>P. zippeliana</i> <i>P. spinosa</i>	(47) (123) (122) (124)
Stigmasterol 3-O-β-D-glukopiranozit	Glu		<i>P. dulcis</i> <i>P. zippeliana</i>	(82) (122)

Tablo 2. 24. (Devam) *Prunus* türlerinde tespit edilen steroidal yapıdaki bileşikler- I

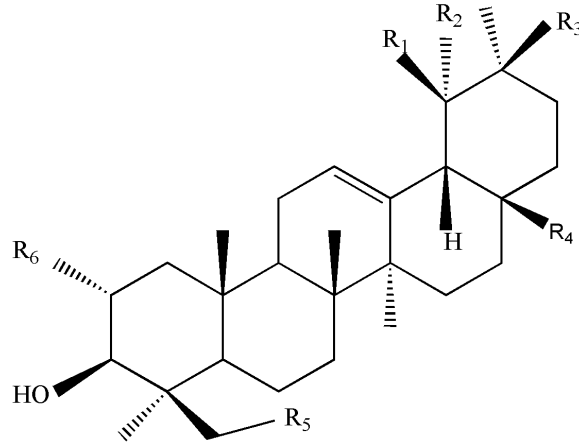
Bileşik	R	R'	Bitki	Kaynak
β -Sitosterol	H		<i>P. amygdalus</i>	(125)
			<i>P. cerasifera</i>	(29)
			<i>P. cerasoides</i>	(47)
			<i>P. cocomilia</i>	(123)
			<i>P. domestica</i>	(126)
			<i>P. laurocerasus</i>	(127)
			<i>P. mahaleb</i>	(128)
			<i>P. mume</i>	(129)
			<i>P. spinosa</i>	(124)
			<i>P. persica</i>	(46, 109)
			<i>P. tucumanensis</i>	(67)
<i>P. zippeliana</i>	(122)			
β -Sitosterol glukopiranozit	3-O- β -D- Glu		<i>P. africana</i>	(130)
			<i>P. amygdalus</i>	(125)
			<i>P. cerasifera</i>	(105)
			<i>P. dulcis</i>	(131)
			<i>P. davidiana</i>	(35)
			<i>P. mahaleb</i>	(128)
			<i>P. mume</i>	(129)
			<i>P. persica</i>	(104)
			<i>P. tucumanensis</i>	(67)
<i>P. zippeliana</i>	(122)			
γ - Sitosterol	H		<i>P. spinosa</i>	(124)



Tablo 2. 25. *Prunus* türlerinde tespit edilen steroidal yapıdaki bileşikler-II

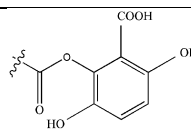
Bileşik	R	Bitki	Kaynak
24-Etil-lofenol		P. mume	(132)
Sitrostadienol		P. mume	(129)

b) Triterpen Yapısındaki Bileşikler

Tablo 2. 26. *Prunus* türlerinde tespit edilen triterpen yapıdaki bileşikler-I

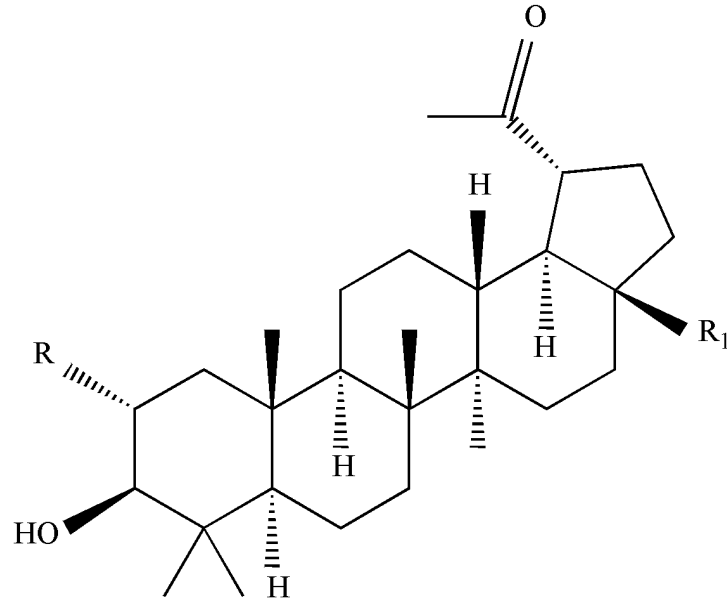
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Bitki	Kaynak
2 α ,3 α ,24-trihidroksiurs-12-en-28-oik asit	CH ₃	H	H	COOH	OH	OH	<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	(133)
2 α ,3 α ,24-trihidroksiurs-12-en-28-oik asit -28- O- β -D-glukopiranozil ester	CH ₃	H	H	COOglu	OH	OH	<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	(133)
2 α ,3 α ,19 α ,24-tetrahidroksiurs-12-en-28-oik asit-28- O- β -D-glukopiranozil ester	CH ₃	OH	H	COOglu	OH	OH	<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	(133)
2 α -hidroksi ursolik asit	CH ₃	H	H	COOH	H	OH	<i>P. davidiana</i> <i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i> <i>P. zippeliana</i>	(134) (133) (122)

Tablo 2. 26. (Devam) *Prunus* türlerinde tespit edilen triterpen yapıdaki bileşikler-I

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Bitki	Kaynak
α -amirin	CH ₃	H	H	CH ₃	H	H	<i>P. davidiana</i>	(134)
							<i>P. spinosa</i>	(124)
β -amirin	H	H	CH ₃	CH ₃	H	H	<i>P. spinosa</i>	(124)
							<i>P. africana</i>	(130)
Korosolik asit	CH ₃	H	H	COOH	H	OH	<i>P. dulcis</i>	(131)
							<i>P. lusitanica</i>	(135)
							<i>P. mume</i>	(129)
							<i>P. serotina</i>	(135)
Maslinik asit	H	H	CH ₃	COOH	H	OH	<i>P. dulcis</i>	(131)
Metil-2 α ,3 α ,24-trihidroksiurs-12-en-28-oik asit	CH ₃	H	H	COOCH ₃	OH	OH	<i>P. serrulata var. spontanea</i>	(133)
Oleanolik aldehit	H	H	CH ₃	COH	H	H	<i>P. dulcis</i>	(131)
Oleanolik asit	H	H	CH ₃	COOH	H	H	<i>P. avium</i>	(136)
							<i>P. dulcis</i>	(131)
							<i>P. spinosa</i>	(124)
							<i>P. zippeliana</i>	(122)
Prunol	CH ₃	H	H		H	H	<i>P. cerasoides</i>	(137)
Tormentik asit	CH ₃	OH	H	COOH	H	OH	<i>P. zippeliana</i>	(122)

Tablo 2. 26. (Devam) *Prunus* türlerinde tespit edilen triterpen yapıdaki bileşikler-I

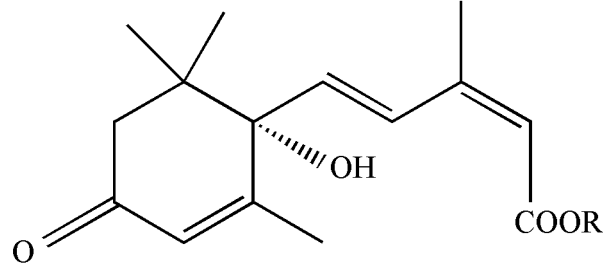
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Bitki	Kaynak
Ursolik asit	CH ₃	H	H	COOH	H	H	<i>P. amygdalus</i>	(81)
							<i>P. avium</i>	(136)
							<i>P. cerasoides</i>	(47)
							<i>P. cerasifera</i>	(29)
							<i>P. davidiana</i>	(134)
							<i>P. dulcis</i>	(131)
							<i>P. mume</i>	(129)
							<i>P. persica</i>	(138)
							<i>P. spinosa</i>	(124)
							<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	(133)
Ursolik aldehit	CH ₃	H	H	COH	H	H	<i>P. dulcis</i>	(131)
							<i>P. lusitanica</i>	(135)
							<i>P. serotina</i>	(135)
Uvaol	CH ₃	H	H	CH ₂ OH	H	H	<i>P. mume</i>	(129)
							<i>P. serotina</i>	(139)



Tablo 2. 27. *Prunus* türlerinde tespit edilen triterpen yapıdaki bileşikler-II

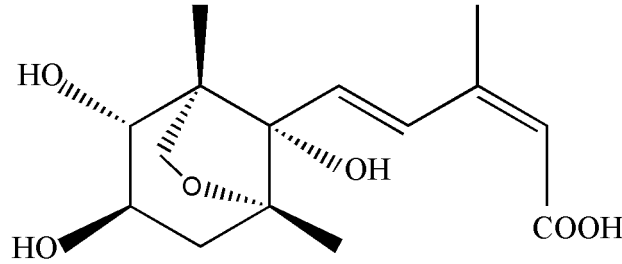
Bileşik	R	R ₁	Bitki	Kaynak
Alfitolik asit	OH	COOH	<i>P. dulcis</i>	(131)
Betulinik aldehit	H	COH	<i>P. dulcis</i>	(131)
Betulinik asit	H	COOH	<i>P. dulcis</i>	(131)
Betulin	H	CH ₂ OH	<i>P. dulcis</i>	(131)

c) Seskiterpen Yapısındaki Bileşikler

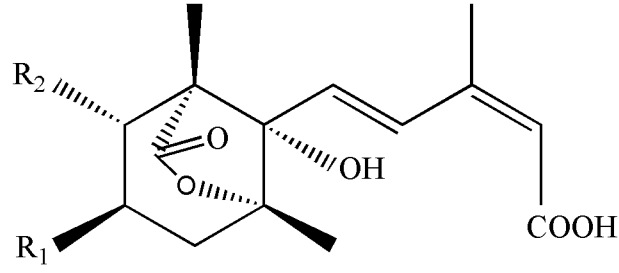


Tablo 2. 28. *Prunus* türlerinde tespit edilen seskiterpen yapıdaki bileşikler-I

Bileşik	R	Bitki	Kaynak
β -D-glukozil absisat	Oglu	<i>P. domestica</i>	(88)
Absisik asit	H	<i>P. domestica</i>	(88)



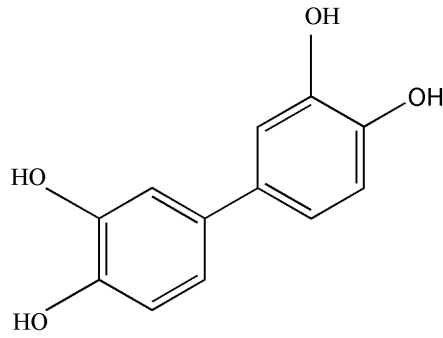
Bileşik	Bitki	Kaynak
<i>rel</i> -(-)-(2 <i>Z</i> ,4 <i>E</i>)-3-metil-5-[(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)-2,3,8-trihidroksi-1,5-dimetil-6-okzabisiklo[3.2.1]oct-8-il]-2,4-pentadienoik asit	<i>P. domestica</i>	(88)



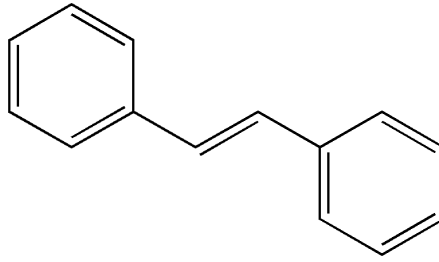
Tablo 2.29. *Prunus* türlerinde tespit edilen seskiterpen yapıdaki bileşikler-II

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
<i>rel</i> -5-(1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> -dimetil-3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,8 <i>S</i> -trihidroksi-7-oksa-6-oksobisiklo[3,2,1]oct-8-il)-3-metil-2 <i>Z</i> ,4 <i>E</i> -pentadienoik asit	OH	OH	<i>P. domestica</i>	(88)
<i>rel</i> -5-(3 <i>S</i> ,8 <i>S</i> -dihidroksi-1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> -dimetil-7-oksa-6oksobisiklo[3,2,1]oct-8-il)-3-metil-2 <i>Z</i> ,4 <i>E</i> -pentadienoik asit	H	OH	<i>P. domestica</i>	(88)
<i>rel</i> -5-(3 <i>S</i> ,8 <i>S</i> -dihidroksi-1 <i>R</i> ,5 <i>S</i> -dimetill-7-oksa-6-oksobisiklo[3,2,1] oct-8-il)-3-metil-2 <i>Z</i> ,4 <i>E</i> -pentadienoik asit 3'- <i>O</i> -β-D-glukopiranozit	OH	Glu	<i>P. domestica</i>	(88)

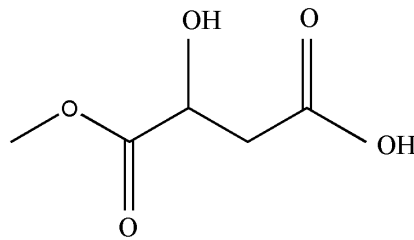
Diğer Bileşikler



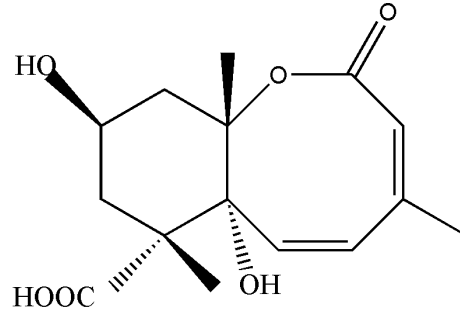
Bileşik	Bitki	Kaynak
3, 3', 4, 4'-tetrahidroksibifenil	<i>P. cerasifera</i>	(105)



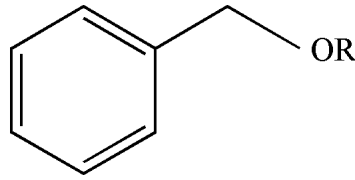
Bileşik	Bitki	Kaynak
<i>trans</i> -stilben	<i>P. dulcis</i>	(79)



Bileşik	Bitki	Kaynak
Malik asit 1-metil ester	<i>P. cerasifera</i>	(105)

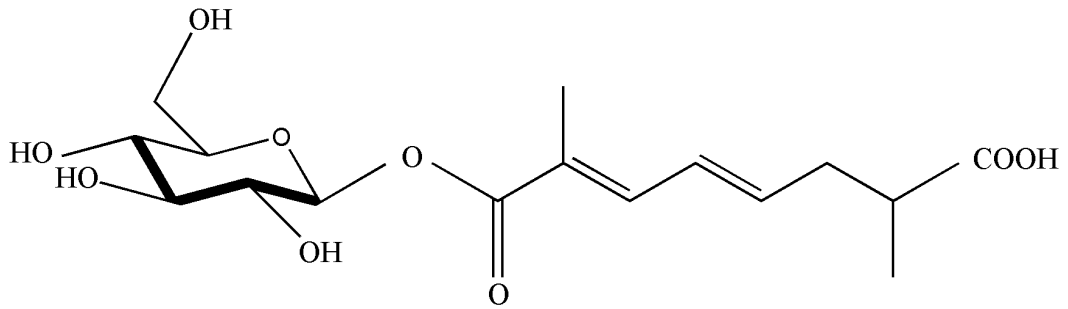


Bileşik	Bitki	Kaynak
Amigdalakton	<i>P. amygdalus</i>	(140)

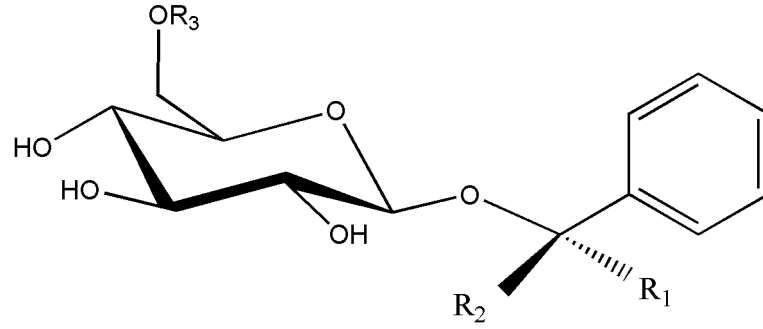


Tablo 2. 30. *Prunus* türlerinde tespit edilen diğer bileşikler-I

Bileşik	R	Bitki	Kaynak
Benzil-O- β -D-glukopiranozit	Glu	<i>P.mume</i>	(95, 117)
Benzil - β -primeverozit	Glu ⁶⁻¹ Ksi	<i>P.domestica</i>	(87, 88)
		<i>P. mume</i>	(117)

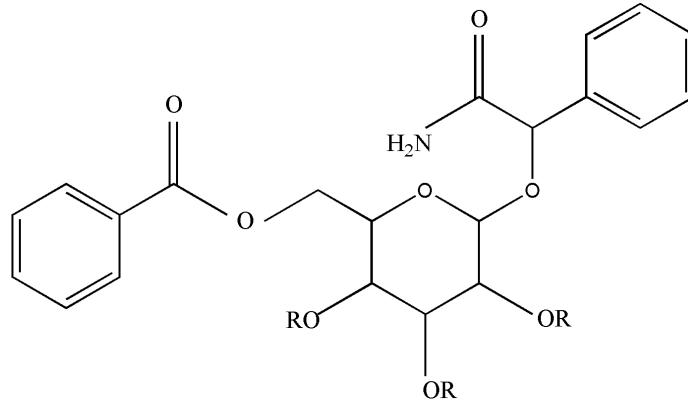


Bileşik	Bitki	Kaynak
β -D-glukopiranozil 7-karboksi-2-metil-2E,4E-oktadienat	<i>P. domestica</i>	(141)



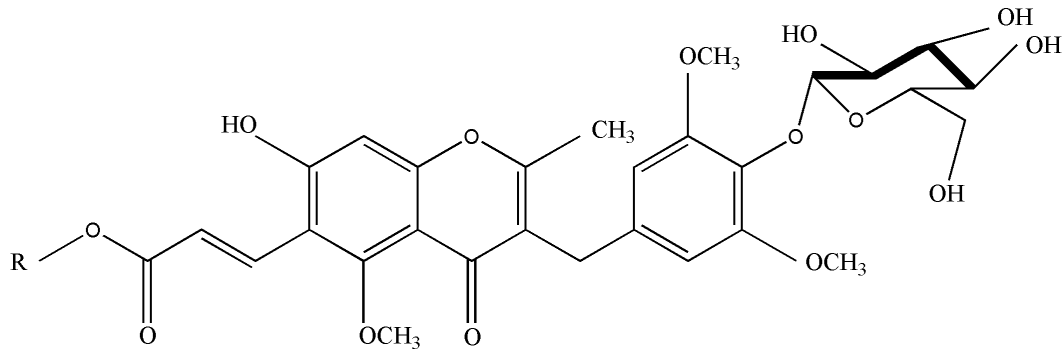
Tablo 2. 31. *Prunus* türlerinde tespit edilen diğer bileşikler-II

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bitki	Kaynak
Amigdalın	H	CN	Glu	<i>P.persica</i>	(37, 113, 142)
				<i>P. serotina</i>	(143)
				<i>P. spinosa</i>	(144)
				<i>P.laurocerasus</i>	(127)
				<i>P. virginiana</i>	(143)
Prunasin amit	H	CONH ₂	H	<i>P. dulcis</i>	(25)
Prunasin	H	CN	H	<i>P. aygdalus</i>	(125)
				<i>P. dulcis</i>	(25)
				<i>P. jamasakura</i>	(103)
				<i>P. laurocerasus</i>	(127)
				<i>P. mume</i>	(95)
				<i>P. persica</i>	(37, 113, 142)
				<i>P. spinosa</i>	(144)
<i>P. zippeliana</i>	(122)				
Amigdalınik asit	H	COOH	Glu	<i>P. persica</i>	(142)
Mandelik asit-β-D-glukopiranozit	H	COOH	H	<i>P. dulcis</i>	(25)
				<i>P. persica</i>	(142)
				<i>P. zippeliana</i>	(122)
Benzil -β-gentiobiozit	H	H	Glu	<i>P. persica</i>	(142)
Benzil - β-D-glukopiranozit	H	H	H	<i>P. persica</i>	(142)
Sambunigrin	CN	H	H	<i>P. spinosa</i>	(144)



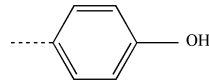
Tablo 2. 32. *Prunus* türlerinde tespit edilen diğer bileşikler-III

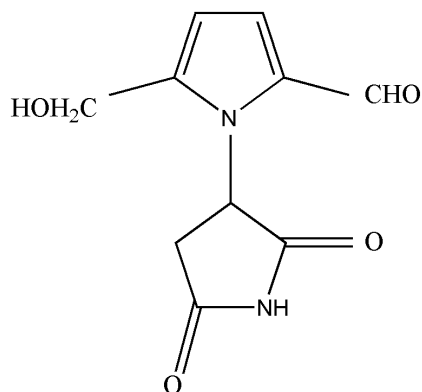
Bileşik	R	Bitki	Kaynak
Asetil persikazit	Ac	<i>P. persica</i>	(145)
Persikazit	H	<i>P. persica</i>	(145)



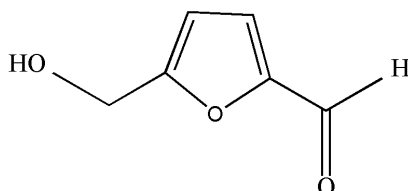
Tablo 2. 33. *Prunus* türlerinde tespit edilen diğer bileşikler-IV

Bileşik	R	Bitki	Kaynak
Purunuzit A	H	<i>P. domestica</i>	(126)
Purunuzit B	CH ₂ CH ₂ CH ₃	<i>P. domestica</i>	(126)
Purunuzit C		<i>P. domestica</i>	(126)

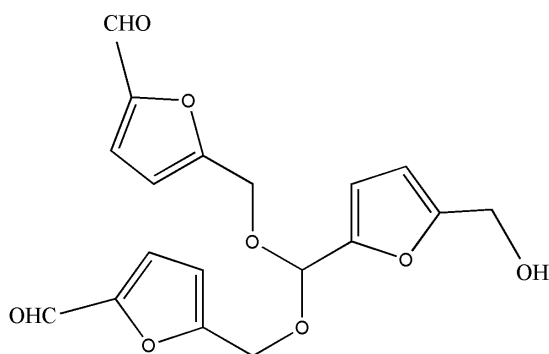




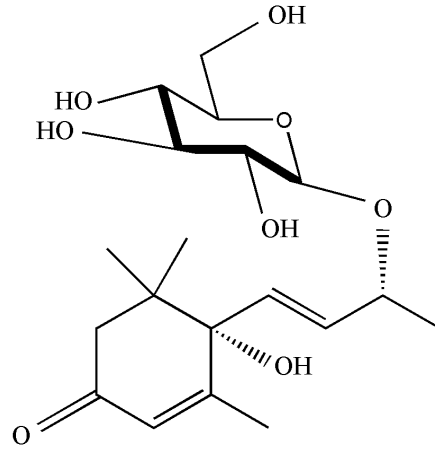
Bileşik	Bitki	Kaynak
2-(5-hidroksimetil-2',5'-diokso-2',3',4',5'-tetrahidro-10H-1,3'-bipirrol)karbaldehit	<i>P. domestica</i>	(87, 88)



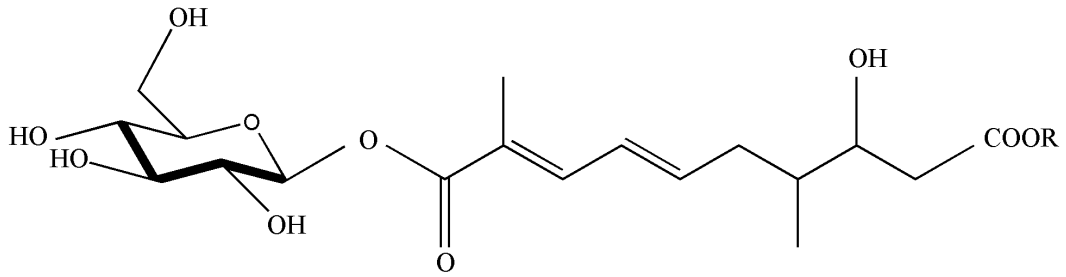
Bileşik	Bitki	Kaynak
5-Hidroksimetil-2-furaldehit	<i>P. domestica</i>	(88, 89)
	<i>P. mume</i>	(95)



Bileşik	Bitki	Kaynak
5-hidroksimetil-2-furaldehit	<i>P. mume</i>	(146)
bis (5-formilfurfuril) asetal	<i>P. persica</i>	(48)



Bileşik	Bitki	Kaynak
Roseozit	<i>P. domestica</i>	(88)



Tablo 2. 34. *Prunus* türlerinde tespit edilen diğer bileşikler-V

Bileşik	R	Bitki	Kaynak
β -D-glukopiranozil 9-karboksi-8-hidroksi-2,7-dimetil-2E, 4E-nonadienat	H	<i>P. domestica</i>	(141)
8-hidroksi-2,7-dimetil-2E,4E-dekadienedioik asit 1- β -D-glukopiranol ester 10-metil ester	CH ₃	<i>P. domestica</i>	(141)

Sabit ve Uçucu Yağlar

Prunus türlerinin özellikle tohum olmak üzere çeşitli kısımlarından gaz kromatografisi (GC, GC-MS) kullanılarak tespit edilen major bileşikler aşağıda tablolarda halinde gösterilmiştir.

Sabit Yağlar

Tablo 2. 35. *Prunus* türlerinin sabit yağlarında tespit edilen bileşikler

Bileşik	Bitki	Kaynak
Δ^5 -avenasterol	<i>P. armeniaca</i>	(147)
Δ^7 -avenasterol	<i>P. armeniaca</i>	(147)
Δ^7 -stigmasterol	<i>P. armeniaca</i>	(147)
9- oktadekenamit	<i>P. dulcis</i>	(148)
9- oktadekenoik asit	<i>P. dulcis</i>	(149)
10- oktadekenoik asit	<i>P. dulcis</i>	(148)
24-metilen-sikloartanol	<i>P. armeniaca</i>	(147)
α -eleostearik asit	<i>P. mahaleb</i>	(150)
α -Linoleik asit	<i>P. mahaleb</i>	(151)
α - tokoferol	<i>P. tenella</i>	(152)
β -sitosterol	<i>P. armeniaca</i>	(147)
	<i>P. mahaleb</i>	(153)
	<i>P. persica</i>	(154)
γ - Linoleik asit	<i>P. avium</i>	(71)
γ -Sitosterol	<i>P. avium</i>	(155)
γ -tokoferol	<i>P. tenella</i>	(152)
Araşidik asit	<i>P. africana</i>	(156)
	<i>P. mahaleb</i>	(151)
Di-2-etilhekzil-fitalat	<i>P. avium</i>	(155)
Dokosanol	<i>P. avium</i>	(155)
Erusilamit	<i>P. avium</i>	(155)
Gramisterol	<i>P. armeniaca</i>	(147)
Heneikozan	<i>P. mahaleb</i>	(153)
Kampesterol	<i>P. armeniaca</i>	(147)
	<i>P. persica</i>	(154)
Linoleik asit	<i>P. africana</i>	(156)
	<i>P. cerasus</i>	(157)
	<i>P. dulcis</i>	(149)
	<i>P. dulcis var. amara</i>	(158)
	<i>P. mahaleb</i>	(150, 151, 153, 159)
	<i>P. mongolica</i>	(160)
	<i>P. tangutica</i>	(160)
	<i>P. tenella</i>	(152)

Tablo 2.35. (Devam) *Prunus* türlerinin sabit yağlarında tespit edilen bileşikler

Linolelaidik asit	<i>P. mahaleb</i>	(151)
Metil linoleat	<i>P. mahaleb</i>	(151)
Miristik asit	<i>P. africana</i>	(156)
	<i>P. mahaleb</i>	(151, 159)
Miristoleik asit	<i>P. mahaleb</i>	(159)
Oktadekanol	<i>P. avium</i>	(155)
Oktaziokzan	<i>P. armeniaca</i>	(148)
Oleik asit	<i>P. africana</i>	(156)
	<i>P. avium</i>	(71)
	<i>P. cerasus</i>	(157)
	<i>P. dulcis</i>	(149)
	<i>P. dulcisvar. amara</i>	(158)
	<i>P. mahaleb</i>	(150, 151, 153, 159)
	<i>P. mongolica</i>	(160)
	<i>P. tangutica</i>	(160)
	<i>P. tenella</i>	(152)
Palmitik asit	<i>P. avium</i>	(71)
	<i>P. dulcis</i>	(149)
	<i>P. mahaleb</i>	(151, 159)
Palmitoleik asit	<i>P. dulcis</i>	(161)
	<i>P. mahaleb</i>	(151)
Pentadekanoik asit	<i>P. armeniaca</i>	(148)
	<i>P. dulcis</i>	(148)
Siklodekasilokzan	<i>P. armeniaca</i>	(148)
Sitrostadienol	<i>P. armeniaca</i>	(147)
Stearik asit	<i>P. dulcis</i>	(149)
	<i>P. mahaleb</i>	(151, 159)
Tinmodonik asit	<i>P. mahaleb</i>	(153)

Uçucu Yağlar

Tablo 2. 36. *Prunus* türlerinin uçucu yağlarında tespit edilen bileşikler

Bileşik	Bitki	Kaynak
1-butanol	<i>P. salicina</i>	(162)
1-hekzanol	<i>P. avium</i>	(75)
1-metiletil ester	<i>P. tomentosa</i>	(163)
tetradekanoik asit		
2- hekzanal	<i>P. salicina</i>	(162)
2- hekzen-1-ol	<i>P. avium</i>	(75)
1,3,5-sikloheptarien	<i>P. armeniaca</i>	(164)
1, 8- sineol	<i>P. phaeosticta</i> var. <i>phaeosticta</i>	(165)
2- β -pinen	<i>P. yedoensis</i>	(166)
6,10,14-trimetil-2-pentadekanon	<i>P. mume</i>	(167)
<i>E</i> -11-metil-12-tetradeden-1-ol asetat	<i>P. tomentosa</i>	(163)
α -bisabolen	<i>P. mume</i>	(167)
α - kububen	<i>P. armeniaca</i>	(164)
α - pinen	<i>P. armeniaca</i> <i>P. domestica</i> <i>P. yedoensis</i>	(164) (168) (166)
α - terpinil asetat	<i>P. phaeosticta</i> var. <i>phaeosticta</i>	(165)
β -pinen	<i>P. armeniaca</i>	(168)
γ -dodekalakton	<i>P. salicina</i>	
γ -kadinen	<i>P. armeniaca</i> <i>P. yedoensis</i>	(168) (166)
Akraldehit	<i>P. armeniaca</i>	(164)
Benzaldehit	<i>P. armeniaca</i> <i>P. avium</i> <i>P. phaeosticta</i> var. <i>phaeosticta</i>	(169) (75) (165)
Benzil alkol	<i>P. avium</i>	(75)
Butan-2-3-diol	<i>P. salicina</i>	(162)
Fitol	<i>P. armeniaca</i> <i>P. domestica</i> <i>P. mahaleb</i>	(164) (164) (170)
Germakren D	<i>P. yedoensis</i>	(166)

Tablo 2.36. (Devam) *Prunus* türlerinin uçucu yağlarında tespit edilen bileşikler

Hekza. dekanıik asit	<i>P. mahaleb</i>	(170)
Hekzanal	<i>P. avium</i>	(75)
	<i>P. salicina</i>	(162)
Hekzil asetat	<i>P. salicina</i>	(162)
Junipen	<i>P. yedoensis</i>	(166)
Kamfen	<i>P. armeniaca</i>	(164)
	<i>P. yedoensis</i>	(166)
Kamfor	<i>P. yedoensis</i>	(166)
Karyofilen	<i>P. armeniaca</i>	(168)
	<i>P. domestica</i>	(168)
	<i>P. yedoensis</i>	(166)
Limonen	<i>P. armeniaca</i>	(168)
Linalol	<i>P. armeniaca</i>	(168)
Mandelonitril	<i>P. armeniaca</i>	(169)
Oktakozan	<i>P. mahaleb</i>	(170)
Palmitik anhidrit	<i>P. tomentosa</i>	(163)
Silvestren	<i>P. yedoensis</i>	(166)
Nonakozan	<i>P. armeniaca</i>	(168)
	<i>P. domestica</i>	(168)

2.1.2. *Prunus* L. Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Etkileri

Prunus türleri üzerinde yapılan biyolojik etki çalışmaları *in vitro*, *in vivo* ve klinik çalışmalar olarak gruplandırılmış ve tablolar halinde sunulmuştur. Tez bitkisi olan *P. mahaleb* üzerinde yapılan çalışmalar da tabloda yer almakla birlikte çalışmaların ayrıntıları tabloların sonunda verilmiştir.

Tablo 2. 37. *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Biyolojik Etki	Kullanılan Kısım	Ekstre	Kaynak
Akciğer Koruyucu			
<i>P. mume</i>	Meyve	Belirtilmemiş	(146)
Alzheimer'a Karşı			
<i>P. armeniaca</i>	Yaprak	Uçucu yağ	(168)
<i>P. domestica</i>	Yaprak	Uçucu yağı	(168)
<i>P. persica</i>	Meyve	%60 asetonlu ekstre	(18)
	Meyve kabuğu	Belirtilmemiş	(48)
Antialerjik			
<i>P. domestica</i>	Meyve	Sulu ekstre	(171)
<i>P. persica</i>	Meyve	%70 etanollü ekstre	(172)
	Tohum	Metanollü ekstre	(113)
Antiandrojenik			
<i>P. africana</i>	Kök kabukları	Diklorometanlı ekstre	(108)
Antidermatofitik			
<i>P. eburnea</i>	Kök kabukları	Metanollü ekstre	(173)
Antidiyabetik			
<i>P. avium</i>	Kök	Sulu ekstre	((174)
<i>P. cerasus</i>	Meyve	%80 etanollü ekstre	(175)
<i>P. domestica</i>	Meyve	Sulu ekstre	(176)

Tablo 2.37. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Antidiyabetik			
<i>P. dulcis</i>	Tohum	%70 etanollü ekstre	(82)
	Endokarp	Sulu ekstrenin %60 asetonlu fraksiyonu	(177)
<i>P. persica</i>	Meyve	%80 metanollü ekstre	(178)
	kabukları Endokarp	Belirtilmemiş	(48)
Antienflamatuvar			
<i>P. mahaleb</i>	Meyve	Etanollü ekstre	(179)
<i>P. persica</i>	Meyve	%70 Etanollü ekstre	(180)
<i>P. persica</i> var. <i>dauidiana</i>	Meyve	%70 Etanollü ekstre	(181)
<i>P. serotina</i> subsp. <i>capuli</i>	Meyve	%80 metanollü ekstre	(182)
<i>P. spinosa</i>	Çiçek	%70 metanollü ekstre	(183)
<i>P. tucumanensis</i>	Kabuk	Metanollü ve kloroformlu ekstre	(67)
		<i>P. yedoensis</i>	Çiçek
		Uçucu yağ	(166)
	Kabuk	% 30 Etanollü ekstre	(185)
Antihelmentik			
<i>P. persica</i>	Yaprak	Etanollü etil asetatlı ve petrol eterli ekstre	(186)
Antihiperlipidemik			
<i>P. domestica</i>	Meyve	Sulu ekstre	(187)
Antihipertansif			
<i>P. domestica</i>	Tohum	Protein ekstresi	(188)

Tablo 2.37. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Antimikrobiyal			
<i>P. africana</i>	Kabuk	Asetonlu ekstre	(189)
		Metanollü ekstre	(189)
<i>P. amygdalus</i>	Kök kabukları	Etanollü ekstre	(190)
	Meyve	%95 etanollü ekstre	(191)
	Yaprak	Sulu ekstre	(192)
<i>P. armeniaca</i>	Meyve	%95 etanollü ekstre	(191)
		Etanollü ekstre	(15)
		Metanollü ekstre	(193)
	Tohum	Metanollü ekstrenin butanol fraksiyonu	(194)
		Metanollü ekstre	(148)
		Uçucu yağ	(169)
<i>P. avium</i>	Endokarp	Hekzanlı Ekstre	(195)
	Kök	Sulu ekstre	(196)
		Metanollü ve sulu ekstre	(197)
<i>P. cerasoides</i>	Endokarp	Sulu ekstre	(198)
		Etil asetatlı ekstre	(199)
<i>P. cerasus</i>	Meyve	Sulu ekstre	(200)
		Meyvenin konsantre suyu	(201)
<i>P. cornuta</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(202)
<i>P. domestica</i>	Meyve	Etanollü ekstre	(203)
		Etil asetatlı ekstre	(203)
<i>P. dulcis</i>	Tohum	Metanollü ekstre	(148)
<i>P. laurocerasus</i>	Meyve	Metanollü ekstre	(204)
<i>P. mahaleb</i>	Tohum	Etanollü ekstre	(205)
<i>P. persica</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(206)

Tablo 2.37. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Antimikrobiyal				
<i>P. sargentii</i>	Kabuk	%75 etanollü ekstre	(207)	
<i>P. spinosa</i>	Meyve	Metanollü ve sulu ekstre	(97)	
<i>P. tucumanensis</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(67)	
Antimutajenik				
<i>P. jamasakura</i>	Kabuk	Metanollü ekstre nin diklorometanfraksiyonu	(208)	
Antioksidan				
<i>P. amygdalus</i>	Tohum	Asetonlu ekstre	(209)	
	Yaprak	DMSO'lu ekstre	(192)	
	Yeşil meyve	Metanollü ekstre	(210)	
	kabukları			
	Yeşil meyve	Toplam polisakkarit	(211)	
<i>P. armeniaca</i>	Meyve	kabukları	fraksiyonu	
		Meyve	%80 etanollü ekstre	(212)
			Metanollü ekstre	(193)
			Metanol:etilasetat:petrol eteri(1:1:1)	(213)
	Tohum kabuğu	Metanol:etilasetat:petrol eteri(1:1:1)	(213)	
<i>P. avium</i>	Kök	Hekzanlı ekstre	(195)	
		%50 etanollü ekstre	(174)	
		Metanollü ve sulu ekstre	(197)	
		Sulu ekstre	(174)	
	Meyve	Etanollü ekstre	(214)	
Petiol	Metanollü ekstre	(71)		

Tablo 2. 37. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Antioksidan			
	Yaprak	%60 metanollü ekstre	(215)
		Sulu ekstre	(196)
		Belirtilmemiş	(216)
		Toplam flavanoit ekstresi	(217)
<i>P. cerasifera</i>	Meyve kabuğu	Aseton/metanol/ su/formik asit (40:40:20:0.1)li ekstre	(70)
	Yaprak ve dal	Kondanse tanen ekstresi	(218)
<i>P. cerasus</i>	Meyve	Etanollü ekstre	(219)
<i>P. davidiana</i>	Meyve	Metanollü ekstrenin etil asetatlı fraksiyonu	(220)
<i>P. domestica</i>	Çiçek	%80 asetonlu ekstre	(221)
	Meyve	Etanollü ekstre	(203, 222)
		Etil asetatlı ekstre	(203, 222)
		Metanollü ekstre	(222)
	Tohum	Protein ekstresi	(188)
	Yaprak	60 metanollü ekstre	(215)
		Toplam flavanoit ekstresi	(223)
<i>P. dulcis</i>	Tohum	Aseton ekstresi	(110)
	Yaprak	Kloroformlu ekstre	(25)
	Tohum kabuğu	Metanollü ekstre	(224)
<i>P. dulcis var. amara</i>	Tohum kabuğu	Metanollü ekstre	(158)
<i>P. grisea</i>	Yaprak	%95 etanollü ekstre	(225)
<i>P. mahaleb</i>	Meyve	Sulu ve etanollü ekstre	(68)

Tablo 2. 37. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Antioksidan			
<i>P. mume</i>	Meyve	Etanollü ekstre	(226)
		Metanollü ekstrenin etil asetatlı ve sulu fraksiyonu	(22)
	Tohum	Metanollü ekstrenin etil asetatlı fraksiyonu	(106)
<i>P. padus</i>	Çiçek ve yaprak	Sulu ekstre	(227)
		%70 metanollü ekstre	(17)
<i>P. salicina</i>	Kabuk	Sulu ekstre	(228)
	Meyve	%95 metanollü ekstre	(80)
	Meyve	Belirtilmemiş	(34)
<i>P. persica</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(206)
	Meyve	Meyvenin kendi suyu	(229)
		%60 asetonlu ekstre	(18)
<i>P. persica</i> var.	Endokarp	Belirtilmemiş	(48)
	Meyve kabuğu	Etanollü ekstre	(100)
<i>platycarpa</i>	Tohum	Etanollü ekstre	(100)
	Tohum kabuğu	Etanollü ekstre	(100)
<i>P. serotina</i> subsp. <i>capuli</i>	Meyve	%80 metanollü ekstre	(182)
<i>P. serrulata</i> var. <i>spontanea</i>	Çiçek	Metanollü ve asetonlu ekstre	(230)
		Etanollü ve sulu ekstre	(231)
<i>P. spinosa</i>	Çiçek	%70 metanollü ekstre	(183)
	Meyve	% 70 metanollü ekstre	(232)
<i>P. tucumanensis</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(97)
		Metanollü ekstre	(67)

Tablo 2. 37. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Antiosteoporozis			
<i>P. mume</i>	Meyve	Metanollü ekstre	(129)
		Metanollü ekstrenin etil asetatlı ve sulu fraksiyonu	(22)
		Sulu ekstre	(233)
Antipsoriatik Aktivite			
<i>P.armeniaca</i> var. <i>ansu</i>	Tohum	Uçucu yağ	(234)
Antitirozinaz ve Melanogenez inhibisyonu			
<i>P. amygdalus</i>	Çiçek	%50 etanollü ekstre	(59)
<i>P. armeniaca</i>	Çiçek	%50 etanollü ekstre	(59)
	Meyve	Fosfat tamponu ekstresi	(235)
<i>P. avium</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(236)
<i>P. campanulata</i>	Yaprak	Asetonlu ekstre	(237)
<i>P. cerasifera</i>	Dal	Kondanse tanen ekstresi	(218)
	Yaprak	Kondanse tanen ekstresi	(218)
<i>P. davidiana</i>	Kök	Metanollü ekstre	(238)
	Meyve	Metanollü ekstrenin etil asetatlı fraksiyonu	(220)
<i>P. mume</i>	Çiçek	%50 etanollü ekstre	(59)
		Belirtilmemiş	(239)
	Çiçek	Metanollü ekstrenin etil asetatlı ve <i>n</i> -butanollü fraksiyonu	(24)
	tomurcukları	asetatlı ve <i>n</i> -butanollü fraksiyonu	
	Meyve	Sulu ekstre	(227)
<i>P. padus</i>	Kabuk	Sulu ekstre	(228)
<i>P. persica</i>	Çiçek	%50 etanollü ekstre	(59)
		Metanollü ekstre	(240)
	Meyve	Belirtilmemiş	(241)

Tablo 2. 37. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Antitirozinaz ve Melanogenez inhibisyonu			
<i>P. sargentii</i>	Kabuk	%75 etanollü ekstrenin etil asetatlı fraksiyonu	(207)
<i>P. serrulata var.</i>	Dal	Etanollü ekstre	(231)
<i>spontanea</i>	Yaprak	Etanollü ekstre	(231)
<i>P. yedoensis</i>	Çiçek	%50 etanollü ekstre	(59)
Antiviral			
<i>P. cerasus</i>	Meyve	%80 metanollü ekstre	(242)
<i>P. lannesiana</i>	Meyve	%80 metanollü ekstre	(242)
<i>P. persica</i>	Yaprak	Metanollü ekstre	(243)
<i>P. sargentii</i>	Kök	Metanollü ekstre	(243)
	Meyve	%80 metanollü ekstre	(242)
	Yaprak	Metanollü ekstre	(243)
<i>P. yedoensis</i>	Meyve	%80 metanollü ekstre	(242)
Cilt hasarlarından koruyucu ve Antifotoaging			
<i>P. avium</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(236)
<i>P. domestica</i>	Yaprak	Etanollü ekstre	(244)
<i>P. padus</i>	Kabuk	Sulu ekstre	(228)
<i>P. persica</i>	Çiçek	%80 etanollü ekstre	(245)
	Meyve	Belirtilmemiş	(246)
<i>P. yedoensis</i>	Çiçek	1, 3-propanediol ekstresi	(247)
<i>P. yeonensis</i>	Çiçek	1, 3-propanediol ekstresi	(248)

Tablo 2. 37. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Hafıza güçlendirici			
<i>P. domestica</i>	Meyve	Sulu alkollü ekstre	(249)
Hepatoprotektif			
<i>P. domestica</i>	Meyve	Etil asetatlı ekstre	(250)
İmmün Sistemi Güçlendirici (İmmünostimülan)			
<i>P. avium</i>	Meyve	Polisakkarit ekstresi	(251)
<i>P. cerasus</i>	Meyve	Etil asetatlı fraksiyon	(30)
<i>P. mume</i>	Meyve	Etanollü ekstre	(252)
<i>P. salicina</i>	Meyve	Metanollü ekstre	(253)
İnsektisit			
<i>P. persica</i>	Kök kabukları	Metanollü ekstre	(254)
Kardiyoprotektif			
<i>P. armeniaca</i>	Meyve	%70 metanollü ekstre	(255)
<i>P. cerasus</i>	Meyve	Konsantre meyve suyu	(256)
<i>P. persica</i>	Meyve	Etil asetatlı ekstre	(180)
Midevi hastalıklara karşı koruyucu			
<i>P. mume</i>	Meyve	Metanollü ekstre Meyvenin kendi suyu	(121)
Nöroprotektif			
<i>P. domestica</i>	Meyve	Sulu ekstre	(257)
Östradiol Sekresyonunu Artırıcı			
<i>P. mume</i>	Tohum	Metanollü ekstrenin etil asetatlı fraksiyonu	(106) (258)
Prebiyotik aktivite			
<i>P. amygdalus</i>	Tohum	Belirtilmemiş	(259)
Sitotoksik			
<i>P. africana</i>	Kabuk	%30 etanollü ekstre	(260)

Tablo 2. 37. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Sitotoksik			
<i>P. amygdalus</i>	Tohum Kabuğu	Etil asetatlı ekstre	(140)
	Yeşil meyve kabukları	Toplam polisakkarit fraksiyonu	(211)
<i>P. angustifolia</i>	Yaprak	Metanollü ekstre	(261)
<i>P. armeniaca</i>	Tohum kabuğu	%80 etanollü ekstre	(262)
		Sulu ekstre	(196)
<i>P. avium</i>	Meyve	%50 Etanollü ekstre	(263)
		Belirtilmemiş	(216)
		Etanollü ekstresnin etil asetat fraksiyonu	(264)
		Metanollü ekstre	(265)
<i>P. domestica</i>	Meyve	%50 Etanollü ekstre	(263)
		Etanollü ekstre	(266)
		Etil asetatlı ekstre	(203)
<i>P. dulcis</i>	Tohum	Sabit yağ	(161)
<i>P. lauracerasus</i>	Meyve	DMSO'lu ekstre	(267)
		Sulu ekstre	(268)
<i>P. mahaleb</i>	Meyve	Etanollü ekstre	(179)
<i>P. mume</i>	Meyve	Belirtilmemiş	(269)
		Etanollü ekstre	(270)
		Metanollü ekstrenin hekzan fraksiyonu	(86)
		Sulu ekstre	(271)
	Yaprak	Etanollü ekstre	(272)
<i>P. persica</i>	Meyve	%60 asetonlu ekstre	(18)
	Endokarp	%80 etanollü ekstre	(262)

Tablo 2. 37. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vitro* çalışmalar)

Sitotoksik			
<i>P. salicina</i>	Olgunlaşmamış meyve	%60 asetonlu ekstre	(273)
<i>P. serrulata var. spontanea</i>	Çiçek	Metanollü ekstre	(230)
<i>P. spinosa</i>	Çiçek	Etanollü ekstre	(274)
	Meyve	%80 Metanollü ekstre	(94)
Üriner sistem rahatsızlıklarında (sistit)			
<i>P. serotina</i> subsp. <i>capuli</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(275)

Tablo 2. 38. *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vivo* çalışmalar)

Biyolojik Etki	Kullanılan Kısım	Ekstre	Kaynak
Alzheimer			
<i>P. persica</i>	Tohum	Sulu ekstre	(276)
Anksiyolitik			
<i>P. americana</i>	Meyve	Etanollü ekstre	(277)
Antibenign prostatik hiperplazi			
<i>P. africana</i>	Kabuk	%30 etanollü ekstre	(260)
		Kloroformlu ekstre	(156)
		Metanollü ekstre	(278)
<i>P. amygdalus</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(278)
<i>P. armeniaca</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(278)
<i>P. cerasoides</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(278)
<i>P. domestica</i>	Kabuk	Belirtilmemiş	(279)
		Metanollü ekstre	(278)
<i>P. persica</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(278)
Antidepresan			
<i>P. amygdalus</i>	Tohum	Belirtilmemiş	(280)
Antidiyabetik			
<i>P. amygdalus</i>	Tohum	Yağından kurtarılmış lapa	(281)
<i>P. avium</i>	Meyve	Asitli- etanollü ekstre	(282)
<i>P. cerasus</i>	Meyve	Asitli -etanollü ekstre	(282)
	Perikarp	Etil asetatlı ekstre	(283)
	Tohum	Etil asetatlı ekstre	(283)
<i>P. divaricata</i>	Meyve	Liyofilize meyve suyu	(284)
		Sulu alkollü ekstre	(284)
<i>P. laurocerasus</i>	Meyve	Belirtilmemiş	(285)
<i>P. microcarpa</i>	Meyve	Asitli- etanollü ekstre	(282)

Tablo 2. 38. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vivo* çalışmalar)

Antidiyabetik			
<i>P. mahaleb</i>	Tohum	Belirtilmemiş	(286)
<i>P. mume</i>	Meyve	Etanollü ekstre	(287)
	Meyve	Fenolik ekstre	(288)
	Yaprak	%70 etanollü ekstre	(289)
<i>P. persica</i>	Yaprak	%90 etanollü ekstrenin etil asetatlı fraksiyonu	(290)
Antienflamatuvar			
<i>P. armeniaca</i>	Meyve kabukları	Belirtilmemiş	(291)
		Sabit yağı	(291)
<i>P. cerasoides</i>	Meyve	%50 etanollü ekstre	(292)
<i>P. davidiana</i>	Kök	Metanollü ekstre	(293)
<i>P. dulcis</i>	Tohum	Sulu ekstre	(294)
<i>P. jamasakura</i>	Kabuk	Sulu Ekstre	(295)
<i>P. laurocerasus</i>	Yaprak	Etanollü ekstrenin etil asetatlı fraksiyonu	(38)
<i>P. mahaleb</i>	Tohum	Etanollü ve petrol eterli	(159)
	Kabukları	ekstre	
<i>P. padus</i>	Kök	Metanollü ekstrenin	(296)
		diklorometan fraksiyonu	
<i>P. persica</i>	Meyve kabukları	Metanollü ekstre	(109)
<i>P. persica</i> var. <i>nucipersica</i>	Meyve kabukları	Etanollü ekstre	(297)
<i>P. yedoensis</i>	Kabuk	%30 etanollü ekstre	(185)
		Etil asetatlı fraksiyon	(298)
Antihiperlipidemik			
<i>P. amygdalus</i>	Meyve kabukları	Metanollü ekstre	(210)
<i>P. davidiana</i>	Kök	Metanollü ekstre	(52)
<i>P. dulcis</i>	Tohum	Belirtilmemiş	(299)

Tablo 2. 38. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vivo* çalışmalar)

Antihiperlipidemik			
<i>P. pedunculata</i>	Tohum	Sabit yağ	(300)
<i>P. persica</i>	Yaprak	%90 etanollü ekstrenin etil asetatlı fraksiyonu	(290)
Antihipertansif			
<i>P. domestica</i>	Meyve	Sulu, metanollü Asetonlu ve kloroformlu	(301)
<i>P. yedoensis</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(302)
Antinosiseptif			
<i>P. laurocerasus</i>	Yaprak	Etanollü ekstrenin etil asetatlı fraksiyonu	(38)
<i>P. padus</i>	Kök	Metanollü ekstrenin Diklorometan fraksiyonu	(296)
Antioksidan			
<i>P. avium</i>	Meyve	Asitli- etanollü ekstre	(303)
<i>P. cerasus</i>	Meyve	Asitli -etanollü ekstre	(303)
		Meyvenin kendi suyu	(304)
<i>P. laurocerasus</i>	Meyve	Sulu ekstre	(305)
<i>P. microcarpa</i>	Meyve	Asitli- etanollü ekstre	(303)
<i>Prunus spinosa</i>	Çiçek	%70 Metanollü ekstre	(19)
Antiosteoporozis			
<i>P. domestica</i>	Meyve	Sulu ekstre	(306)
Antitümoral			
<i>P. jamaica</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(102)
<i>P. mume</i>	Meyve	Meyvenin kendi suyu	(307)
		Sulu ekstre	(271)
<i>P. persica</i> var. <i>rich Lady</i>	Meyve	Sulu ekstre	(308)
<i>P. serotina</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(309)

Tablo 2. 38. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vivo* çalışmalar)

Diyabetik retinopati			
<i>P. cerasus</i>	Tohum	Toplam flavonoit ekstresi	(310)
<i>P. mume</i>	Çiçek	Metanollü ekstre	(311)
Gastroprotektif			
<i>P. armeniaca</i>	Tohum kabuğu	Sabit yağ	(312)
Hepatoprotektif			
<i>P. armeniaca</i>	Meyve	Sulu ekstre	(313)
	Yaprak	Metanollü ve sulu ekstre	(314)
<i>P. laurocerasus</i>	Meyve	Sulu ekstre	(305)
<i>P. mume</i>	Meyve	%75 etanollü ekstre	(315)
<i>P. persica</i>	Yaprak	%95 etanollü ekstre	(316)
Hiperürisemi tedavisinde			
<i>P. cerasus</i>	Meyve	Meyvenin kendi suyu	(304)
<i>P. mume</i>	Çiçek	Butanollü ekstre	(317)
	Meyve	Metanollü ekstre	(318)
	Tohum	Etil asetatlı ekstre	(317)
İmmünomodülatör			
<i>P. cerasus</i>	Meyve	Metanollü ekstrenin etil asetatlı fraksiyonu	(30)
<i>P. mume</i>	Meyve	Etanollü ekstre	(252)
Kardiyoprotektif			
<i>P. cerasus</i>	Tohum kabuğu	Belirtilmemiş	(319)
<i>P. domestica</i>	Meyve	Sulu, metanollü, asetonlu ve kloroformlu ekstre	(301)
		Sulu ekstre	(320)

Tablo 2. 38. (Devam) *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (*in vivo* çalışmalar)

Laksatif			
<i>P. mume</i>	Meyve	Sulu ekstre	(321)
Obeziteye karşı			
<i>P. auiun</i>	Meyve	Toplam antosiyanin ekstresi	(322)
<i>P. salicina</i>	Meyve	Sulu ekstre	(323)
Prebiyotik Aktivite			
<i>P. amygdalus</i>	Tohum	Tohumun kendisi	(259)
Üriner sistem rahatsızlıkları (sistit)			
<i>P. serotina</i> subsp. <i>capuli</i>	Kabuk	Metanollü ekstre	(275)
Vazodilatör			
<i>P. serotina</i>	Meyve	Diklorometanlı ekstre	(139)
Yara İyi edici Aktivite			
<i>P. laurocerasus</i>	Meyve	Metanollü ekstre	(204)
<i>P. yedoensis</i>	Meyve	Metanollü ekstre	(324)

Tablo 2. 39. *Prunus* türlerinin biyolojik etkileri (klinik çalışmalar)

Biyolojik Etki	Kullanılan Kısım	Ekstre	Kaynak
Antienflamatuvar			
<i>P. cerasus</i>	Tohum	Belirtilmemiş	(325)
<i>P. yedoensis</i>	Çiçek	%40 1, 3-propanediollü ekstre	(184)
Antihipertansif			
<i>P. mume</i>	Meyve	Polifenol fraksiyonu	(326)
Diüretik			
<i>P. avium</i>	Meyve sapı	Tamamı toz halinde	(327)
Hepatoprotektif			
<i>P. mume</i>	Meyve	Belirtilmemiş	(328)
Kronik Gastrit			
<i>P. mume</i>	Meyve	Meyvenin tamamı	(329)

P. mahaleb üzerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* biyolojik etki çalışmaları genel hatlarıyla aşağıda verilmiştir.

***In vitro* çalışmalar**

Antioksidan Etki

Yapılan *in vitro* çalışmalarda *P. mahaleb* meyvelerinden hazırlanan etanol ve sulu ekstralarının TEAC ve ORAC yöntemleri ile antioksidan etkileri incelenmiştir. Sonuçlar troloks ekivelan olarak hesaplanmış, ORAC değeri 450.550 $\mu\text{mol TE/ml}$ ekstre, TEAC değeri ise 446.613 $\mu\text{mol TE/ml}$ ekstre olarak bulunmuştur. Ayrıca Folin-Ciocalteu yöntemi ile total fenolik madde içeriği 22.734 mg gallik asit /ml ekstre olarak belirlenmiştir (68).

Bitkinin çiçek, yaprak, dal, meyve, meyve sapı, tohum ve meyve kabuklarının metanollü ve *n*-hekzanlı ekstralarının DPPH radikal süpürücü etkisi incelenmiştir. 0.1-2 mg/ ml konsantrasyon aralığında metanollü ekstraların *n* hekzan ekstralarına göre daha yüksek etki gösterdiği görülmüştür. Metanollü ekstralar arasında 2 mg/ ml konsantrasyonda meyve ekstresi % 86 DPPH radikalini süpürerek en yüksek etkiyi, çiçek ekstresi ise aynı konsantrasyonda % 68 oranında radikal süpürerek en düşük etkiyi göstermiştir (11).

P. mahaleb çiçeklerinin metanol, etilsetat ve kloroform ile hazırlanan ekstralarının Folin-Ciocalteu yöntemi ile total fenol miktarı hesaplanmış ayrıca antioksidan kapasitesi FRAP yöntemi ve DPPH radikalini süpürücü etkisi ile incelenmiştir. Metanol ekstresinin DPPH radikali süpürücü etkisi 3.75 mg/ml IC_{50} değeri ile en yüksek bulunmuştur. Bu ekstrenin aktivitesinin FRAP yönteminde de en yüksek olduğu görülmüştür. Metanol, kloroform ve etil asetatlı ekstraların gallik asit ekivelan değerleri sırasıyla 33.15, 11.32 ve 50.15 mg gallikasit/ gram ekstre olarak bulunmuştur (330).

Antimikrobiyal Etki

P. mahaleb çiçek, yaprak, dal, meyve, meyve sapı, tohum ve meyve kabuklarının metanollü ve *n*-hekzanlı ekstralarının antimikrobiyal etkisi *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Proteus mirabilis* ATCC 7002, *Klebsiella pneumoniae* RSKK 574, *Acinetobacter baumannii* RSKK 02026, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 13803, *C. krusei* ATCC 6258 türlerine karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Bütün ekstralar 16-64 µg/ml konsantrasyon aralığında gram pozitif bakterilere, 8-64 µg/ml aralıkta ise gram negatif bakterilere karşı etki göstermiştir. Tüm ekstraların *Bacillus subtilis* (MIK 64 µg/ml) dışındaki diğer bütün bakterilere karşı MIK değeri 250 µg/ml, *Candida crusei* için ise MIK 64 µg/ml olarak bulunmuştur (11).

Tohumların etanollü ekstresinin antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemi kullanılarak *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus aureus*, *Bordetella bronhiseptica*, *Brucella melitensis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı test edilmiştir. Bakteriler hastalardan toplanan klinik materyallerden izole edilmiştir. Ekstre sadece 400 µg/ml konsantrasyonda *B. anthracis* and *S. aureus*' a karşı düşük antimikrobiyal etki göstermiştir (205).

Meyve kabuklarının petrol eteri ile hazırlanan ekstresinin pamuk yaprakları üzerindeki *Spodoptera littoralis* pestisit yumurtalarına karşı güçlü ovisidal etki gösterdiği bulunmuştur (153).

Sitotoksik Etki

Bitkinin meyvelerinin sıkılması ile elde edilen meyve suyu, meyvenin kabuğu, posası ve tohumları karıştırılmış ve 1 g / 1 ml olacak şekilde etanol + % 1 sitrik asit kullanılarak ekstre edilmiştir. Daha sonra elde edilen bu ekstrenin MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine karşı sitotoksik etkisi MTS ve Tripan Mavisı yöntemleri

kullanılarak araştırılmıştır. 0.9-14.4 mg/ml konsantrasyon aralığında belirgin bir etki görülmezken 18.4 mg/mL ' de çok düşük bir etki bulunmuştur (179).

Antienflamatuvar Etki

P. mahaleb' in meyve suyu, meyve kabuğu, posası ve tohumları karıştırılmış ve 1 g / 1 ml olacak şekilde etanol + % 1 sitrik asit kullanılarak hazırlanan ekstresi çeşitli konsantrasyonlarda (0.1, 1 ve 3 mg/ml) insan endotel hücrelerine 1 saat boyunca uygulanmış ardından 0.5 g/ml lipopolisakkarit ile 4-16 saat uyarılmıştır. Ekstrenin endotelial lökosit adhezyon moleküllerini konsantrasyona bağlı olarak belirgin şekilde azalttığı görülmüştür (179).

***In vivo* çalışmalar**

Antienflamatuvar Etki

P. mahaleb meyve kabuklarının petrol eteri, % 80 etanol ve %100 etanol kullanılarak ekstreleri hazırlanmıştır. Etanollü ekstre eter ile partiyon yapılarak lipofilik bileşikler uzaklaştırılmıştır. Erkek albino deney hayvanları üzerinde ekstrelerin anti anafaktik etkisi incelenmiştir. Ovalbumin ile sensitize edilerek kronik astım modeli oluşturulmuş ve 7 gün boyunca subplantar bölgeye enjeksiyon yapılmıştır. Etanollü ekstrenin antienflamatuvar etkisinin lipofilik bileşikleri ayrılmış ekstreye göre daha yüksek olduğu bulunmuş, petrol eteri ile hazırlanan lipit fraksiyonun ise düşük ve orta dozlarda yüksek etki gösterdiği görülmüştür (159).

Antidiyabetik Etki

P. mahaleb tohumlarının diyabete karşı etkisi tavşanlar üzerinde araştırılmış ancak herhangi bir etki bulunamamıştır (286).

***Prunus* Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Etkileri**

Çeşitli yıllardaki etnobotanik çalışmalar, *Prunus* cinsine ait bitkilerin halk arasındaki kullanımının ülkeden ülkeye ve yerel bitki örtüsüne bağlı olarak farklılık sergilediğini göstermektedir.

Ülkemizde Karadeniz bölgesinde yapılan bir çalışmada *Prunus laurocerasus* yapraklarının koparıldıktan sonra tazeyken alın üzerine konarak ateş düşürücü olarak, boğaza sarılarak ise boğaz ağrılarının tedavisinde kullanıldığı tespit edilmiştir. Yapraklarından hazırlanan infüzyonunun karın ağrısı ve basur tedavisinde kullanımı bulunmaktadır. *P. laurocerasus* tohumlarının ağızdan alınarak mide rahatsızlığında kullanıldığı da belirtilmiş, *Prunus domestica'nın* kabızlıkta; *P. persica* yapraklarının dekoksasyon şeklinde içilerek egzama tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir (331).

Kırklareli ilinde halk, *P. dulcis* meyvelerini yağ içinde bekletip 3 gün boyunca günde 2 kez içerek karın ağrılarında, *P. spinosa* L. subsp. *dasyphylla* meyvelerinin dekoksasyonunu kalp rahatsızlıklarında kullanmaktadır. *P. divaricata* subsp. *ursina* meyvelerinin dekoksasyonunu ise şeker hastalığında, günde 2 kez 7-15 gün boyunca içerek tüketmekte ayrıca soğuk algınlığı, grip, astım ve nefritte kullanmaktadır (332).

Elazığ'ın Sivrice ilçesinde; *P. dulcis* tohumlarının toz edip yiyilerek; *P. mahaleb* L. meyvelerinin ise infüzyon şeklinde idrar yolları iltihaplarında kullanıldığı belirtilmiştir (333). Maden ilçesinde, *P. dulcis* tohumları yüksek kolesterolde; *P. mahaleb* L. meyvelerinin infüzyonu diyabette kullanılmaktadır (334, 335).

Balıkesir'in Edremit Körfezi'nde halk, *P. dulcis* meyvelerinden elde edilen yağ haricen yara iyileştirici olarak, Muğla'nın Marmaris ilçesinde ise tohumlarını antidiyabetik olarak tüketmektedir (336, 337).

Malatyada halk *P. divaricata* Ledeb. subsp. *divaricata* meyvelerini infüzyon şeklinde soğuk algınlığı ve gripte kullanmaktadır (338).

Manisa'nın Turgutlu ilçesinde *P. dulcis* (Miller) DA Webb meyveleri ile *P. laurocerasus* L.'un yaprak, meyve ve gövde kabuğu infüzyon şeklinde öksürüğe karşı kullanılmakta, *P. domestica* meyveleri romatizma tedavisinde tüketilmektedir (339).

Mersin'in Bozyazı ilçesinde halk; *P. avium*, *P. divaricata* Ledeb. ssp. *divaricata*, *P. dulcis* meyve, tohum ya da petallerini obezite, böbrek taşı rahatsızlıklarında, hipertansiyonda, yüksek kolesterolde kullanmaktadır (340).

Doğu Anadolu Bölgesi'nde halk *P. mahaleb* tohumlarının infüzyonunu diyabette kullanmakta ayrıca afrodisyak, ekspektoran ve diüretik olarak tüketmektedir (335).

P. armeniaca, halk hekimliğinde çeşitli hastalıklara karşı kullanılmıştır. Kabukları aşırı tahriş olmuş cildi rahatlatmak, tohum lapası ise vajinal enfeksiyonları iyileştirmek için kullanılır ve yağı, cildi UV radyasyonundan korumak için kozmetiklere katılmaktadır (341). Pakistan'ın kuzeyinde *P. armeniaca* L. meyve ve tohumları taze yiyerek ya da dekoksasyon şeklinde müshil olarak; *P. domestica* L. meyveleri mide yanmasına karşı, kabızlıkta ve sarılık tedavisinde kullanılmaktadır. *P. persica* yaprakları toz edilerek haricen yara iyileştirici olarak ve ciltteki mantar enfeksiyonlarına karşı kullanılmaktadır (342).

Prunus persica (L.) çiçekleri ve toz halindeki tohumları Kuzeybatı Arjantin'de dekoksasyon olarak ishale karşı ve sindirim yolu şişkinliklerinde kullanılmaktadır (343).

P. avium' un meyvelerinin alkollü maserasyonu İspanya'da karın ağrısı için, meyveleri ise doğrudan yutularak hiperürüsemide kullanılmaktadır (344). *P. spinosa* L' nın toprak üstü kısımlarının infüzyon şeklinde ağrı kesici olarak kullandığı belirtilmiştir (345).

P. avium ssp. *juliana* (DC.) Rchb. meyve sapsarı Portekiz'de dekoksasyon şeklinde diüretik etkisi nedeniyle üriner sistem rahatsızlıklarında kullanılmaktadır (346).

İtalya'nın Lucca ilinde *P. spinosa*, *P. communis* L. türlerinin meyveleri ishalde ham olarak yenmektedir. *P. cerasus* var. *acida* (Ehrh.) Willd.'nin meyveleri sindirim düzenleyici olarak; *P. lauroceasus* L.'un meyveleri baş ağrısı tedavisinde kullanılmaktadır (347). Sardunya adasında *Prunus dulcis* Mill. tohum yağını egzama ve güneş döküntüsünde kullanıldığı rapor edilmiştir (348).

Arnavutluk' un kuzeyinde *P. avium* yaprak sapı dekoksion şeklinde böbrek taşı düşürmede; *P. domestica* L. meyveleri ateş ve çocuklardaki baş ağrısında yenilerek tüketilmektedir (349).

İran 'da *P. mahaleb* L. tohumları analjezik olarak yenmektedir (350). Meyve kabukları(endokarp) Sudan'da çocuklarda görülen ishalde, Arap ülkelerinde ise sakinleştirici ve vazodilatör olarak kullanılmaktadır (9, 10).

Nepal'in Dolakha bölgesinde yapılan bir etnobotanik çalışmaya göre; *P. cerasoides* köklerinden elde edilen macun, burkulan veya kırılan yere sarılarak tedavide kullanılmaktadır (351).

Kenya'da halk *P. africana* yaprak ve kabuklarını dekoksion şeklinde diyabet tedavisinde kullanmaktadır (352). Güney Afrika'da ise kabuklarının toz halde HIV tedavisinde, tüberküloz ve göğüs rahatsızlıklarında kullanımı rapor edilmiştir (353).

Çinhindi bölgesinde *P. cerasoides* kabukları ödem azaltıcı olarak, çiçekleri ise diüretik ve laksatif olarak kullanılmaktadır. Çin ve Malezya' da tohum kabukları öksürük ve romatizmal rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Ayurveda'da bitki "padmaka" olarak adlandırılmakta ve cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Yaprak ekstresi prostat ve üriner hastalıklarda kullanılır (354).

P. dulcis geleneksel ve modern tıpta çok değerlidir. Geleneksel olarak, antibakteriyel, afrodisyak, antikanser (mesane, meme, kolon kanseri, ağız ve boğaz kanserleri, orofaringeal kanserler), fitoöstrojenik, sperm sayısı artırıcı olarak ve şişkinlik, kalp hastalıkları gibi şikayetlerde kullanılmaktadır. Badem yağı cildin kurumasını önleyen ve cilt çatlamasından koruyan mükemmel bir nemlendirici ve

kayganlaştırıcıdır. 19. Yüzyıllardan beri cilt alerjileri, küçük kesikler ve yaraların tedavisi için badem yağı kullanılmıştır (355). İran geleneksel tıpta, acı badem yağını, yanık ve yaraları tedavi etmek ve mideyi korumak için kullanır. Ayrıca İran geleneksel ilaçlarına göre, acı badem merhem veya yağı, akne tedavisi, eklem ağrıları, saç dökülmesi, doğumun kolaylaştırılması, saçların güçlendirilmesi ve bakımında kullanılır. Ek olarak, eski İranlı doktorlar hemoroitleri tedavi etmek için acı badem bazlı ilaçlar kullanmışlardır (356). Cezayir'in Chtouka Ait Baha ve Tiznit bölgelerinde yaşayan yerel halkın, *P. dulcis* tohumlarını yiyerek diyabet tedavisinde geleneksel olarak kullandığı bilgisi kaydedilmiştir (357). *P. dulcis* tohumları Filistin'de deri rahatsızlıklarında (358), İsrail'de yağı çıkarılarak saç dökülmesine karşı saç diplerine sürülerek kullanılmaktadır (359). Özbekistan'ın Taşkent, Djizzaks ve Semerkand kentlerinde yapılan bir etnobotanik çalışmaya göre yerel halkın, *P. dulcis* tohumlarını yiyerek kurt düşürücü olarak, baş ağrısı tedavisinde, hipertansiyonda ve böbrek taşı düşürmede kullandığı belirtilmiştir (360).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Fitokimyasal Çalışmalar

3.1.1. Bitkisel Materyal

Prunus mahaleb L. çalışma materyalleri Nisan 2018 tarihinde Tokat Niksar Yolkonak Köyü ve Niksar Musapınarı Köyü yol kenarından toplanarak herbaryum örnekleri hazırlanmıştır. 18002 ve 18003 nolu herbaryum numunesi olarak Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda (HUEF) saklanmaktadır.

Çalışmalarımızda kullanılan kabuk ve tohumlar, fabrikada cihazlarla ayrılması gerektiğinden Tokat Niksar'da bulunan bir fabrikadan temin edilmiştir.

3.1.2. Kromatografik Yöntemler

Çalışmalarımızda, ekstrelerden partiyon yapılarak elde edilen fraksiyonların alt fraksiyonlandırılması ve saf maddelerin izolasyonu için poliamit, normal faz silika jel, ters faz silika jel ve sefadeks gibi çeşitli dolgu materyalleri içeren kolon kromatografi yöntemleri ile normal faz preparatif ince tabaka kromatografisi kullanılmıştır. Fraksiyonların izlenmesi amacıyla da hareketli faz olarak farklı solvan sistemlerinin kullanıldığı ters ve normal faz ince tabaka kromatografisi (İTK) kullanılmıştır.

a) Poliamit Kolon Kromatografisi (Poliamit KK)

Bu yöntem ekstrelerimizde bulunan bileşikleri fenolik karakterlerine göre sınıflandırmak amacıyla tercih edilmiştir.

Dolgu Materyali: Poliamit (Polyamide 6, 50-160 µm)

Solvan Sistemleri: MeOH-H₂O (0:100→100:0)

Kolonun Hazırlanması: Kullanılacak poliamit miktarı uygulanacak ekstre miktarı dikkate alınarak belirlenmiştir. Adsorban yeterli miktarda distile su ile süspansiyon halinde edilip manyetik bir karıştırıcıda 1 saat süreyle karışması sağlanmıştır. Süspansiyon haline gelen karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş cam kolona

aktarılmıştır. Kolon yeterli miktarda su ile yıkanıp adsorbanın iyice yerleşmesi beklendikten sonra numune tatbik edilmiştir.

Numune Tatbiki: Numune, başlangıç solvanı olarak kullanılan distile suda çözülerek bir pastör pipeti yardımıyla dolgu materyalinin yüzeyi bozulmadan kolona tatbik edilmiştir.

b) Silika Jel Kolon Kromatografisi (Silika jel KK)

Poliamit kolon fraksiyonlarının alt fraksiyonlandırılması ve saflaştırılması amacıyla silika jel kolon kromatografisi kullanılmıştır. Adsorban olarak kullanılan silikajel, adsorpsiyon esasına göre kolona uygulanan maddeleri polarite farklarına göre ayırmaktadır.

Dolgu Materyali: Silika jel (Kieselgel 60, 70-230 mesh, 0.063-0.2 mm)

Solvan Sistemleri: CHCl₃-MeOH (95:5→0:100)

CHCl₃-MeOH-H₂O (100:0:0→70:30:3; 95:5:0→50:50:5)

Kolonun Hazırlanması: Kolona tatbik edilecek numune miktarına uygun silikajel tartılarak yeterli miktarda başlangıç solvan sistemi ile süspansiyon haline getirilmiştir. Karışım alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona aktarılıp kolondan yeterli miktarda solvan sistemi geçirilerek adsorbanın yerleşmesi sağlanmıştır.

Numune Tatbiki:

- Yaş (Çözücü Yardımı ile) Tatbik: Numune mümkün olan en düşük miktarda başlangıç solvanı içinde çözülmüş ve tamamen çözülmüş numune, bir pastör pipeti yardımı ile kolona tatbik edilmiştir. Kolon musluğu açılarak numune adsorbana emdirilmiştir. Kolonun üzerine, adsorban yüzeyinin bozulmasını engellemek için pamuk yerleştirilip kolona yeterli miktarda solvan sistemi eklenerek elüsyona başlanmıştır.

- **Kuru Tatbik:** Kolona tatbik edilecek numune elüsyona başlanacak solvan sisteminde çözünmüyorsa bu yöntem tercih edilmelidir. Numune çözünürlüğünün iyi olduğu bir solvanın 1-2 ml'si içinde çözülmüştür. Çözelti, kolondaki adsorban ve tatbik edilecek numune miktarları da göz önünde tutularak, yeterli miktarda adsorban ile karıştırılmıştır. Adsorbanın numune çözeltisini iyice adsorbe etmesi ve tam kuruması sağlanmıştır. Kolonun üst kısmında birkaç cm yüksekliğinde solvan bırakılarak karışım kuru olarak kolona aktarılmıştır. Kolonun üzerine, adsorban yüzeyinin bozulmasını engellemek için pamuk yerleştirilmiş ve kolona yeterli miktarda solvan sistemi eklenerek elüsyona başlanmıştır.

c) Sefadeks Kolon Kromatografisi (Jel Filtrasyon) (Sefadeks KK)

Saflaştırma amacıyla çalışmalarımızda son aşamada kullandığımız sefadeks dolgu materyali, farklı molekül büyüklüğüne sahip maddelerin ayırımına olanak sağlamaktadır.

Dolgu Materyali: Sephadex LH-20 (Sigma)

Solvan Sistemleri: MeOH (% 100)

MeOH-H₂O (50:50)

Kolonun Hazırlanması: Gerekli miktarda adsorban yeterli miktarda metanol ile süspande edilerek kısa bir süre şişmeye bırakılmıştır. Çözücü ile karışması sağlanan adsorban, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş cam kolona aktarılıp. Kolondan yeterli miktarda solvan geçirilerek adsorbanın iyice yerleşmesi sağlanmıştır.

Numune Tatbiki: Numune az miktarda metanol ile çözülerek kolon yüzeyini bozmayacak şekilde pastör pipeti ile kolona tatbik edilmiş ve metanol ile elüsyona başlanmıştır.

d) Vakumlu Sıvı Kromatografisi (VSK)

Dolgu materyali olarak C18 kullanılan bu kromatografi yönteminden özellikle birbirine çok yakın polariteye sahip, sulu fraksiyondan izole edilen çok polar bileşiklerin ayrımı işlemlerinde yararlanılmıştır.

Dolgu Materyali: LiChroprep C18 (40-63 µm, Merck)

Solvan Sistemleri: MeOH-H₂O (0:100→100:0; 0:100→10:90; 0:100→15:85)

Kolonun Hazırlanması: Yeterli miktarda adsorban metanol ile karıştırılarak alt ucu pamukla kapatılmış cam kolona aktarılmıştır. Metanol oranı azaltılıp su oranı artırılarak önce kolondan yeterli miktarda su, sonra da elüsyona başlanacak solvan sistemi geçirilerek şartlandırılmıştır.

Numune Tatbiki: Numune mümkün olan en az miktarda metanolde çözülerek bir pastör pipeti yardımıyla kolona tatbik edilmiştir. Kolonun alt ucu nuçe erleninin kapak mantarının içinden geçirilip mantar kapatılarak kolon erlene oturtulmuştur. Vakum açılarak numune adsorbana emdirilmiş daha sonra kolonun üst tarafına pamuk yerleştirilip kolona solvan sistemi eklenmiştir. Vakum erleni içerisine fraksiyon toplamak için bir tüp yerleştirilip vakum altında elüsyona başlanmıştır.

e) Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (OBSK)

Adsorban : LiChroprep C18 (40-63 µm, Merck)

Kolon : Büchi cam kolon (3 x 25 cm)

Peristaltik Pompa : Büchi 681

Enjeksiyon Ünitesi : Sepacore® Injection Unit Sample Loop 20 ml (44852)

Solvan Sistemi : MeOH-H₂O (%2-100 MeOH)

Akış Hızı : 5 ml/dk

Basınç : 10-15 bar

Fraksiyon Hacmi : 20-60 ml

Fraksiyon Toplayıcı : Büchi 660

Kolonun Hazırlanması: Kolon elüsyona başlanacak solvan sisteminden belirlenen miktarda geçirilerek şartlanmıştır. Numune, 1-5 ml solvan sistemi içinde çözülerek bir enjektör yardımıyla kolona enjekte edilmiştir. İlk olarak ön kolondan geçen numune daha sonra kolona ulaşmaktadır. Akış hızı ve elüsyonda kullanılacak solvanların yüzde oranları ayarlanarak fraksiyon toplayıcı yardımıyla tüplerde uygun miktarda fraksiyon toplanmıştır.

f) İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Kromatografi çalışmalarına başlamadan önce hangi solvan sistemleri ile çalışılacağıın planlanmasında, daha sonra ise fraksiyonlama ve saflaştırma aşamalarında elüe edilen bileşiklerin izlenmesi, standartlarla ve birbirleriyle karşılaştırılması amacıyla kullanılmıştır. Alüminyum tabanlı plaka üzerine kaplanmış normal ve ters fazlı silika jel plaklardan yararlanılmıştır.

Adsorban : Silika jel 60 F254 (Alüminyum hazır plak, Merck)

RP₁₈ F254 (Alüminyum hazır plak, Merck)

Solvan Sistemleri: CHCl₃-MeOH-H₂O (90:10:1; 80:20:2; 70:30:3, 61:32:7, 50:50:5)

EtOAc-MeOH-H₂O (100:16.5:13.5)

Numune Tatbiki: Numuneler bir pastör pipeti yardımıyla, plağın alt ucunun 1 cm yukarisından ve 0.6 cm aralıklarla tatbik edilmiştir.

Sürüklenme Mesafesi: Kromatografi tankına konulan plaklar 7-10 cm mesafe boyunca sürüklenir.

Lekelerin Belirlenmesi: UV254 / UV366

Vanilin-sülfürik asit (% 1),

105°C 'de 1-2 dk. Isıtılarak

g) Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi (PİTK)

Farklı polaritedeki az sayıda maddenin oluşturduğu karışımdan uygun solvan sistemlerini kullanarak saflaştırma yapmak amacıyla kullanılmıştır. Alüminyum tabanlı plaka üzerine kaplanmış normal fazlı silika jel plaklar kullanılmıştır. Saflaştırılmak istenen bileşiklerin bulunduğu numune çözünebildiği az miktarda bir solvanda çözünerek 10x20 cm ya da 20x20 cm ebatındaki plakaların yanlarda boşluk bırakarak, tabanından 1 cm yukarıya tek bir bant oluşturacak şekilde tatbik edilmiştir. Plaklar en iyi ayrımı sağlayan solvan sisteminin bulunduğu tankta sürüklenmiş daha sonra UV lamba altında maddelerin yerleri tespit edilerek ayrımı istenen maddeler plaktan kazınarak alınmıştır. Kazınan maddeler çözünebildikleri uygun solvan sisteminde bekletilmiş daha sonra süzülerek solvan uzaklaştırılmıştır.

Adsorban: Silika jel 60 F254 (Alüminyum hazır plak, Merck)

Solvan Sistemleri: CHCl₃-MeOH-H₂O (90:10:1; 80:20:2; 70:30:3, 61:32:7, 50:50:5)

EtOAc-MeOH-H₂O (100:16.5:13.5)

h) Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK)

Tez çalışmaları sırasında *P. mahaleb* meyve kabuklarından izole edilen ve yapıları aydınlatılan bileşikler standart olarak kullanılarak bu bileşiklerin tohum ekstresindeki varlıkları karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve birbirleri arasındaki benzerlik ve farklılıklar Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanılarak belirlenmiştir.

HPLC Cihaz: Agilent 1100

Kolon: RP C-18

Enjeksiyon Hacmi: 2,7 µl

Akış Hızı: 0,7 ml

Kolon Sıcaklığı: 30⁰ C

Dedektör: UV 280, 520 nm

Mobil Faz: A. Su

B. Asetonitril/formik asit

Program:	Süre (dakika)	Solvan A	solvan B
	0	93,3	6,7
	1	83,3	16,7
	26	44,4	55,6
	35	44,4	55,6
	40	20,0	80,0
	43	20,0	80,0
	44	0,0	100,0

3.1.3. Ekstraksiyon Çalışmaları

Tez çalışmamızın konusunu oluşturan *P. mahaleb* bitkisine ait tohumlarından ayrılmış meyve kabuklarından (endokarp) 500 g alınarak toz edilmiştir. Toz uygun ekstraksiyon balonuna alınarak % 70 metanol ile 40°C' de 8 saat süreyle ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Bu işlem 4 kez tekrarlanmış ve her seferinde ekstreler süzülerek alınmış yerine yeni solvan eklenerek ekstraksiyona devam edilmiştir. Sonunda sulu metanollü ekstreler birleştirilerek düşük ısıda (40 °C) vakum kullanılarak yoğunlaştırılmıştır. Ekstre liyofilize edilerek sulu metanollü ana ekstre (80 g) elde edilmiştir (Verim: %16). Liyofilize haldeki toz ekstre suda çözülmüş, önce 1:1 hacminde petrol eteri ilavesi ile 4 defa sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılarak lipofilik bileşikler ve klorofilden kurtarılmıştır. Ardından aynı şekilde 1:1 hacminde etilasetat ilave edilerek 3 defa sıvı-sıvı partisyonu yapılmıştır. Elde edilen etil asetatlı ve kalan sulu ekstreler liyofilize edilerek bir kısmı biyolojik etki çalışmaları için ayrılmış, diğer kısmı ile fitokimyasal çalışmalara başlanmıştır.

Kabuklarından ayrılmış haldeki tohumlardan 200 g alınarak toz edilmiştir. Toz uygun ekstraksiyon balonuna alınarak %70 metanol ile 40 ° C' de 8 saat süreyle ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Bu işlem 4 kez tekrarlanmış ve her seferinde ekstreler süzülerek alınmış yerine yeni solvan eklenerek ekstraksiyona devam edilmiştir. Sonunda ekstreler birleştirilerek düşük ısıda (40 °C) vakum kullanılarak yoğunlaştırılmıştır. Ekstre liyofilize edilerek sulu metanollü ana ekstre (40 g) elde edilmiştir (Verim: %20). Liyofilize haldeki toz ekstre suda çözülmüş, çözünmeyen kısımlar süzülerek uzaklaştırıldıktan sonra 1:1 hekzan ilavesi ile 7 defa sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılarak lipofilik bileşiklerden kurtarılmıştır (tohumlar oldukça fazla lipofilik bileşikler içerdiğinden meyve kabuklarına (endokarp) kıyasla daha fazla sayıda partiyon tekrarlanmıştır). Ardından aynı şekilde 1:1 hacminde etilasetat ilave edilerek 3 defa sıvı-sıvı partisyonu yapılmıştır. Elde edilen etilasetatlı ve kalan sulu ekstreler liyofilize edilerek HPLC ve biyolojik etki çalışmaları için saklanmıştır.

3.1.4. Fraksiyonlandırma ve İzolasyon Çalışmaları

İzolasyon çalışmaları meyve kabuklarının (endokarp), sulu ve etilasetatlı ekstreleri ile yapılmıştır. Ekstreleri ön fraksiyonlandırma amacıyla bileşiklerin fenolik karakterlerine göre ayrımını sağlayan poliamit kolon kromatografisi kullanılmış daha sonra bileşikleri saflaştırmak için normal faz silika jel, ters faz silika jel ve sefadeks gibi farklı adsorbanların kullanıldığı kolon kromatografisi yöntemlerinden yararlanılmıştır.

3.1.4.1. Meyve Kabuklarının H₂O ve Etilasetatlı Fraksiyonu Üzerindeki İzolasyon Çalışmaları

P. mahaleb meyve kabuklarının (endokarp) liyofilize sulu ve etilasetatlı fraksiyonları bir miktar distile suda çözülerek poliamit kolona tatbik edilmiştir. Elüsyona % 100 su ile başlanmış ve metanol oranı (% 0, % 25, % 50, % 75, % 100) kademeli olarak artırılarak devam edilmiştir. Bu işlem sonucunda benzer bileşikleri içeren fraksiyonlar birleştirilerek 5 ana fraksiyon elde edilmiştir.

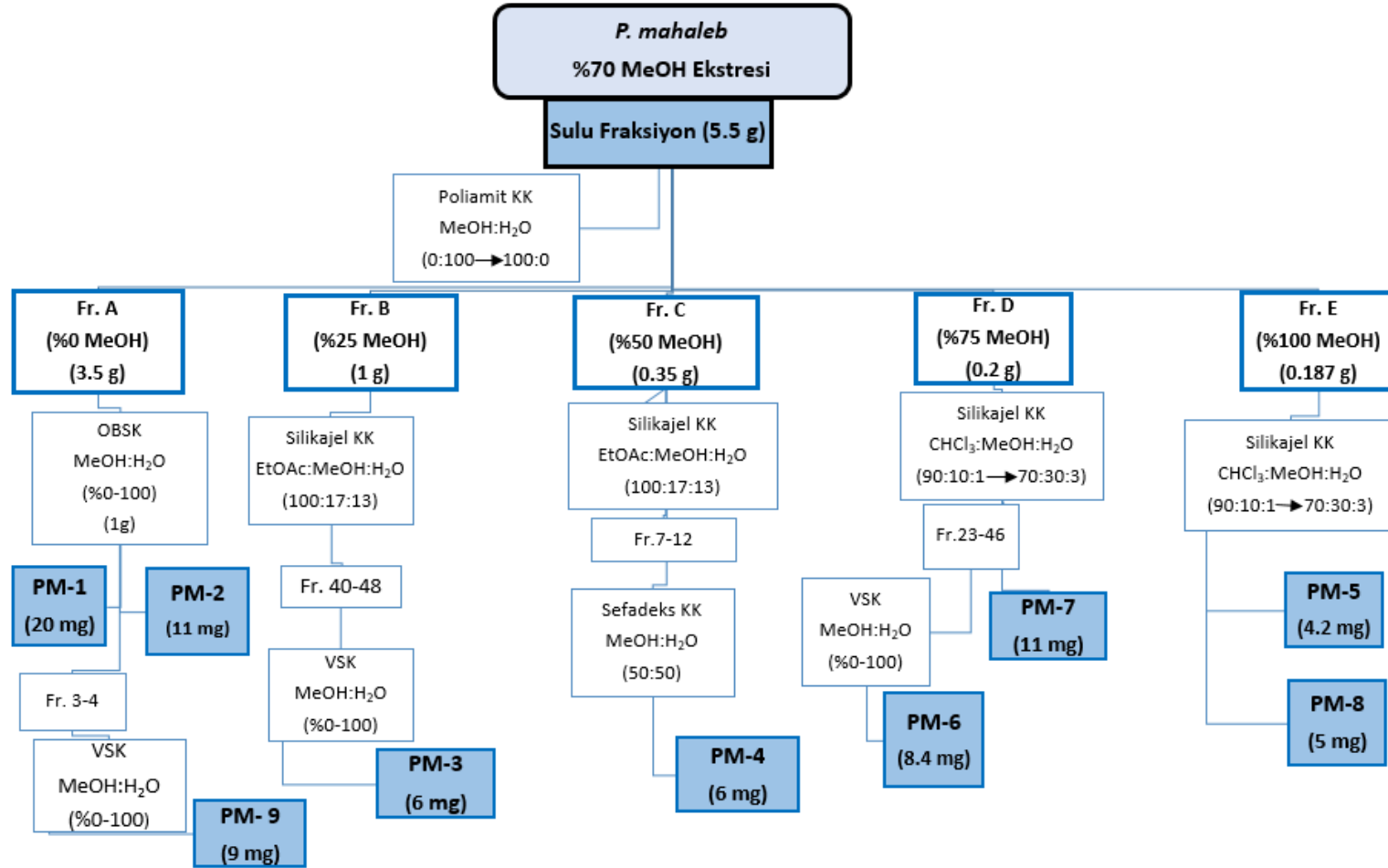
P. mahaleb meyve kabukları sulu fraksiyonu için;

- Fraksiyon A: %100 H₂O
- Fraksiyon B: %25 MeOH
- Fraksiyon C: %50 MeOH
- Fraksiyon D: %75 MeOH
- Fraksiyon E: %100 MeOH

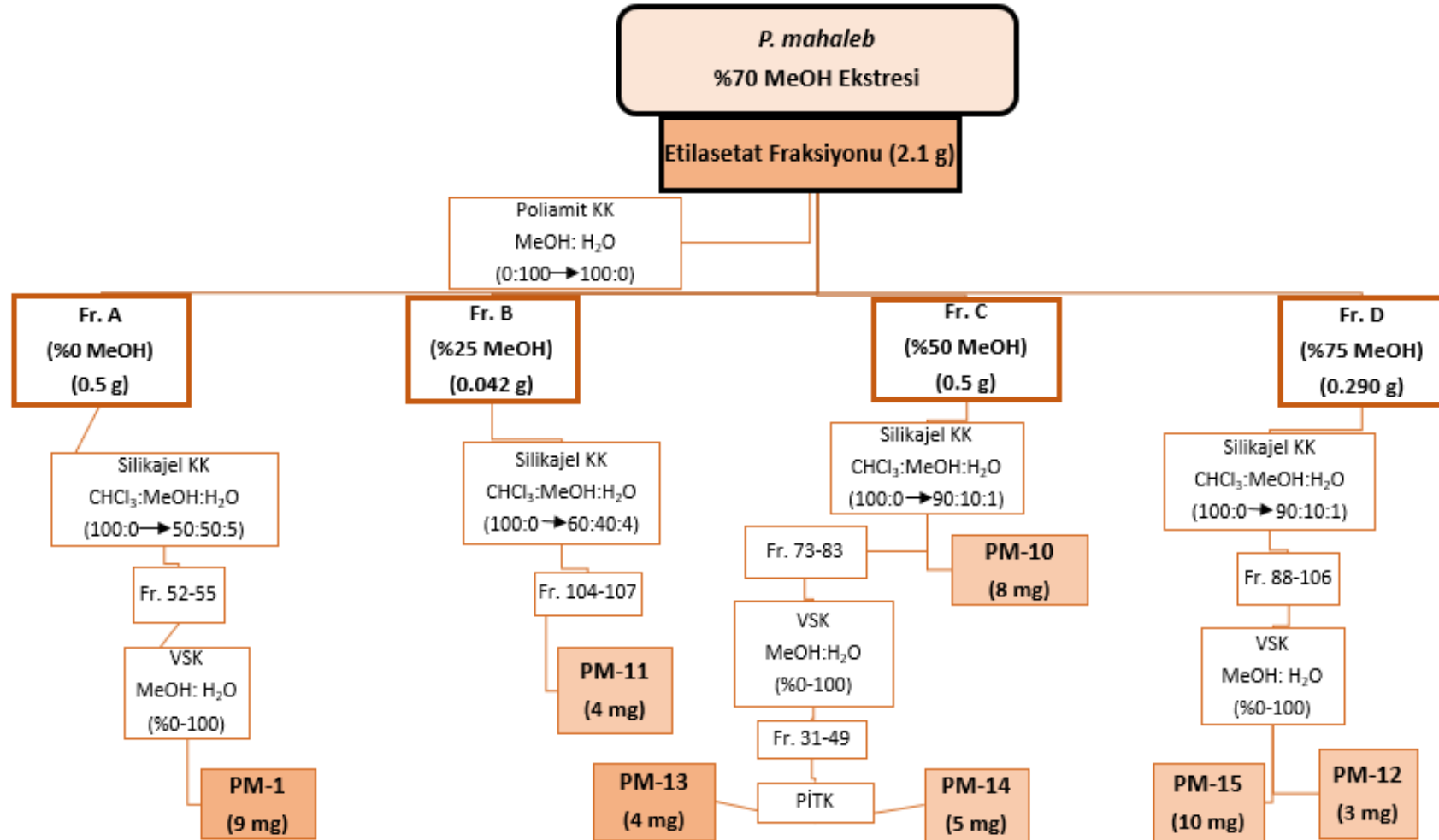
P. mahaleb meyve kabukları etilasetat fraksiyonu için;

- Fraksiyon A: %100 H₂O
- Fraksiyon B: %25 MeOH
- Fraksiyon C: %50 MeOH
- Fraksiyon D: %75 MeOH
- Fraksiyon E: %100 MeOH

Elde edilen bu ana faksiyonlardan OBSK, normal faz silika jel, sefadeks ve vakumlu sıvı kromatografisi yöntemleri kullanılarak 15 saf bileşik elde edilmiştir. Şekil 3.1 ve Şekil 3.2' de elde edilen saf bileşiklerin izolasyon aşamalarına ait ayrıntılı bilgi yer almaktadır.



Şekil 3. 1. *P. mahaleb*' in meyve kabuklarının sulu fraksiyonu üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları



Şekil 3.2. *P. mahaleb*'in meyve kabuklarının etilasetatlı fraksiyonu üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

3.2. Biyolojik Etki Çalışmaları

3.2.1. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini

Tirozinaz inhibisyonu Kim ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemin modifiye edilmesiyle tayin edilmiştir (361). L-tirozin'in substrat olarak kullanıldığı yöntemin esası, substratın enzim ile reaksiyonu sonucu oluşan dopakromun absorbansının 475 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır. Öncelikle, 96 kuyucuklu mikropalakalara 0.05 mM fosfat tamponu (pH 6,8) içerisinde hazırlanmış 130 µl mantar kaynaklı tirozinaz (yaklaşık 70 ünite/ml) enzimi eklenmiştir. Ardından tampon içerisinde hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki (20, 50, 100, 200, 400 µg/ml) örnek çözeltilerden 20 µl ilave edilmiş ve son olarak 50 µl 1.5 mM L-tirozin kuyucuklara eklenerek 37 °C' de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında 475 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür.

Tirozinaz enzim inhibisyonu tayini; tirozinaz enzimi, fosfat tamponu ve L-tirozin içeren kör çözeltilerinin absorbansı ve örneklerin absorbansının karşılaştırılması ile hesaplanmıştır. Kojik asit standart madde (pozitif kontrol) olarak örnekler ile aynı koşullarda ve aynı konsantrasyonlarda uygulanmıştır.

Örneklerin % tirozinaz inhibisyonları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen % inhibisyonların ortalaması olarak verilmiştir:

$$\% \text{ İnhibisyon: } [(Abs_{\text{kör}} - Abs_{\text{numune}}) / Abs_{\text{kör}}] \times 100$$

Kör: Numune taşımayan çözelti

3.2.2. Hücresel Tirozinaz Enzim İnhibisyonu

B16F10 fare melanoma hücreleri üzerinde tirozinaz enzimine karşı bileşiklerin hücresel enzim inhibisyonları araştırılmıştır. Bu çalışmada Kim ve Huang ile arkadaşlarının yöntemi esas alınmış ve küçük değişiklikler yapılarak uygulanmıştır (362, 363). 24 kuyucuklu plakalara kuyucuk başına 1×10^5 hücre olacak şekilde B16F10 fare melanoma hücreleri ekilmiştir. 24 saat boyunca 37°C ' de %5 CO_2 içeren inkübatörde bekletilerek hücrelerin çoğalmaları sağlanmıştır. Etkinliği ölçülmek istenen bileşiklerin farklı konsantrasyonlarını ve α -MSH (melanosit uyarıcı hormon) içeren çözeltilerden eklenmiş ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ardından hücreler %0,1 Triton X-100 içeren 0,1 M fosfat tamponu (pH 7.5) eklenerek yüzeyden kazınarak toplanmış ve $1200 \times \text{g}'$ de 10 dakika 4°C sıcaklığında santrifüj edilmiştir. Üstte kalan süpernatant ayrı bir yere alınarak 96 kuyucuklu plakalara her kuyucuğa 70 μl olacak şekilde ilave edilmiş, üzerine 140 μl 1,5 mM L-tirozin substratı eklenerek 2 saat 37°C 'de inkübe edilmiştir. Örnekler 475 nm'de ölçülmüş ve kontrolle kıyaslanarak hücresel tirozinaz enzim inhibisyonu hesaplanmıştır. Yapılan tüm deneyler hataları en aza indirmek amacıyla, aynı çalışmada 3 kuyucuk olacak şekilde, en az 2 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Pozitif kontrol olarak 2-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonlarında kojik asit kullanılmıştır. Her bir örneğin inhibisyon oranı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon: } [(Abs_{\text{kör}} - Abs_{\text{numune}}) / Abs_{\text{kör}}] \times 100$$

Kör: Numune taşımayan çözelti

3.2.3. Hücresel Melanin İçeriğinin Belirlenmesi

Melanogenez içeriğinin belirlenmesinde Kim ve arkadaşlarının yöntemi esas alınmış ve küçük değişiklikler yapılarak deneyler gerçekleştirilmiştir (362). 24 kuyucuklu plakalara kuyucuk başına 1×10^5 hücre olacak şekilde B16F10 fare melanoma hücreleri ekilmiştir. 24 saat boyunca 37°C ' de %5 CO_2 içeren inkübatörde bekletilerek hücrelerin çoğalmaları sağlanmıştır. Etkinliği ölçülmek istenen bileşiklerin farklı konsantrasyonlarını ve α -MSH (melanosit uyarıcı hormon) içeren çözeltilerden eklenmiş ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ardından hücreler %0,1 Triton X-100 içeren 0,1 M fosfat tamponu (pH 7.5) eklenerek yüzeyden kazınarak toplanmış ve $1200 \times g$ 'de 10 dakika 4°C sıcaklığında santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırılarak kalan pellet üzerine 1N NaOH ilave edilmiş 1 saat boyunca 80°C 'de inkübe edilmiştir. Örnekler 400 nm'de ölçülmüş ve kontrolle kıyaslanarak melanogenez etkinliği hesaplanmıştır. Yapılan tüm deneyler hataları en aza indirmek amacıyla, aynı çalışmada 3 kuyucuk olacak şekilde, en az 2 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Pozitif kontrol olarak 2-100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında kojik asit kullanılmıştır. Her bir örneğin inhibisyon oranı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon: } [(Abs_{k\ddot{o}r} - Abs_{numune}) / Abs_{k\ddot{o}r}] \times 100$$

Kör: Numune taşımayan çözelti

3.2.4. Ekstrelerdeki Eser Element Düzeyi Ölçümü

Bakır düzeyi ölçümü ICP-MS (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer) cihazında gerçekleştirilmiştir.

Kapalı Ortamda Mikrodalga İle Çözünürleştirme (analiz öncesi ön işlem):

Bitki ekstreleri tartılarak, ICP-MS cihazında kullanılan 15 mL'lik kapaklı plastik falkon tüpleri içerisine konulmuştur. Üzerine 500 µL daha önceden hazırlanarak bekletilen nitrik asit ve hidrojen peroksit karışımından (4:1) eklenerek kapakları sıkıca kapatılmıştır. Örnek körü hazırlanırken, 600 µL nitrik asit ve hidrojen peroksit karışımından (4:1) alınıp 15 mL'lik kapaklı plastik falkon tüpleri içerisine konulmuş, daha sonra bu tüpler özel mikrodalga yakma cihazında 1 saat 45 dakika boyunca 100 °C'de yakma işlemine tabi tutulmuştur. Yakma işlemi bittikten sonra tüplerin kapakları açılarak üzerlerine 9,5 mL distile su eklenerek son hacim 10 mL ye tamamlanmıştır (yakma işlemi esnasında 100 µL numune çözeltisi buharlaşmıştır). Elde edilen çözeltilerin ICP-MS cihazında ölçümleri yapılmıştır.

Metallerin Tayini İçin Standart Çözeltilerin Hazırlanması:

Cihazda kullanılmak üzere farklı konsantrasyonlarda 6 adet standart karışım hazırlanmıştır. Bunlar sırasıyla 0.625 ppb, 1.25 ppb, 2.5 ppb, 5 ppb, 10 ppb ve 20 ppb karışımlarıdır. Standartların ölçülmesinde kör olarak % 2'lik nitrik asit (HNO₃) ve % 0,11'lik hidroklorik asit (HCl) karışımı kullanılmıştır.

Karışım çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan asit çözeltisinin hazırlanması için nitrik asit ve hidroklorik asit kullanılmıştır. Standartların hazırlanmasında nitrik asidin (HNO₃) ve hidroklorik asidin (HCl) karışım içindeki yüzde konsantrasyonları sırası ile % 2 ve % 0,1 olarak ayarlanmıştır. Bu amaçla, 2 litrelik balon jojenin belirli bir kısmına kadar distile su konulup, üzerine 43.64 mL nitrik asit ve 2.24 mL hidroklorik asit eklenmiştir. Balon jojenin dar boynundaki çizgiye kadar distile su eklenerek 2 litreye tamamlanıp karıştırılmıştır.

Standartın hazırlanmasında karışıma ilaveten ticari olarak elde edilmiş olan karışımdan [(Lot: 1722301, Cat. ICP-MSCS-PE3 solution A PE ICP-MS kalibrasyon standart (10 µg/mL , %5 HNO₃)] ilave edilmiştir. İlk standart karışımı hazırlanırken (20 ppb) 49.9 mL asit karışımı falkon tüp içerisine koyulup sonra üzerine 100 µL karışım eklenerek karıştırılmıştır. İkinci standart hazırlanırken, ilk falkon tüpteki karışımdan 25 mL alınıp ikinci falkon tüpe aktarılmış karışımın dilüe konsantrasyonu 1/2 kata (10 ppb) ayarlanacak şekilde, üzerine daha önceden hazırlanan asit karışımı çözeltisinden 25 ml eklenmiş ve karıştırılmıştır. Aynı şekilde diğer standartların (5 ppb, 2.5 ppb, 1.25 ppb ve 0.625 ppb) hazırlanması da tamamlanmıştır. Kör çözeltisi için sadece asit karışımı çözeltisi kullanılmıştır.

Çözeltilerin hepsinin hazır hale getirilmesinden sonra tüpler cihazın uygun bölümlerine konularak cihaz hazır hale getirilmiş, cihazın hazırlanmasından sonra, yakma işlemi bitirilmiş bitki örnekleri olan tüpler de cihaza yerleştirilip cihaz çalıştırılmıştır. Cihazın monitöründe işlem görecektir numune sayısı belirtilmiş ve numuneler kodlanmıştır. Cihaz otomatik olarak ölçümü yaptıktan sonra çıkan sonuçlar µg/L (ppb) cinsinden verilmiştir.

3.2.5. Tirozinaz Enzim Kinetiği

Enzim kinetiği, enzimle katalizlenen bir reaksiyonun hızını ve mekanizmasını inceleme anlamına gelmektedir. Yani substratların ürüne dönüşümünde izlenen yolun ve hızın bilinmesidir. Tirozinaz enzimine karşı yüksek inhibisyon etkisi gösteren PM-1, PM-3, PM-6 ve PM- 15 kodlu bileşiklerin enzim kinetiği incelenmiştir.

96 kuyucuklu mikroplakalara 0.05 mM fosfat tamponu (pH 6,8) içerisinde hazırlanmış 130 µL mantar kaynaklı tirozinaz (yaklaşık 70 ünite/mL) enzimi eklenmiştir. Ardından tampon içerisinde 20-200 µg/ml konsantrasyon aralığında hazırlanmış örnek çözeltilerden 20 µL ilave edilmiş ve son olarak 50 µL 0-3 mM L-tirozin kuyucuklara eklenerek 37 ° C' de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. 0., 10. ve 20. dakikalarda 475 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Aşağıda verilen Michaelis-Menten eşitliğinin her iki tarafı 1/ şeklinde yazılarak $y=mx+b$ şeklinde bir

Lineweaver-Burk eğrisi elde edilmiştir. Bir bileşiğin her bir farklı konsantrasyonu için çizilen bu eğriler yorumlanarak inhibisyon tipi belirlenmiştir.

$$V_0 = V_{\max} [S] / K_m + [S]$$

V_0 = ilk hız ,

V_{\max} = maksimum hız,

[S] = substrat konsantrasyonu, K_m = hız sabiti

3.2.6. Antioksidan Kapasite Tayini

Tez çalışmamızda *P. mahaleb* tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstrelerin ve bu ekstrelerden elde edilen etil asetat ve sulu fraksiyonlar ile poliamit kolondan ön fraksiyonlama aşamasında toplanan ana fraksiyonların; DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), NO (Nitrik oksit), SO (Süper oksit) ve ABTS radikallerini süpürücü etkinlikleri ile Bakır Redükleyici Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) araştırılmıştır.

a) DPPH Radikal Süpürücü Etki Tayini

DPPH radikali süpürücü etkinlik, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikalinin metanol çözeltisinin spektroskopik olarak dekolorizasyonunun ölçülmesi esasına dayanır. Antioksidan etkinliğin tayini, antioksidan özellikteki bir maddenin DPPH radikalini indirgemesi ile belirlenir (364).

- Biyootografik Yöntem ile DPPH Radikal Süpürücü Etki Tayini

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarının (endokarp) ana ekstre ve fraksiyonlarının DPPH radikalini süpürmelerine yönelik ön bilgi edinilmesi amacıyla bu yöntem uygulanmıştır. DPPH radikalinin metanollü 0.4 mM'lık çözeltisi hazırlanmıştır. Ekstre ve fraksiyonlar 1 mg/ml olacak şekilde metanolde çözülerek pastör pipeti yardımıyla silikajel plağa, plağın alt ucundan 1 cm yukarisına gelecek

şekilde kısa çizgi olarak tatbik edilmiştir. Hareketli faz olarak Kloroform: metanol: su (61:32:7) solvan sistemi kullanılmış ve sürüklenme sağlanmıştır (365).

Kuruyan plağın üzerine hazırlanan DPPH çözeltisi pülverizatör yardımı ile tatbik edilmiştir. Radikal süpürücü etki gösteren lekeler, mor zemin üzerinde sarı renkli olarak görülmüştür.

-Spektroskopik Yöntem ile DPPH Radikal Süpürücü Etki Tayini

Ekstre ve fraksiyonların, uygun miktarda metanol ile farklı konsantrasyonlarda (20, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml) çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerin her birinden 200 µl alınarak 96 kuyucuklu plaklara aktarılmış ve üzerlerine 50 µl 1 mM DPPH çözeltisinden ilave edilerek çalkalanmıştır. 30 dakika sonra 517 nm'de absorbans değerleri ölçülerek inhibisyon hesaplamaları yapılmıştır. Her örnek için deney 3 defa tekrarlanarak elde edilen sonuçların ortalaması alınmıştır. Radikal süpürücü etki sadece DPPH ve metanolden oluşan körün absorbansı ve örneklerin absorbansının karşılaştırılması ile hesaplanmıştır. Standart bileşik olarak doğal bir antioksidan olan kersetin kullanılmıştır. Kersetin örnekler ile aynı koşullarda ve aynı konsantrasyonlarda uygulanmıştır.

% DPPH süpürücü etki aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon: } [(Abs_{k\ddot{o}r} - Abs_{numune}) / Abs_{k\ddot{o}r}] \times 100$$

Kör: Numune taşımayan çözelti

b) Nitrik Oksit (NO) Radikali Süpürücü Etkinlik Tayini

Antioksidan etkinliğin tayini, antioksidan özelliği olan bir maddenin nitrik oksitle muamelesi sonucu ortamda kalan nitrik oksit konsantrasyonunun spektroskopik yöntemle ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Nitrik oksit deney ortamında sodyum nitroprussitten oluşturulmaktadır. Ölçüm yapılırken nitrik oksitin en stabil dönüşüm ürünü olan nitrit (NO₂⁻) konsantrasyonu kullanılmaktadır. Spektroskopik ölçümün gerçekleştirilebilmesi için deney esnasında Griess reaktifi

gerekmektedir. Ekstre ve fraksiyonların, uygun miktarda distile su ile farklı konsantrasyonlarda (20, 50, 100,200 ve 400 µg/ml) çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerin her birinden 60 µl alınarak 96 kuyucuklu plaklara aktarılmış ve üzerlerine daha önce PBS içinde çözülerek hazırlanmış olan 60 µl 10 mM sodyum nitroprussid çözeltisi eklenerek 150 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası kuyucuklara aşağıda hazırlanışı belirtilen Griess reaktifinden 120 µl ilave edilerek 577 nm’de absorbans değerleri ölçülmüştür (364).

Griess Reaktifi:

Sülfanilamit		% 1
Naftiletilediamin dihidroklorid		% 0.1
Fosforik asit		% 2.5
Distile su	k.m.	100 ml

Nitrik oksit radikalini süpürücü etki kör (sodyum nitroprussid, griess reaktifi ve distile su içerir) absorbansı ile örnek absorbanslarının karşılaştırılması ile tayin edilmiştir. Referans olarak kullanılan kersetin örnekler ile aynı koşullarda ve aynı konsantrasyonlarda uygulanmıştır. Her örnek için deney 3 defa tekrarlanarak elde edilen sonuçların ortalaması alınmıştır.

% NO süpürücü etki aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon: } [(Abs_{kör} - Abs_{numune}) / Abs_{kör}] \times 100$$

Kör: Numune taşımayan çözelti

c) Süpet Oksit (SO) Radikalini Süpürücü Etkinlik Tayini

SO radikali süpürücü etkinlik tayini, deney ortamında alkalın DMSO (dimetil sülfoksit) tarafından oluşturulan süperoksit radikalinin NBT (nitroblue tetrazolium) ile renkli diformazan bileşiği oluşturması esasına dayanmaktadır. Antioksidan özelliği olan bir maddenin süper oksitle muamelesi sonucu ortamdaki SO radikalinin miktarı

azalmaktadır. Ortamda kalan renkli diformazan bileşiğinin absorpsiyonunun ölçülmesi ile aktivite tayini yapılmaktadır. Ekstre ve fraksiyonların DMSO içinde hazırlanan farklı konsantrasyonlarına ait çözeltilerinden 30' ar µl alınarak, üzerine 10'ar µl NBT çözeltisi (1 mg NBT/ 1 ml DMSO) ilave edilmiştir. Daha sonra 100 µl alkalın DMSO (0.9 ml DMSO + 0.1 ml 5 Mm NaOH) ilave edilerek 560 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır (366, 367).

SO radikali süpürücü etkinlik; DMSO, NBT ve alkalın DMSO içeren kör çözeltilerinin absorbansı ve örneklerin absorbansının karşılaştırılması ile hesaplanmıştır. Doğal bir antioksidan olan kersetin standart madde olarak örnekler ile aynı koşullarda ve aynı konsantrasyonlarda uygulanmıştır. Her örnek için deney 3 defa tekrarlanarak elde edilen sonuçların ortalaması alınmıştır.

% SO süpürücü etki aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon: } ((\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{numune}}) / \text{Abs}_{\text{kör}}) \times 100$$

d) ABTS Radikali Süpürücü Etkinlik Tayini

2,2'azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) ve potasyum persülfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) çözeltilerinin karıştırılması ile oluşan mavi-yeşil renkli ABTS^+ radikali çözeltilerinin antioksidan varlığında renginin giderilmesi ve bu renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanan bir yöntemdir (368).

7 mM ABTS ve 2.45 mM potasyum persülfat çözeltileri 1:1 oranında karıştırılmış ve karışım oda sıcaklığında, karanlık ortamda, 12-16 saat bekletilmiştir. İnkübasyonun ardından karışım, etanol ile değişik oranlarda seyreltilerek 734 nm'de absorbans ölçümleri yapılmıştır. Absorbansın 0.7 ± 0.02 olarak ölçüldüğü konsantrasyon belirlenmiş ve bu derişimdeki 1 ml ABTS çözeltisi, 10 µl değişik konsantrasyonlarda hazırlanan ekstre ve fraksiyonların üzerine ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 6 dakika inkübasyondan sonra 734 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Standart olarak trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit)

kullanılmış ve sonuçlar troloks ekivalen ve % inhibisyon cinsinden hesaplanmıştır. Her örnek için deney 3 defa tekrarlanarak elde edilen sonuçların ortalaması alınmıştır.

% ABTS süpürücü etki aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon: } [(Abs_{k\ddot{o}r} - Abs_{numune}) / Abs_{k\ddot{o}r}] \times 100$$

Kör: Numune taşımayan çözelti

e) Bakır Redükleyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini

1 ml $CuCl_2$ (0,01 M) çözeltisi, 1 ml neokuprin (2,9-dimetil1,10-fenantrolin) çözeltisi (7.5 mM), 1ml amonyum asetat (CH_3COONH_4) tamponu (1 M, pH:7) alınarak üzerine son hacim 4,1 ml olacak şekilde, 0-200 $\mu g/ml$ derişim aralığında etanolde çözülerek hazırlanan X ml örnek çözeltisi ve (1-X) ml etanol ilave edilip karıştırılmıştır. 30 dakika karanlıkta inkübasyondan sonra, 450 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Bu yöntemde standart olarak kullanılan troloks ve kersetin için derişim-absorbans standart grafiğı oluşturulmuş ve antioksidan aktivitesi incelenen her örnek için absorbans değerleri grafikte yerine yazılarak troloks ekivalen değerleri hesaplanmıştır. Her örnek için deney 3 defa tekrarlanarak elde edilen sonuçların ortalaması alınmıştır

3.2.7. Sitotoksik Etki Tayini

Sitotoksik etki tayini çalışmalarımızda, Mossman tarafından geliştirilen MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür] yönteminin modifiye edilmiş hali kullanılmıştır (364, 369). Tetrazolyum halkası canlı hücre mitokondrilerinde parçalanmaktadır. Bu nedenle MTT sadece canlı hücrelerde reaksiyon vermektedir. Canlı hücrelerde bulunan dehidrojenaz enzimiyle MTT mor renkli formazan yapısına indirgenir. Canlı hücrelerin oluşturduğu mor renk kolorimetrik olarak ölçümü ile sitotoksik etki tayini yapılır.

Sitotoksik etki çalışmaları, L929 (fare fibroblast) sağlıklı hücre serisi ve B16F10 (fare melanoma), A2058 (insan metastaz melanoma), HeLa (insan servikal epidermoid karsinoma) kanser hücre serileri üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarımızda HeLa hücre serisi için %10 dana serumu, %1 L-glutamin ve % 0.5 penisilin-streptomisin çözeltisi içeren MEM vasatı kullanılırken, L929, B16F10 ve A2058 hücre serileri için %10 dana serumu, %1 L-glutamin ve % 0.5 penisilin-streptomisin çözeltisi içeren DMEM vasatı kullanılmıştır. L929 (1×10^5 hücre/ml), B16F10 (1×10^5 hücre/ml), A2058 (4×10^4 hücre/ml), HeLa (1×10^5 hücre/ml)) hücrelerinden belirtilen sayıda hücre içeren süspansiyonlar hazırlanarak 100' er μ l olacak şekilde 96 kuyucuklu plakalara dağıtılmış ve 24 saat boyunca $37^\circ C$ ' de %5 CO_2 içeren inkübatörde bekletilerek hücrelerin çoğalmaları sağlanmıştır. Bekleme süresinin ardından kuyucuklardaki vasat uzaklaştırılarak yerine test edilecek numunelerin vasat içerisinde hazırlanmış farklı konsantrasyonlarını içeren çözeltilerden 100' er μ l eklenmiş ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kuyucuklardaki numune çözeltileri aspire edilerek 100 μ l taze vasat ilave edilmiştir. Aynı işlem bir kez daha tekrarlanmıştır. 5 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan MTT çözeltisinden 10' ar μ l kuyucuklara ilave edilmiş ve 4 saat daha inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki vasat aspire edilerek yerine 100 μ l DMSO (dimetil sülfoksit) çözeltisi ilave edilmiş böylece oluşan formazan kristallerinin çözünmesi sağlanmıştır. Çözünen kristallerin absorbans değerleri 577/655 nm'de ölçülmüştür. Hesaplamalar yapılırken test edilen örnekler ile aynı koşullarda yalnızca MEM ya da DMEM vasatının kullanıldığı kontrol grubu kullanılmıştır.

Sitotoksik etki tayinini belirlemek için yapılan tüm deneyler hataları en aza indirmek ve istatistiksel hesaplamalar yapmak amacıyla, aynı çalışmada 3 kuyucuk olacak şekilde, en az 2 tekrarlı olacak şekilde yürütülmüştür.

Pozitif kontrol olarak 2-100 μ g/ml konsantrasyonlarında etopozit ve sisplatin kullanılmıştır. Her bir örneğin inhibisyon oranı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon: } [(Abs_{k\ddot{o}r} - Abs_{numune}) / Abs_{k\ddot{o}r}] \times 100$$

3.3. Biyolojik Etki Çalışmaları ve Fitokimyasal Çalışmalarda Kullanılan Aletler

Diyafram Pompa: Herkules 200/10/24 Air Compressor

Etüv: Elektro-mag

Kütle Spektrometresi : Absciex 3200Q trap LC-MS/MS Q-Trap MS/MS

ICP-MS: Agilent 7700

FAB-MS: JEOL JMS-DX300

Kromatografi Tankı: Camag (cam küvet, 22 x 23 x 8 cm)

Liyofilizatör: Virtis Freezemobile 5

Manyetik Karıştırıcı: Heidolph

NMR Spektrometresi (1D ve 2D)

¹H NMR: JEOL JNM-A 500 (500 MHz)

¹³C NMR: JEOL JNM-A 500 (125 MHz)

Rotavapor: Büchi R 200, Büchi R 210

Ultrasonik Banyo: Transsonic 570

UV Lamba: Camag

CO₂ İnkübatörü: Sanyo MCO-18AIC (UV)

İnverted Mikroskop: Leica DMIL LED

Laminar Air Flow Kabini: Cyto-Baby CB 1204

Mikroplaka Okuyucu: BIO-TEK , µQuant (MQX 200)

Otoklav: Autoclave HS 9041

Rotavapor : Büchi RE 111, Büchi EL 131 ve Heidolph 5111

Santrifüj : UniGen 15D, Herolab

Hassas Terazı : Sartorius CP224S, Shimadzu AUW220D, Denver Instrument SI-234

İTK plak ısıtıcı : Camag TLC Plate Heater III

Derin dondurucu : (-20°C) , (-80°C) Arçelik

Otomatik Pipetler : 10 µl, 100µl, 200µl, 1000 µl (İsolab)

Karıştırmalı Su Banyosu : Major Science

4. BULGULAR

Tez çalışmamıza ait bulgular 2 ana başlık altında toplanmıştır:

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarının (endokarp) sulu metanol ile hazırlanan ekstrelerin petrol eteri hekzan ile lipofilik kısımları uzaklaştırıldıktan sonra kalan fazlarının fraksiyonlama ve izolasyon işlemleri ” **Fitokimyasal Çalışmalara ait Bulgular**”, antitirozinaz etkinlik, antioksidan kapasite tayini, sağlıklı ve kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki gibi biyolojik etki çalışmalarının sonuçları ise **“Biyolojik Etki Çalışmalarına ait Bulgular”** başlığı altında verilmiştir.

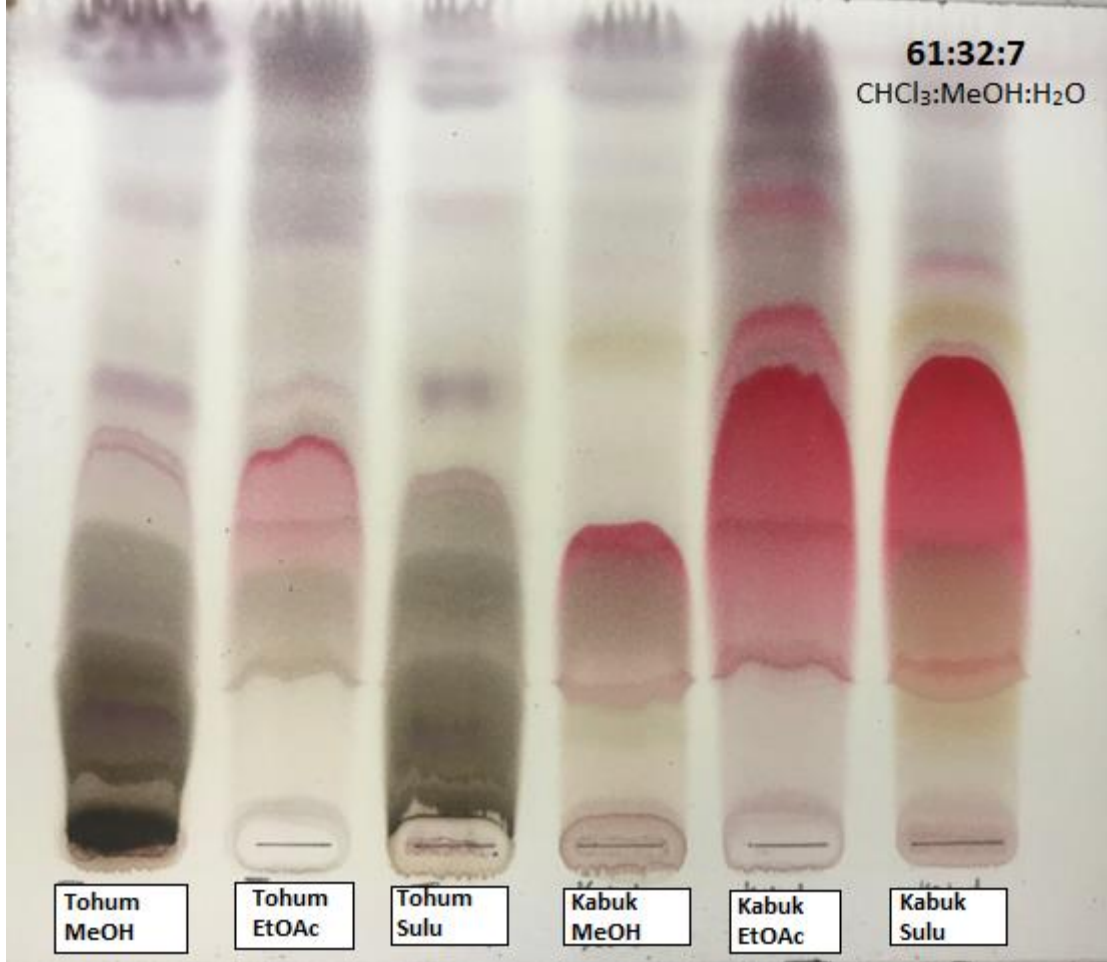
4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

P. mahaleb meyve kabuklarının (endokarp) %70 metanollü ekstresinden toplam 15 bileşik saf olarak izole edilmiştir. Ana ekstreden elde edilen etilasetatlı fraksiyondan 1 steroid, 1 triterpen, 2 fenolik asit; sulu fraksiyondan ise 5 fenolik glikozit, 2 flavonol glikoziti olmak üzere 11 bileşiğin yapısı spektroskopik (UV, 1D- ve 2D- NMR ve Kütle spektr.) yöntemler kullanılarak aydınlatılabilmektedir. Elde edilen bileşiklerin isimlendirmesinde Türkçe okunuşları esas alınmıştır. *P. mahaleb* tohum ekstresinden bileşik izolasyonu yapılmamıştır. Meyve kabukları üzerindeki çalışmalardan elde edilen yukarıdaki bileşikler standart olarak kullanılarak YBSK karşılaştırması yapılmıştır.

Tohum ve meyve kabuklarına ait sulu metanollü ekstre ve alt ekstrelerin içeriklerini karşılaştırmak amacıyla ekstreler İTK plağına tatbik edilmiş ve hareketli faz olarak kloroform: metanol: su (61:32:7) solvan sistemi kullanılmıştır (Şekil 4.1).

Tohum üzerinde daha önce kimyasal çalışmaların yapılmış olması ve kabuk ekstrelerinin kimyasal maddeler yönünden zengin olması nedenleriyle meyve kabukları üzerinde kimyasal çalışmalara ağırlık verilmiş, tohum ekstresinden madde izolasyonu yapılmamıştır. Mahlep tohumlarının, meyve kabuklarından izole edilen ve yapıları aydınlatılan maddeleri taşıyıp taşımadıklarını belirlemek için Yüksek Basıncı

Sıvı Kromatografisine gereç ve yöntem kısmında belirtmiş olduğumuz koşullarda tohumlar ve izole edilen bileşikler uygulanmıştır.



Şekil 4. 1. *P. mahaleb* tohum ve meyve kabuğu ekstresine ait İTK plağı

Fraksiyonlandırma amacıyla öncelikle bileşiklerin fenolik karakterlerine göre ayırımını sağlayan poliamit kolon kromatografisine uygulanmıştır. % 100 su ile elüsyona başlanmış ve sırasıyla metanol oranı % 0'dan, % 25, % 50, % 75 ve son olarak % 100'e çıkarılmıştır. Bu işlem sonucunda etilasetatlı ve sulu fraksiyonlar farklı metanol oranlarında gelen ve benzer bileşikleri içeren fraksiyonlardan oluşmuş 5 ana fraksiyona ayrılmıştır.

Kabuk Sulu Fraksiyonundan İzole Edilen Bileşikler

PM-1 Bileşiğinin İzolasyonu;

Poliamit KK'dan alınan A fraksiyonunun (toplam 3.5 g) 1 g' ı OBSK sistemine tatbik edilmiş ve MeOH: H₂O solvan sisteminde metanol oranı (% 0-100 MeOH) kademeli olarak artırılarak fraksiyonlar toplanmıştır. **PM-1** bileşiği (20 mg) % 30 metanol içeren solvan sistemi ile kolondan elüe edilmiştir.

PM-2 Bileşiğinin İzolasyonu;

Poliamit KK'dan alınan A fraksiyonunun (toplam 3.5 g) 1 g' ı OBSK sistemine tatbik edilmiş ve MeOH: H₂O solvan sisteminde metanol oranı (% 0-100 MeOH) kademeli olarak artırılarak fraksiyonlar toplanmıştır. **PM-2** (11 mg) bileşiği % 10 metanol içeren solvan sistemi ile kolondan elüe edilmiştir

PM-3 Bileşiğinin İzolasyonu;

Poliamit KK'dan alınan B fraksiyonu (toplam 1 g) Silika jel kolona uygulanmış EtOAc: MeOH:H₂O (100:17:13) solvan sistemi ile elüsyona başlanarak aynı solvan sistemi ile sonuna kadar devam edilmiştir. Fr. 40-48 birleştirilerek (18 mg) saflaştırma amacıyla VSK' ya uygulanmıştır. **PM-3** (6 mg) bileşiği % 30 metanol ile kolondan elüe edilmiştir.

PM-4 Bileşiğinin İzolasyonu;

Poliamit KK'dan alınan C fraksiyonu (toplam 0.35 g) Silika jel kolona uygulanmış EtOAc: MeOH:H₂O (100:17:13) solvan sistemi ile elüsyona başlanarak aynı solvan sistemi ile sonuna kadar devam edilmiştir. Fr. 7-12 birleştirilerek (35.5 mg) Sefadeks kolona saflaştırma amacıyla uygulanmıştır. **PM-4** (6 mg) bileşiği MeOH: H₂O solvan sistemi ile kolondan elüe edilmiştir.

PM-5 Bileşiminin İzolasyonu;

Poliamid KK'dan alınan E fraksiyonu (toplam 0.187 g) Silika jel kolona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (90:10:1- 70:30:3) solvan sistemi ile uygulanmıştır. **PM-5** (4.2 mg) bileşiği 80:20:2 ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$) solvan sistemi ile kolondan elüe edilmiştir.

PM-6 Bileşiminin İzolasyonu;

Poliamid KK'dan alınan D fraksiyonu (toplam 0.2 g) Silika jel kolona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (90:10:1- 70:30:3) solvan sistemi ile uygulanmıştır. 85:15:1.5 solvan sistemi ile kolondan alınan Fr. 23-46 VSK sistemine tatbik edilmiştir . **PM-6** (8.4 mg) bileşiği 70:30 (MeOH: H_2O) solvan sistemi ile kolondan elüe edilmiştir.

PM-7 Bileşiminin İzolasyonu;

Poliamid KK'dan alınan D fraksiyonu (toplam 0.2 g) Silika jel kolona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (90:10:1- 70:30:3) solvan sistemi ile uygulanmıştır. **PM-7** (11 mg) bileşiği 75:25:2.5 solvan sistemi ile kolondan elüe edilmiştir.

PM-8 Bileşiminin İzolasyonu;

Poliamid KK'dan alınan E fraksiyonu (toplam 0.187 g) Silika jel kolona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (90:10:1- 70:30:3) solvan sistemi ile uygulanmıştır. **PM-8** (5 mg) bileşiği 70:30:3 ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$) solvan sistemi ile kolondan elüe edilmiştir.

PM-9 Bileşiminin İzolasyonu;

Poliamid KK'dan alınan A fraksiyonunun (toplam 3.5 g) 1 g' ı OBSK sistemine tatbik edilmiş ve MeOH: H_2O solvan sisteminde metanol oranı (% 0-100 MeOH) kademeli olarak artırılarak fraksiyonlar toplanmıştır. Fr. 3-4 birleştirilerek (40 mg) VSK'ya uygulanmıştır. **PM-9** (9 mg) bileşiği %60 metanol ile kolondan elüe edilmiştir.

Etilasetatlı Fraksiyonundan İzole Edilen Bileşikler

PM-10 Bileşiğinin İzolasyonu;

Poliamid KK'dan alınan C fraksiyonu (toplam 0.5 g) Silika jel kolona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (100:0:0-90:10:1) solvan sistemi ile uygulanmıştır. **PM-10** (8 mg) bileşiği 100:0:0 ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$) solvan sistemi ile kolondan elüe edilmiştir.

PM-11 Bileşiğinin İzolasyonu;

Poliamid KK'dan alınan B fraksiyonu (toplam 0.042 g) Silika jel kolona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (100:0:0-60:40:4) solvan sistemleri ile uygulanmıştır. **PM-11** (9 mg) bileşiği $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (70:30:3) ile kolondan elüe edilmiştir.

PM-12 Bileşiğinin İzolasyonu;

Poliamid KK'dan alınan D fraksiyonu (toplam 0.290 g) Silika jel kolona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (100:0:0-90:10:1) solvan sistemleri ile uygulanmıştır. Fr. 88-106 birleştirilerek (30 mg) VSK'ya uygulanmıştır. **PM-12** (3 mg) bileşiği %30 metanol ile kolondan elüe edilmiştir.

PM-13 Bileşiğinin İzolasyonu;

Poliamid KK'dan alınan C fraksiyonu (toplam 0.5 g) Silika jel kolona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (100:0:0-90:10:1) solvan sistemleri ile uygulanmıştır. Fr. 73-83 birleştirilerek (22.7 mg) VSK'ya uygulanmıştır. Fr. 31-39 (18.1 mg) PİTK' ya saflaştırma amacı ile uygulanmış ve $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (80:20:2) solvan sistemi ile sürüklenmiştir. Silikajelden ayrımı sağlanarak **PM-13** (4 mg) bileşiği izole edilmiştir.

PM-14 Bileşiğinin İzolasyonu;

Poliamid KK'dan alınan C fraksiyonu (toplam 0.5 g) Silika jel kolona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (100:0:0-90:10:1) solvan sistemleri ile uygulanmıştır. Fr. 73-83 birleştirilerek (22.7 mg) VSK'ya uygulanmıştır. Fr. 31-39 (18.1 mg) PİTK' ya saflaştırma

amacı ile uygulanmış ve $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (80:20:2) solvan sistemi ile sürüklenmiştir. Silikajelden ayrımı sağlanarak **PM-14** (5 mg) bileşiği izole edilmiştir.

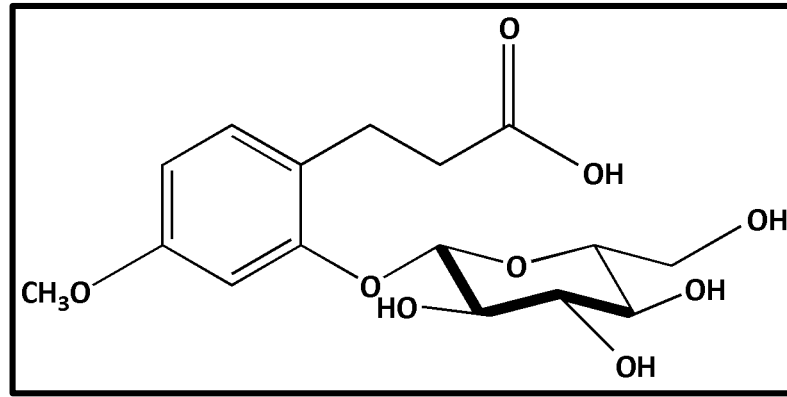
PM-15 Bileşiğinin İzolasyonu;

Poliamit KK'dan alınan D fraksiyonu (toplam 0.290 g) Silika jel kolona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (100:0:0-90:10:1) solvan sistemleri ile uygulanmıştır. Fr. 88-106 birleştirilerek (30 mg) VSK'ya uygulanmıştır. **PM-15** (10 mg) bileşiği % 40 metanol ile kolondan elüe edilmiştir.

4.1.2. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri

SİNNAMİK ASİT TÜREVİ BİLEŞİKLER

2-O-β-GLUKOPİRANOZİLOKSİ-4-METOKSİ HİDROSİNNAMİK ASİT (PM-1)



$C_{16}H_{22}O_9$ (Mol. Ağ. : 358)

UV λ_{maks} (MeOH) nm	326
ESI-MS (m/z)	357 [M-H] ⁻
¹ H NMR	Tablo 4.1 Şekil 4.2
¹³ C NMR ve DEPT	Tablo 4.1 Şekil 4.3
COSY	Şekil 4.4
HMQC	Şekil 4.5
HMBC	Şekil 4.6

2-O- β -GLUKOPİRANOZİLOKSİ-4-METOKSİ HİDROSİNNAMİK ASİT (PM-1)

PM-1 kodu verilen bileşik beyaz renkli amorf bir katı olarak izole edilmiştir. Bileşiğin İTK analizlerinde revelatör (vanilin/H₂SO₄) püskürtülmeden önce UV₂₅₄ nm’de silika jel plağın floresansını engellediği görülmüştür. Püskürtme işleminden sonra plak 105 °C’ de 1-2 dakika ısıtıldığında önce pembe renk almış sonra rengi koyulaşarak kararmaya başlamıştır.

¹³C NMR spektrumundaki 16 karbon sinyali ESI-kütle spektrumunda m/z 357.0’ de gözlenen [M-H]⁻ iyon piki ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin C₁₆H₂₂O₉ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumunda δ_H 6.51-7.05 ppm arasında ABX sistem şeklinde gözlenen, 3 aromatik proton sinyali [δ_H 6.51 (dd, $J=8.4/2.4$ Hz, H-5), δ_H 6.77 (d, $J=2.4$ Hz, H-3), δ_H 7.05 (d, $J=8.4$ Hz, H-6)] yapıda bir trisüstitüe benzen halkasının varlığını göstermiştir. δ_H 2.56 (t, $J=8.4$ Hz, H-8) ve δ_H 2.87 (m, H-7) ppm’de 2H şiddetindeki protonlar benzen halkasına bağlı yan zincirin olduğunu işaret etmektedir. δ_H 3.74 ppm’ de 3H şiddetinde singlet olarak gözlenen sinyal yapının metoksil grubu taşıdığını göstermiştir (Tablo 4.1, Şekil 4.2). Belirtilen tüm protanlara ait δ_C 103.2 (C-3), 108.5 (C-5), 131.3 (C-6), 26.4 (C-7), 35.8 (C-8), 55.8 (-OCH₃) değerleri HMQC spektrumundan tespit edilmiş ve tüm bu veriler karbonile ait δ_C 178.9 değeri ile birlikte düşünüldüğünde yapıda metoksibenzen propanoik asit olduğu görülmüştür.

¹³C NMR spektrumunda 16 karbon sinyali bulunmaktadır. DEPT spektrumları incelendiğinde bu sinyallerin 3 katerner (δ_C 160.9, 157.7, 123.5; C), 8 metin (δ_C 131.3, 108.5, 103.2, 102.8, 78.3, 78.3, 75.0, 71.5; CH), 3 metilen (δ_C 62.6, 35.8, 26.4; CH₂), 1 metoksil (δ_C 55.8; OCH₃) ve 1 karbonil (δ_C 178.9; C=O) karbonuna ait olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.3). Bu sinyallerden 4-metoksibenzen propanoik asite ait olan 3 (C), 3 (CH), 1 (OCH₃), 2 (CH₂) ve 1 karbonil sinyali çıkarıldığında geriye kalan sinyaller yapıda bir heksoz olabileceğini düşündürmüştür.

^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarında δ_{H} 4.88 (d, $J=7.6$ Hz, H-1') δ_{C} 102.8 (CH, C-1')'de görülen anomerik proton ve karbon sinyalleri yapıda bulunan ozu doğrulamıştır. Anomerik protonun kenetlenme sabiti ($J=7.6$ Hz) diğer oz sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde ozun β -glukoz olabileceğini düşündürmüştür. δ_{C} 62.63-78.29 ppm arasında gözlenen 5 karbon rezonansı ve δ_{H} 3.30-3.89 ppm arasında gözlenen proton sinyalleri yapıda bir glukoz varlığını doğrulamaktadır. COSY spektrumunda (Şekil 4.4) bu protonların birbirleri ile olan korelasyonları ve HMQC spektrumunda (Şekil 4.5) oz protonlarına karşılık gelen karbon rezonanslarının kesin olarak tespit edilmesi sonucu ozun β -glukoz olduğu kanıtlanmıştır.

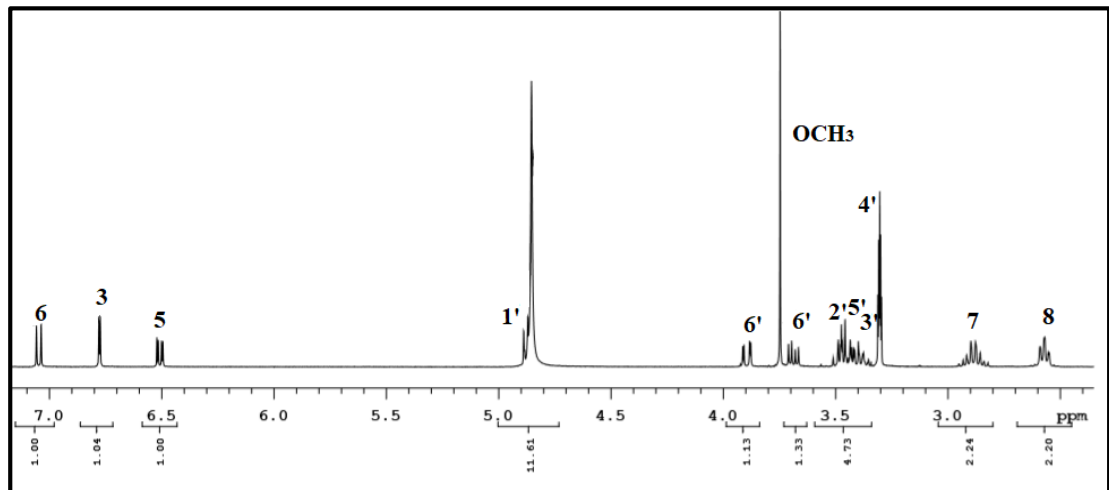
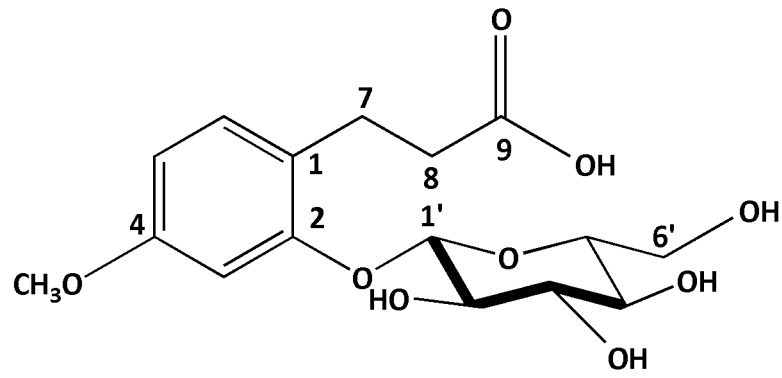
HMBC spektrumunda (Şekil 4.6) glukozun anomerik protonu (δ_{H} 4.88, H-1') ile aglikonun C-2 karbon atomu (δ_{C} 157.7) arasında gözlenen uzak mesafeli korelasyon, glukozun C-2 üzerinden bağlı olduğunu açıklamıştır. Aynı şekilde metoksil grubuna ait proton (δ_{H} 3.74) ile C-4 karbon atomu (δ_{C} 160.9; C) arasında gözlenen uzak mesafeli korelasyon metoksil grubunun bağlantı noktasını göstermiştir.

Tüm bu bulgular eşliğinde yapının **2-O- β -glukopiranoziloksi-4-metoksi hidrosinamik asit** olduğu tespit edilmiştir. Bütün spektroskopik bulgular literatürlerde verilen değerlere uygun bulunmuştur (370, 371). Yapılan literatür taraması sonucunda bu bileşiğin *Prunus* cinsinden ve cinsin ait olduğu familyadan daha önce izole edilmediği belirlenmiştir. *P. mahaleb'* den gerçekleştirdiğimiz izolasyon Rosaceae familyası için verilen ilk kayıttır.

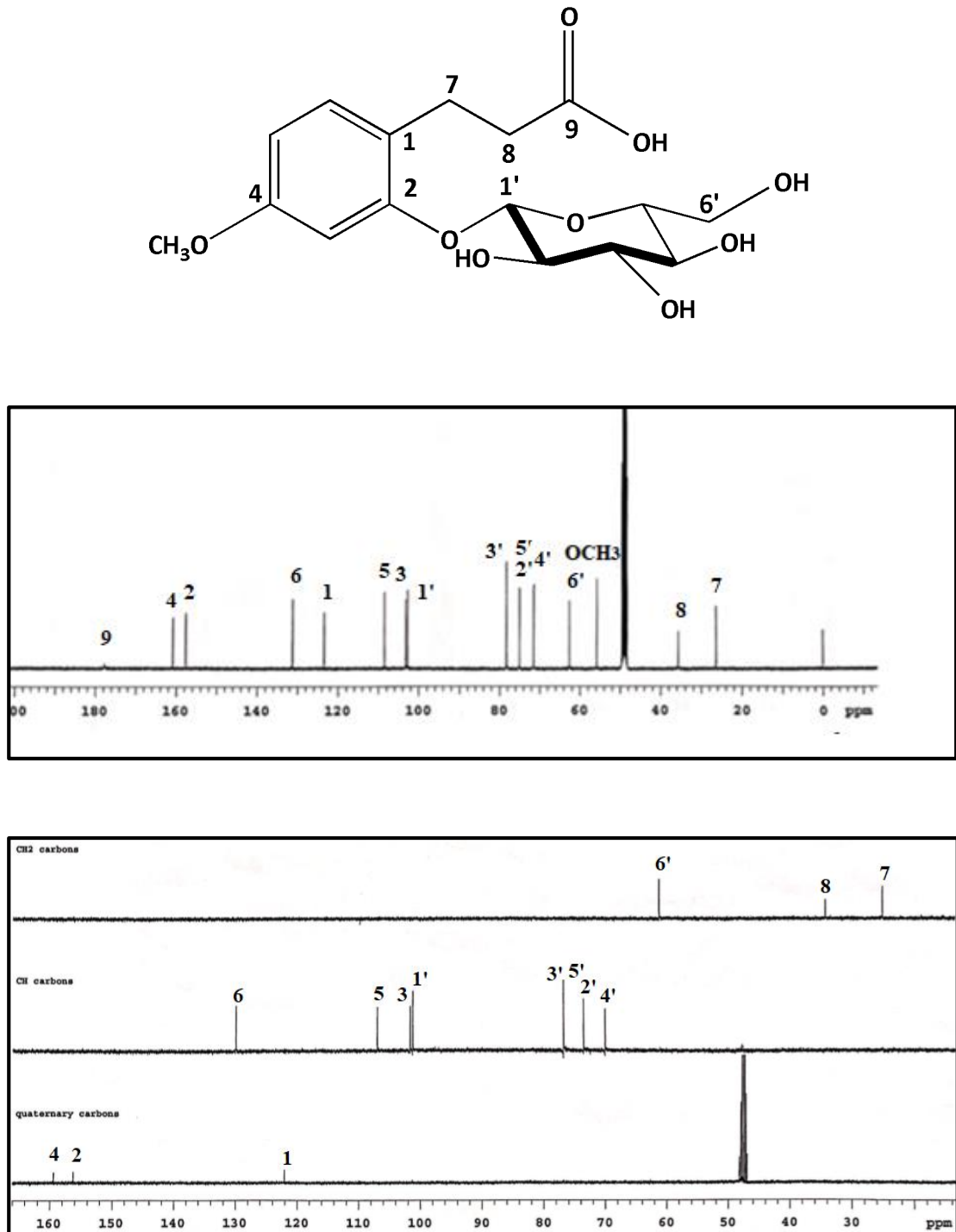
Tablo 4.1. 2-O- β -glukopiranoziloksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (CD_3OD , ^{13}C : 100 MHz, ^1H : 400 MHz)

C/H Atom	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm	J (Hz)	HMBC (H \rightarrow C)
Aglikon					
1	C	123.5			
2	C	157.7			
3	CH	103.2	6.77 d	(2.4)	C-1, C-2, C-4
4	C	160.9			
5	CH	108.5	6.51 dd	(8.4/2.4)	C-1
6	CH	131.3	7.05 d	(8.4)	C-2, C-4
7	CH_2	26.4	2.87 m		C-1, C-6
8	CH_2	35.8	2.56 t	(8.4)	C-1
9	C	178.9			
4-OCH ₃		55.8	3.74 s		C-4, C-5
Glukoz					
1'	CH	102.8	4.88 d	(7.6)	C-2
2'	CH	75.0	3.47 t	(8)	C-3'
3'	CH	78.3	3.40 t	(8)	C-5'
4'	CH	71.5	3.30 m		C-3', C-5'
5'	CH	78.3	3.46 m		C-3'
6'	CH_2	62.6	3.89 dd 3.70 dd	(12/2.4) (12/6)	C-5', C-6'

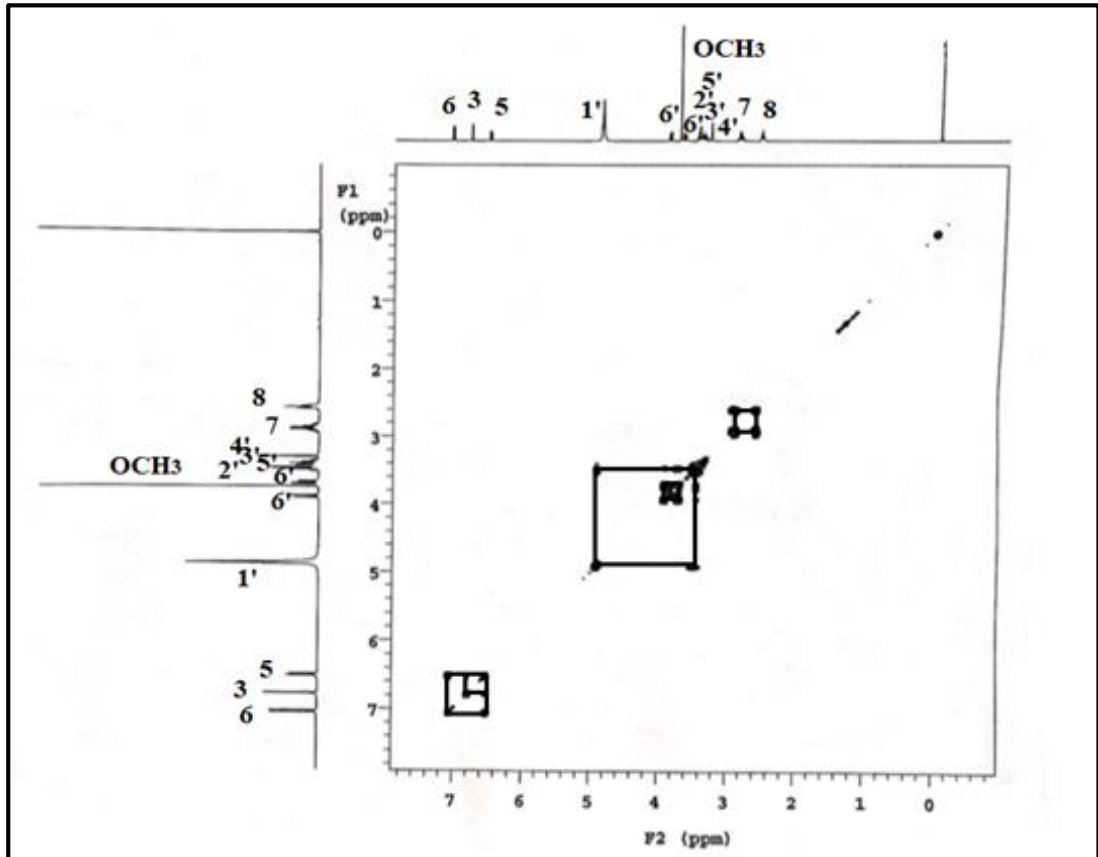
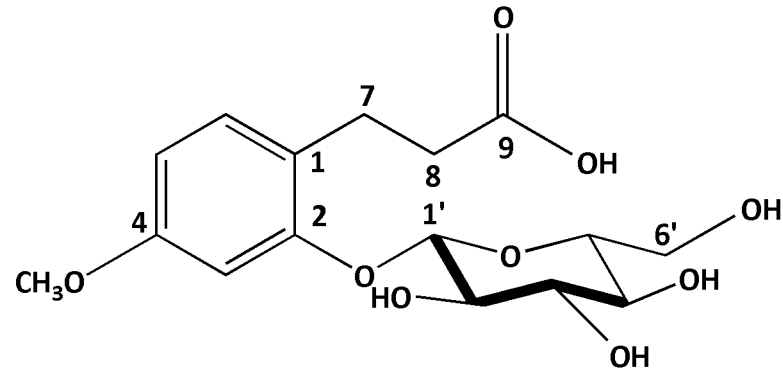
*Rezonanslar 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) yardımı ile yorumlanmıştır.



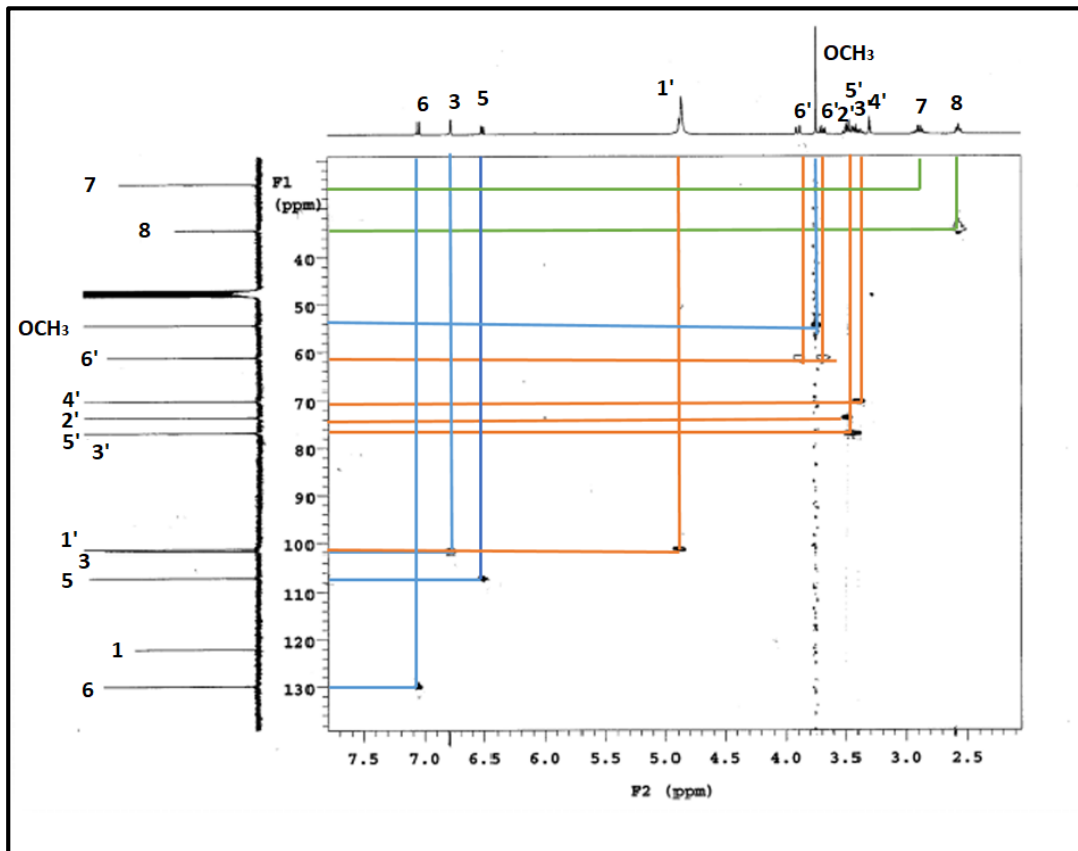
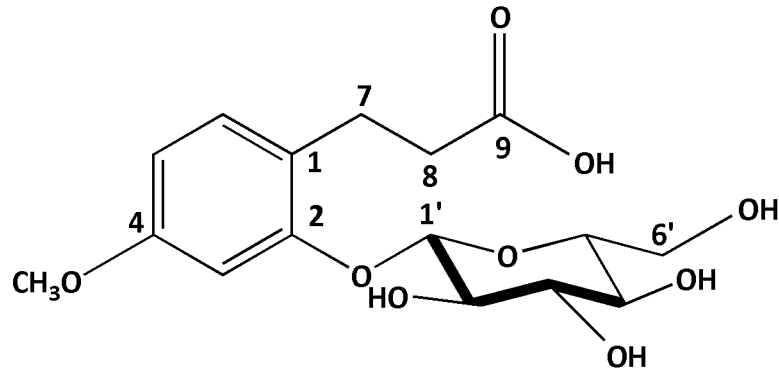
Şekil 4.2. 2-O-β-glukopiranoziloksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in ¹H NMR spektrumu (CD₃OD, 1H: 400 MHz)



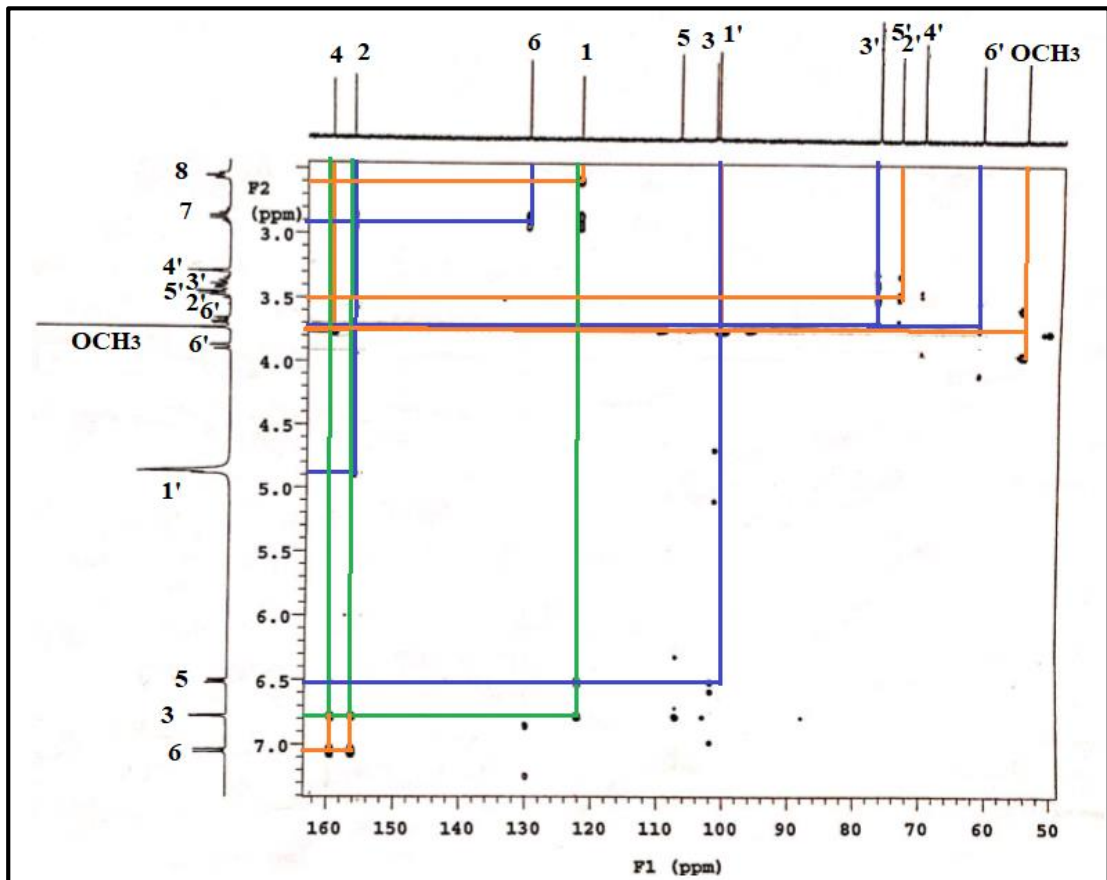
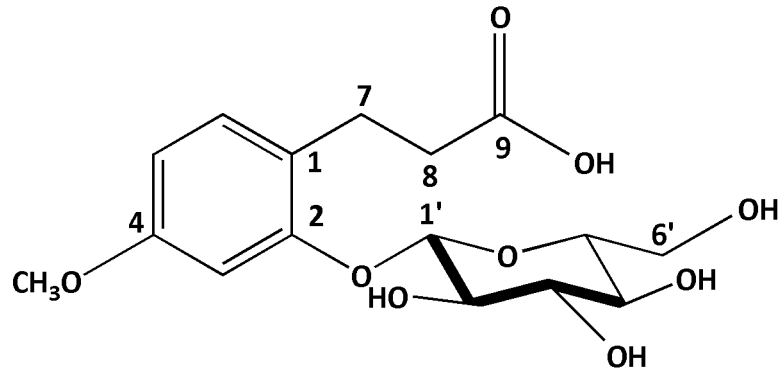
Şekil 4. 3. 2-O-β-glukopiranoziloksi-4-metoksi- hidrosinamik asit'in ¹³C NMR ve DEPT spektrumu (CD₃OD, ¹³C: 100 MHz)



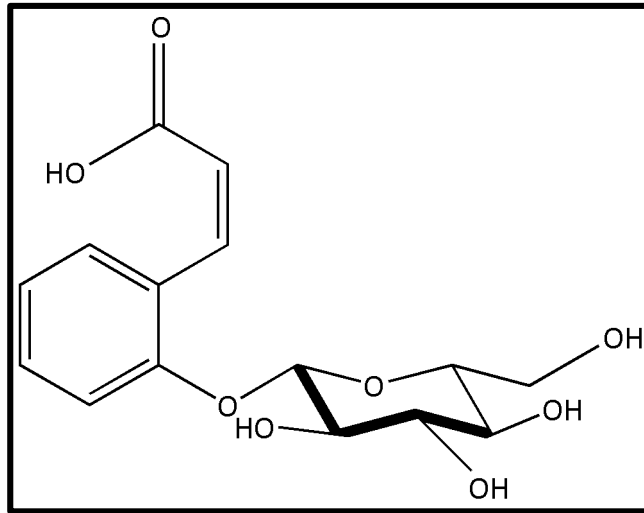
Şekil 4. 4 . 2-O- β -glukopiranoziloksi-4-metoksi-hidrosinnamik asit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)



Şekil 4.5. 2-O- β -glukopiranoziloksi-4-metoksi-hidrosinnamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)



Şekil 4. 6. 2-O- β -glukopiranoziloksi-4-metoksi-hidrosinnamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)

Cis- MELİLOZOİT

C₁₅H₁₈O₈ (Mol. Ağ. : 326.3)

UV λ_{maks} (MeOH) nm	253, 290
ESI-MS (m/z)	325.09 [M-H] ⁻
¹ H NMR	Tablo 4.2 Şekil 4.7
¹³ C NMR ve DEPT	Tablo 4.2 Şekil 4.8
COSY	Şekil 4.9
HMQC	Şekil 4.10
HMBC	Şekil 4.11

***Cis*- MELİLOTOZİT (PM-2)**

2-*O*- β -glukopiranoziloksi-*cis*-sinnamik asit

PM-2 kodu verilen bileşik krem renkli amorf bir katı olarak izole edilmiştir. Bileşiğin İTK analizlerinde revelatör (vanilin/H₂SO₄) püskürtülmeden önce UV₂₅₄ nm'de silika jel plağın floresansını engellediği görülmüştür. Püskürtme işleminden sonra plak 105 °C' de 1-2 dakika ısıtıldığında önce çok kısa bir süre çok açık pembe renk almış sonra rengi hemen koyulaşarak koyu kahverengine dönüşmüştür.

¹³C NMR spektrumundaki 15 karbon sinyali ESI-kütle spektrumunda m/z 325.09' da gözlenen [M-H]⁻ iyon piki ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin C₁₅H₁₈O₈ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumunda (Şekil 4.7), aromatik bölgede bulunan 4 metin proton sinyali [δ_H 6.92 (t, J = 7.45 Hz, H-5), 7.13 (d, J = 8.6 Hz, H-3), 7.16 (dd, J = 8.6/1.75 Hz, H-4), 7.62 (dd, J = 7.45/1.75 Hz, H-6) yapıda bir disübstitüe benzen halkasının varlığını göstermiştir. δ_H 6.76 (2H, d, J = 12.5 Hz, H-7), 6.05 (2H, d, J = 12.5 Hz, H-8)' de 2 olefinik proton sinyali α , β - doymamış karbon zincirinin olduğunu işaret etmektedir. Olefinik protonların kenetlenme sabiti değeri (J = 12.5 Hz) *cis* izomer için karakteristiktir. Belirtilen tüm protanlara ait δ_C 116.5 (C-3), 129.7 (C-4), 123 (C-5), 130.7 (C-6), 126.6 (C-7), 129.09 (C-8), değerleri HMQC spektrumundan (Tablo 4.2, Şekil 4.10) tespit edilmiş ve tüm bu değerler karbonile ait δ_C 176.9 ile birlikte düşünüldüğünde yapıda fenil propenoik asit olduğu görülmüştür.

¹³C NMR spektrumunda (Şekil 4.8) 15 karbon sinyali gözlenmiştir. DEPT spektrumları incelendiğinde bu sinyallerin 2 katerner (δ_C 156.0, 128.3; C), 11 metin (δ_C 130.7, 129.7, 129.0, 126.6, 123, 116.5, 102.5, 78.0, 78.0, 74.9, 71.3; CH), 1 metilen (δ_C 62.5; CH₂), ve 1 karbonil (δ_C 176.9; C=O) karbonuna ait olduğu anlaşılmıştır. Bu sinyallerden 3- fenil 2- propenoik asite ait olan 2 (C), 6 (CH) ve 1 karbonil sinyali çıkarıldığında geriye kalan sinyaller yapıda bir heksoz olduğunu düşündürmüştür.

^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarında δ_{H} 4.91 (d, $J=7.45$ Hz, H-1') δ_{C} 102.5 (CH, C-1')'de görülen anomerik proton ve karbon sinyalleri yapıda bulunan ozu doğrulamıştır. Anomerik protonun kenetlenme sabiti ($J=7.45$ Hz) diğer oz sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde ozun β -glukoz olabileceğini düşündürmüştür. 62.5-78.0 ppm arasında gözlenen 5 karbon rezonansı ve 3.39-3.85 ppm arasında gözlenen proton sinyalleri yapıda bir glukoz varlığını doğrulamaktadır. COSY spektrumunda (Şekil 4.9) bu protonların birbirleri ile olan korelasyonları ve HMQC spektrumunda oz protonlarına karşılık gelen karbon rezonanslarının kesin olarak tespit edilmesi sonucu ozun β -glukoz olduğu kanıtlanmıştır.

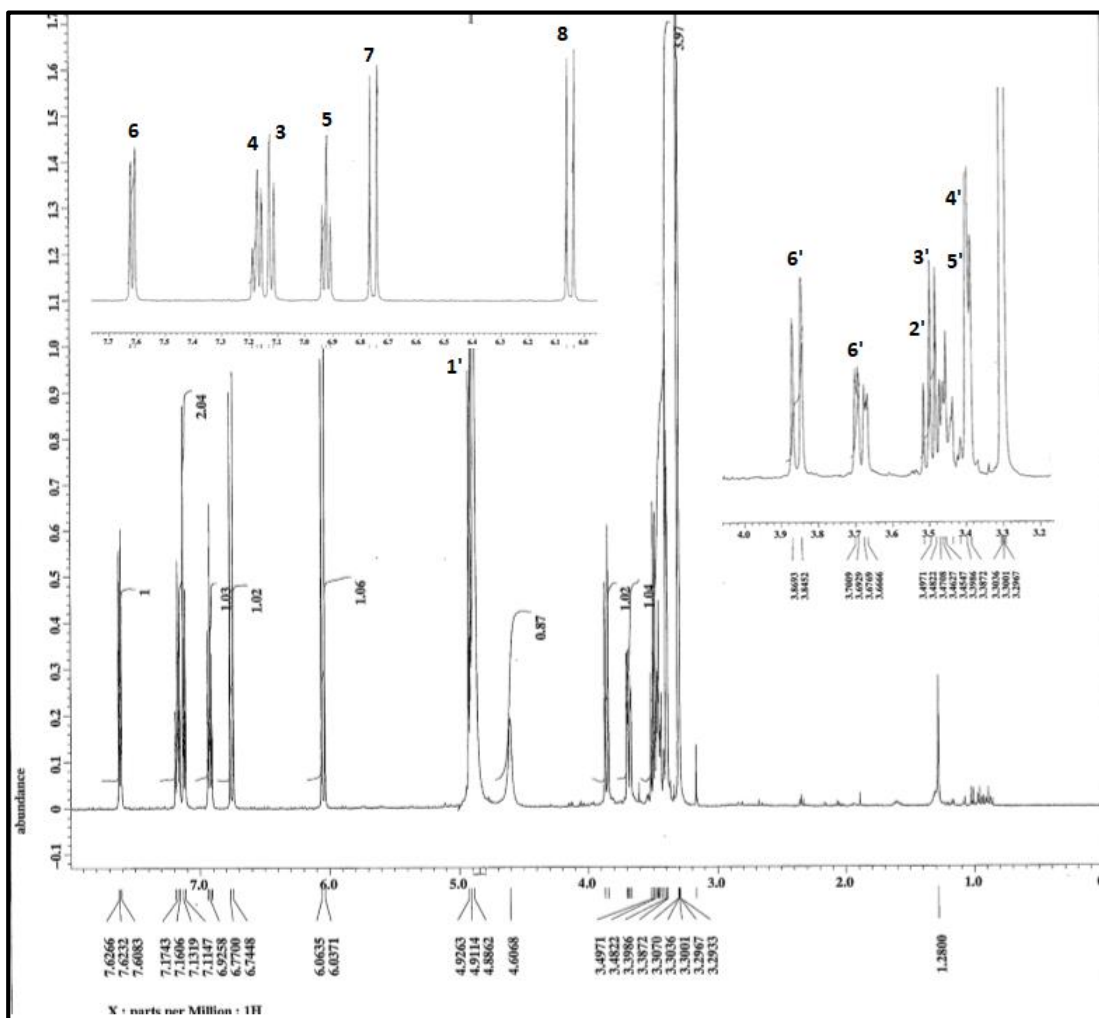
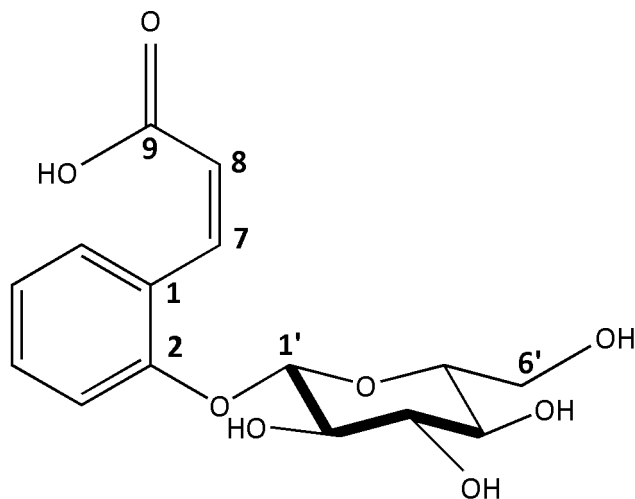
HMBC spektrumunda (Şekil 4.11) glukozun anomerik protonu (δ_{H} 4.91, H-1') ile aglikonun C-2 karbon atomu (δ_{C} 156.0) arasında gözlenen uzak mesafeli korelasyon, glukozun C-2 üzerinden bağlı olduğunu açıklamıştır.

Tüm bu bulgular eşliğinde yapının **2-O- β -glukopiranoziloksi-*cis*-sinnamik asit (*cis*-melilotozit)** olduğu tespit edilmiştir. Bütün spektroskopik bulgular literatürlerde verilen değerlere uygun bulunmuştur (372). Yapılan literatür taraması sonucunda bu bileşiğin *Prunus* cinsinden ve cinsin ait olduğu familyadan daha önce izole edilmediği belirlenmiştir. *P. mahaleb'* den gerçekleştirdiğimiz izolasyon Rosaceae familyası için verilen ilk kayıttır.

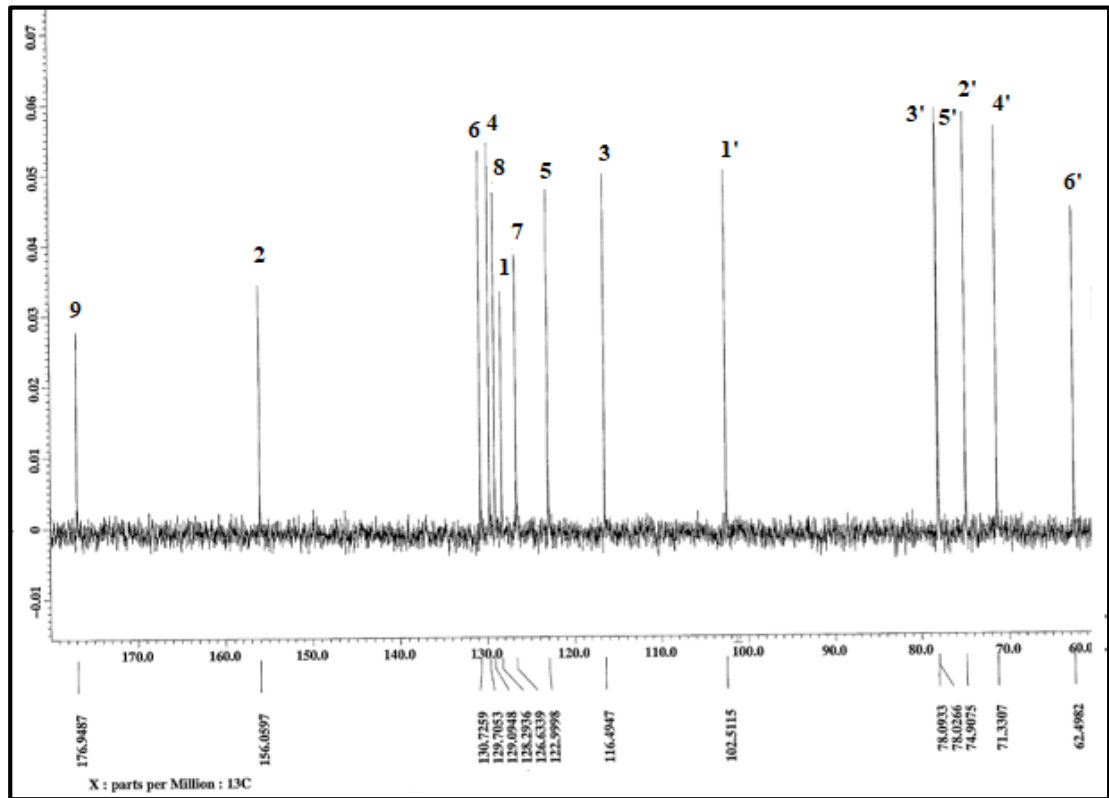
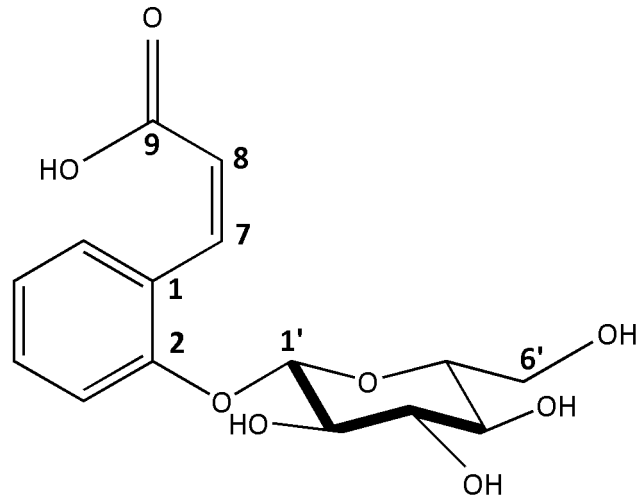
Tablo 4.2. *cis*- Melilotozit' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri*(CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)

	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm	J (Hz)	HMBC (H \rightarrow C)
Aglikon					
1	C	128.3			
2	C	156.0			
3	CH	116.5	7.13 d	(8.6)	C-1, C-5
4	CH	129.7	7.16 dd	(8.6/1.75)	C-2, C-6
5	CH	123.0	6.92 t	(7.45)	C-3, C-1
6	CH	130.7	7.62 dd	(7.45/1.75)	C-1, C-2, C-4,
7	CH	126.6	6.76 d	(12.5)	C-2, C-6, C-9
8	CH	129.0	6.05 d	(12.5)	C-1, C-9
9	C	176.9			
Glukoz					
1'	CH	102.5	4.91 d	(7.45)	C-2, C-2'
2'	CH	74.9	3.50 dd	(9.5/7.5)	C-3'
3'	CH	78.0	3.48 t	(9.15)	C-5'
4'	CH	71.3	3.39 d	(9.15)	C-3', C-5'
5'	CH	78.0	3.42 m		C-3'
6'	CH ₂	62.5	3.85 d	(12)	
			3.68 dd	(12/5.15)	

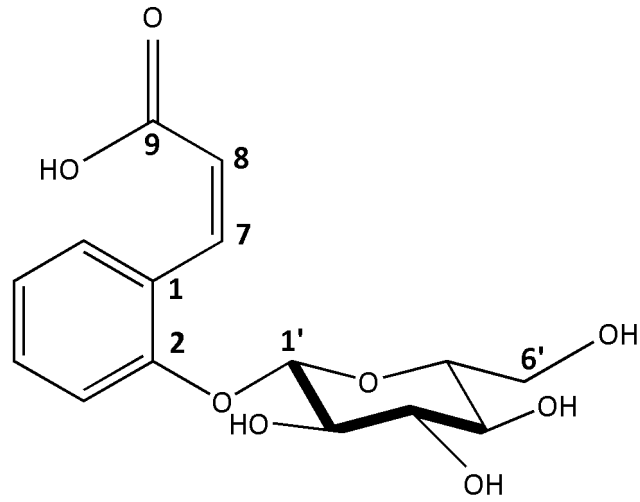
*Rezonanslar 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) yardımı ile yorumlanmıştır.



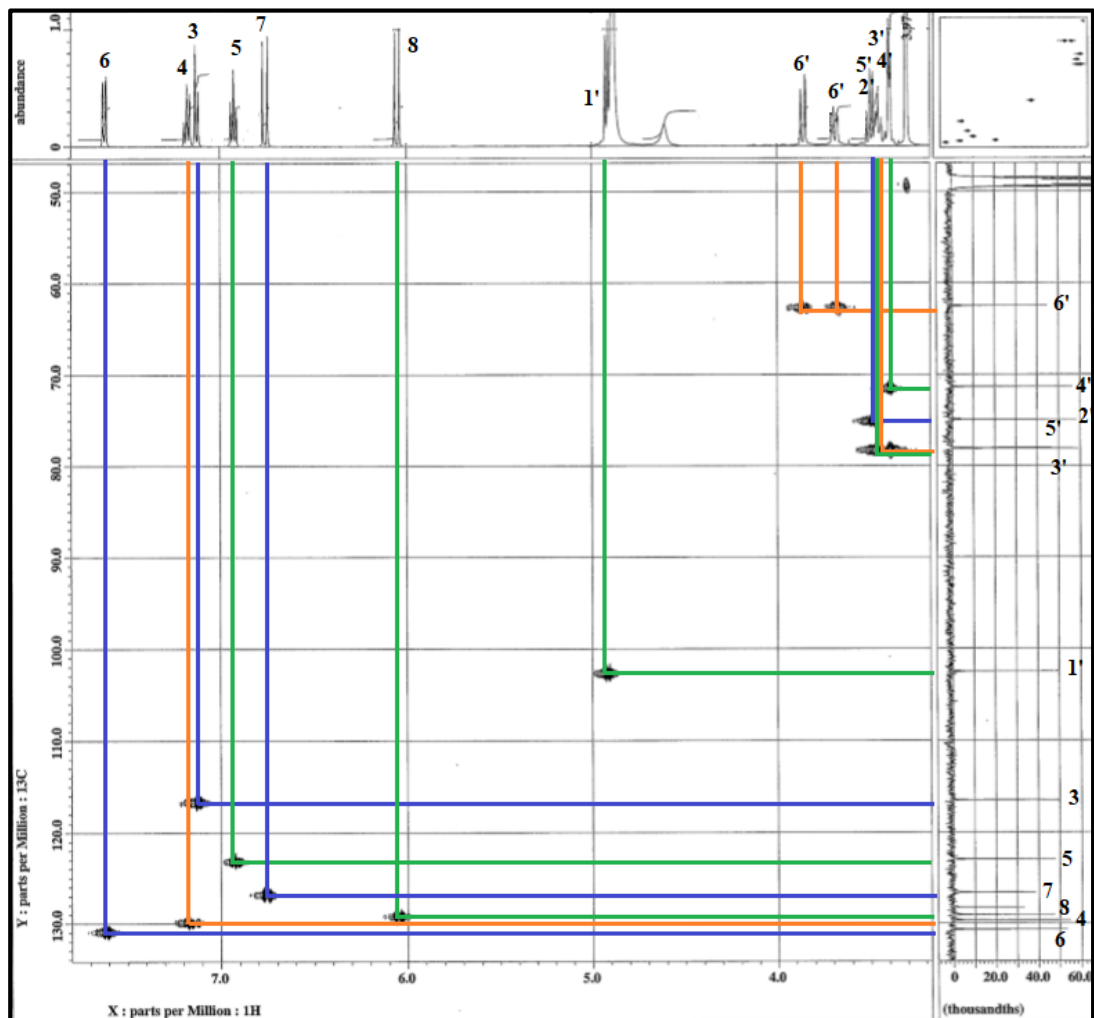
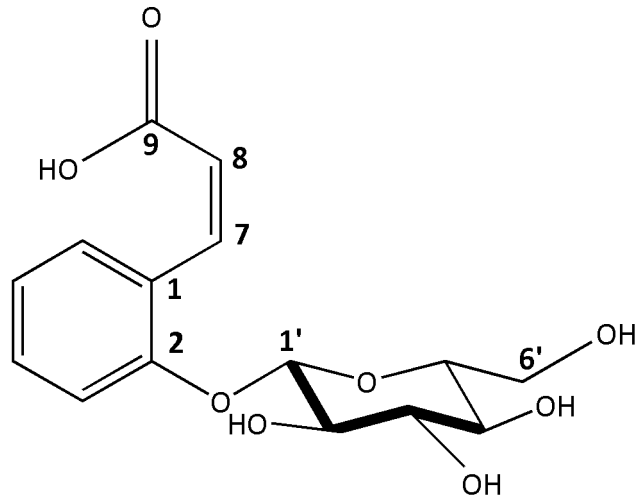
Şekil 4. 7. *cis*-Melilotozit' in ^1H NMRs Spektrumu (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)



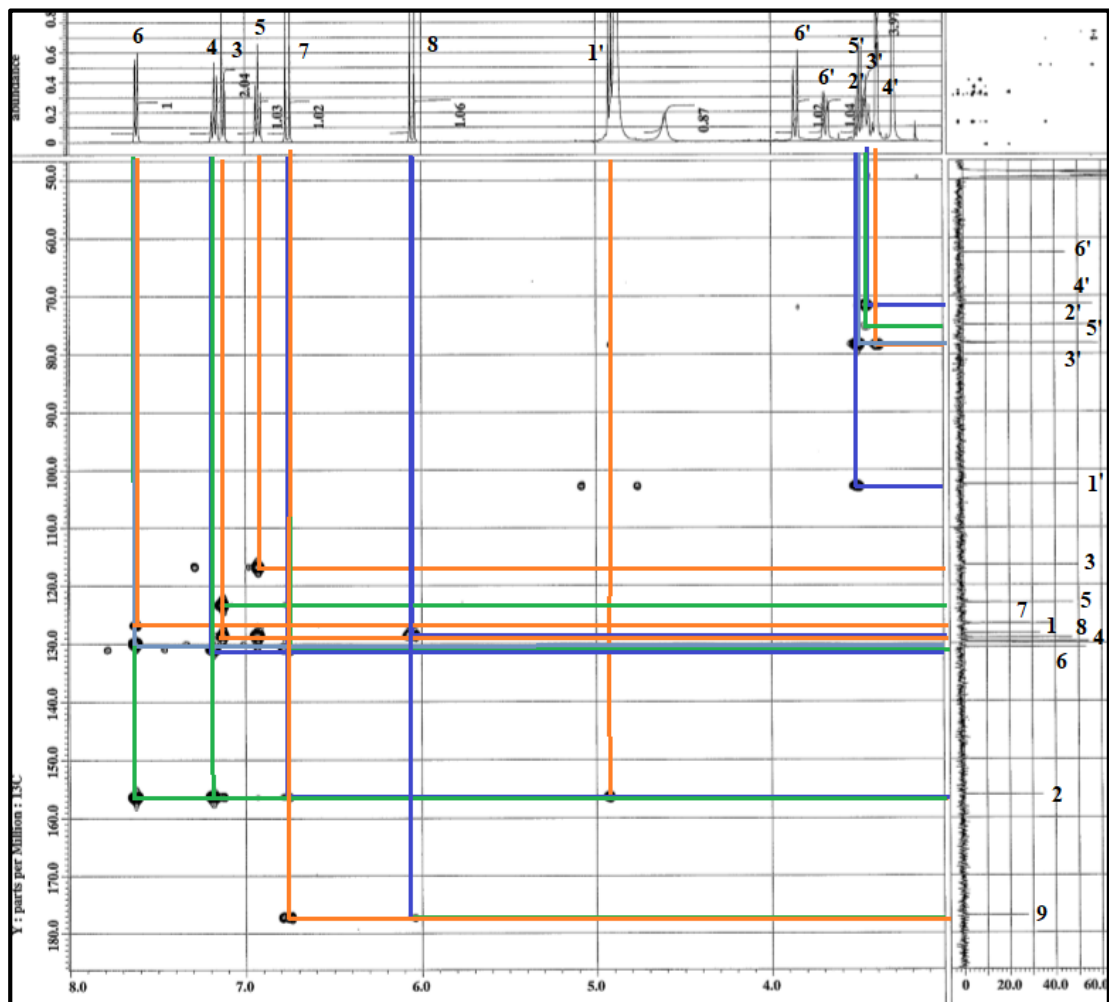
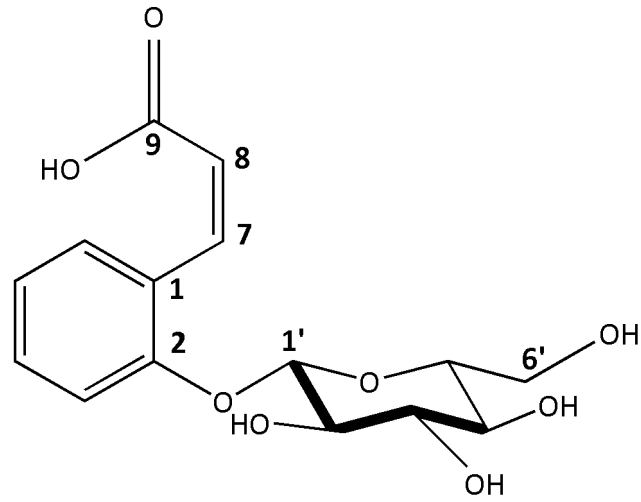
Şekil 4. 8. *cis*- Melilotozit'in ^{13}C NMR spektrumu (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)



Şekil 4. 9. *cis*- Melilotozid'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)

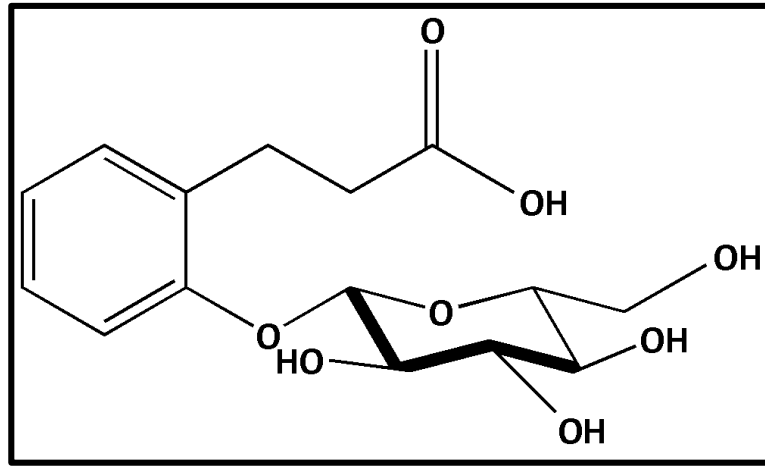


Şekil 4. 10. *cis*-Melilotozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)



Şekil 4. 11. *cis*-Melilotozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)

DİHİDROMELİLOZİT



$C_{15}H_{20}O_8$ (Mol. Ağ. : 328.3)

UV λ_{maks} (MeOH) nm	220,270
ESI-MS (m/z)	329 $[M+H]^+$
1H NMR	Tablo 4.3 Şekil 4.12
^{13}C NMR ve DEPT	Tablo 4.3 Şekil 4.13
COSY	Şekil 4.14
HMQC	Şekil 4.15
HMBC	Şekil 4.16

DİHİDROMELİLOTOZİT (PM-3)

2-O- β -glukopiranoziloksi-hidrosinamik asit

PM-3 kodu verilen bileşik kahverengi amorf bir katı olarak izole edilmiştir. Bileşiğin İTK analizlerinde revelatör (vanilin/H₂SO₄) püskürtülmeden önce UV₂₅₄ nm'de silika jel plağın floresansını engellediği görülmüştür. Püskürtme işleminden sonra plak 105 °C' de 1-2 dakika ısıtıldığında önce çok kısa bir süre pembe renk almış sonra rengi kahverengiye dönüşmüştür.

¹³C NMR spektrumundaki 15 karbon sinyali ESI-kütle spektrumunda m/z 329.0' da gözlenen [M+H]⁺ iyon piki ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin C₁₅H₂₀O₈ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumunda (Şekil 4.12), aromatik bölgede bulunan 4 metin proton sinyali [δ_H 6.91 (m, H-5), 7.13 (s, H-3), 7.14 (dd, $J = 1.75/7.45$ Hz, H-6), 7.15 (d, $J = 7.45$ Hz, H-4) yapıda bir disüstitüe benzen halkasının varlığını göstermiştir. δ_H 2.53 (gt, H-8) ve δ_H 2.95 (m, H-7) ppm'de 2H şiddetindeki protonlar benzen halkasına bağlı yan zincirin olduğunu işaret etmektedir (Tablo 4.3). Belirtilen tüm protanlara ait δ_C 116.2 (C-3), 128.5 (C-4), 123.4 (C-5), 130.9 (C-6), 27.6 (C-7), 37.2 (C-8), değerleri HMQC spektrumundan tespit edilmiş ve tüm bu değerler karbonile ait δ_C 178 ile birlikte düşünüldüğünde yapıda fenil propanoik asit olduğu görülmüştür.

¹³C NMR spektrumunda (Şekil 4.13) 15 karbon sinyali gözlenmiştir. DEPT spektrumları incelendiğinde bu sinyallerin 2 katerner (δ_C , 157.0, 132.1; C), 9 metin (δ_C 130.9, 128.5, 123.4, 116.2, 102.5, 77.8, 77.8, 74.7, 71.1; CH), 3 metilen (δ_C 62.3, 37.2, 27.6; CH₂) ve 1 karbonil (δ_C 178; C=O) karbonuna ait olduğu anlaşılmıştır. Bu sinyallerden fenil propanoik asite ait olan 2 (C), 4 (CH), 2 (CH₂) ve 1 karbonil sinyali çıkarıldığında geriye kalan sinyaller yapıda bir heksoz olabileceğini düşündürmüştür.

¹H ve ¹³C NMR spektrumlarında δ_H 4.88 (d, $J = 8.6$ Hz, H-1') δ_C 102.5 (CH, C-1')'de görülen anomerik proton ve karbon sinyalleri yapıda bulunan ozu doğrulamıştır. Anomerik protonun kenetlenme sabiti ($J = 8.6$ Hz) diğer oz sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde uzun β -glukoz olabileceğini düşündürmüştür. δ_C 62.3-

77.8 ppm arasında gözlenen 5 karbon rezonansı ve δ_H 3.38-3.88 ppm arasında gözlenen proton sinyalleri yapıda bir glukoz varlığını doğrulamaktadır. COSY spektrumunda (Şekil 4.14) bu protonların birbirleri ile olan korelasyonları ve HMQC spektrumunda oz protonlarına karşılık gelen karbon rezonanslarının kesin olarak tespit edilmesi sonucu ozun β -glukoz olduğu kanıtlanmıştır.

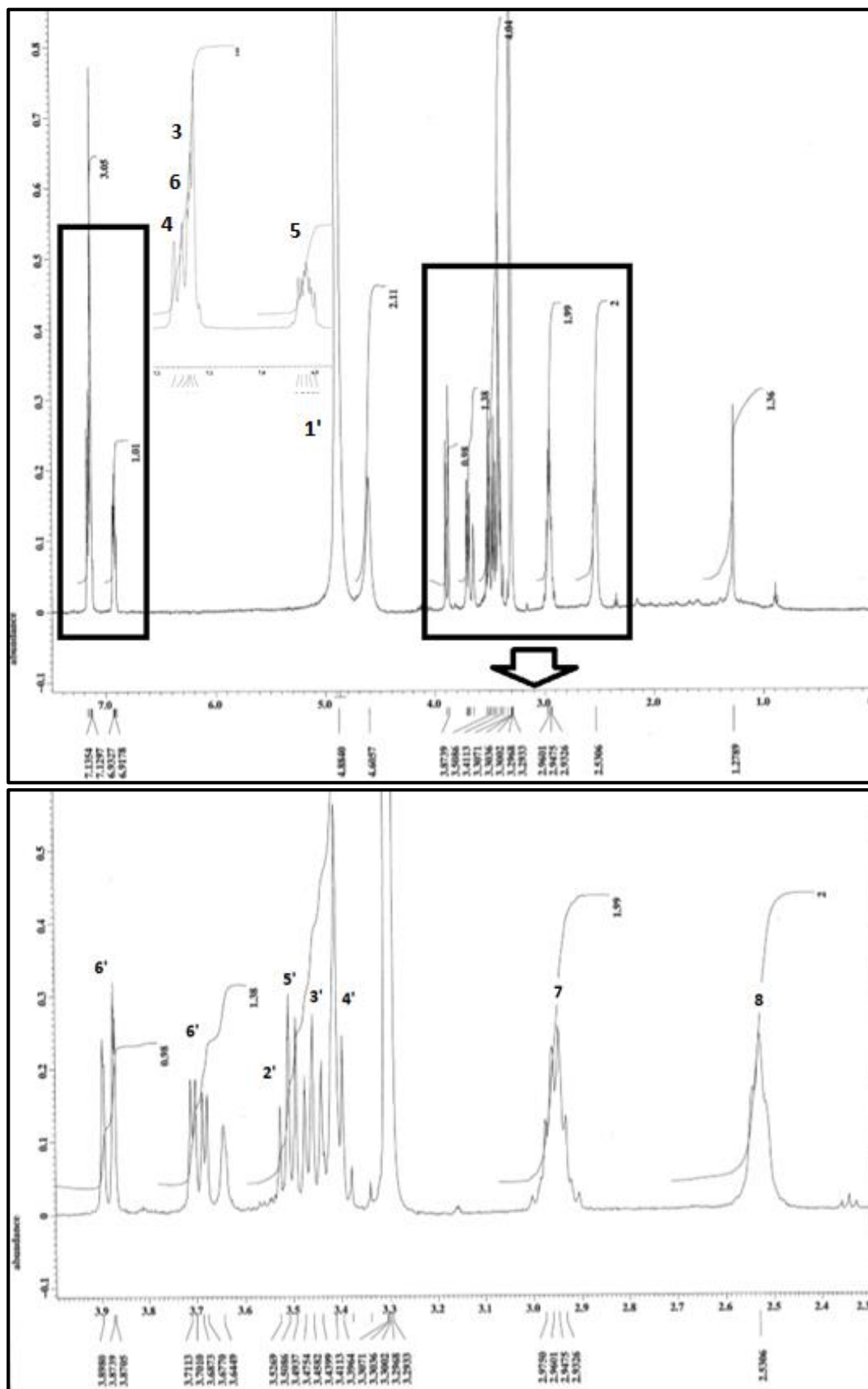
HMBC spektrumunda (Şekil 4.16) glukozun anomerik protonu (δ_H 4.88, H-1') ile aglikonun C-2 karbon atomu (δ_C 157.0) arasında gözlenen uzak mesafeli korelasyon, glukozun C-2 üzerinden bağlı olduğunu açıklamıştır.

Tüm bu bulgular eşliğinde yapının **2-O- β -glukopiranoziloksi-hidrosinnamik asit** olduğu tespit edilmiştir. Dihidromelilotozit için elde edilen bütün spektroskopik bulgular literatürlerde verilen değerlere uygun bulunmuştur (373, 374). Yapılan bir çalışmada bu bileşiğin *P. mahaleb'* deki varlığı HPLC ile analiz edilmiştir (74). Bu yayın dışında bu bileşiğin *Prunus* cinsinden izolasyonuna dair başka bir bilgiye rastlanmamıştır.

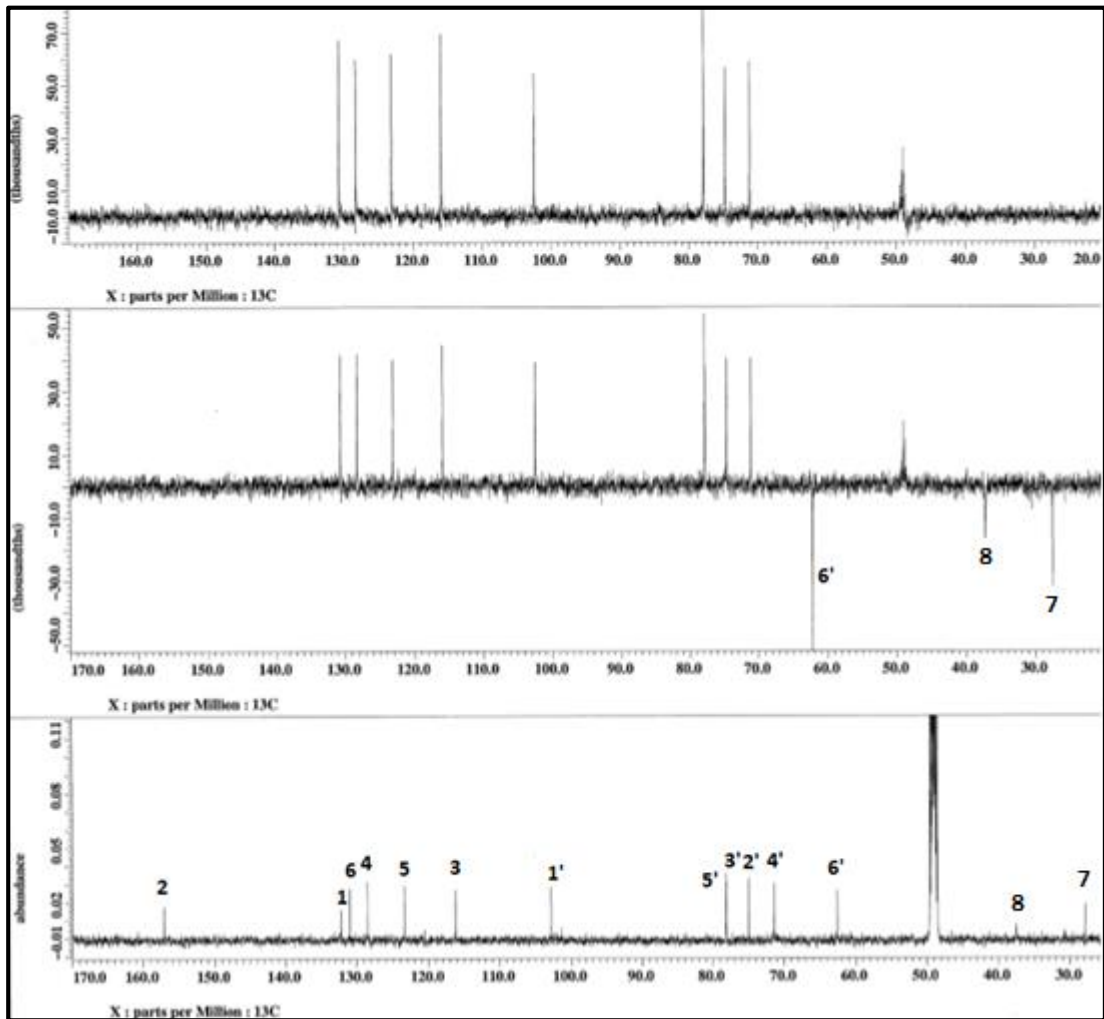
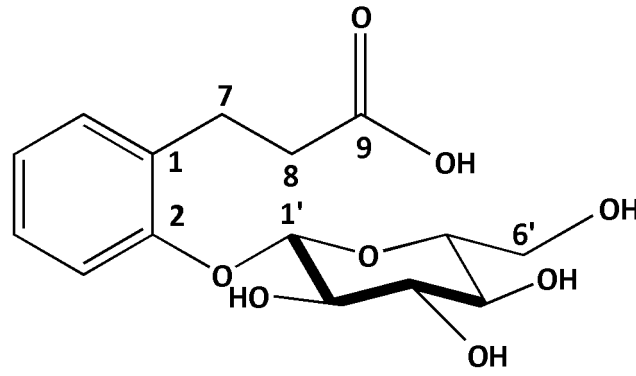
Tablo 4. 3. Dihidromelilotozit' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)

	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm	J (Hz)	HMBC (H \rightarrow C)
Aglikon					
1	C	132.1	-	-	
2	C	157.0	-	-	
3	CH	116.2	7.13 s		C-1, C-5
4	CH	128.5	7.15 d	(7.45)	C-4
5	CH	123.4	6.91 m		C-3
6	CH	130.9	7.14 dd	(7.45/1.75)	C-2, C-4
7	CH_2	27.6	2.95 m		C-1, C-6
8	CH_2	37.2	2.53 m		C-7
9	C	178.0	-	-	
Glukoz					
1'	CH	102.5	4.88 d	(8.6)	C-2
2'	CH	74.7	3.50 dd	(9.15/7.45)	C-3'
3'	CH	77.8	3.47 t	(8.6)	C-5'
4'	CH	71.1	3.38 d	(7.45)	C-3', C-5'
5'	CH	77.8	3.45 m		C-3'
6'	CH_2	62.3	3.88 dd	(12/1.75)	
			3.69 dd	(12/5.15)	

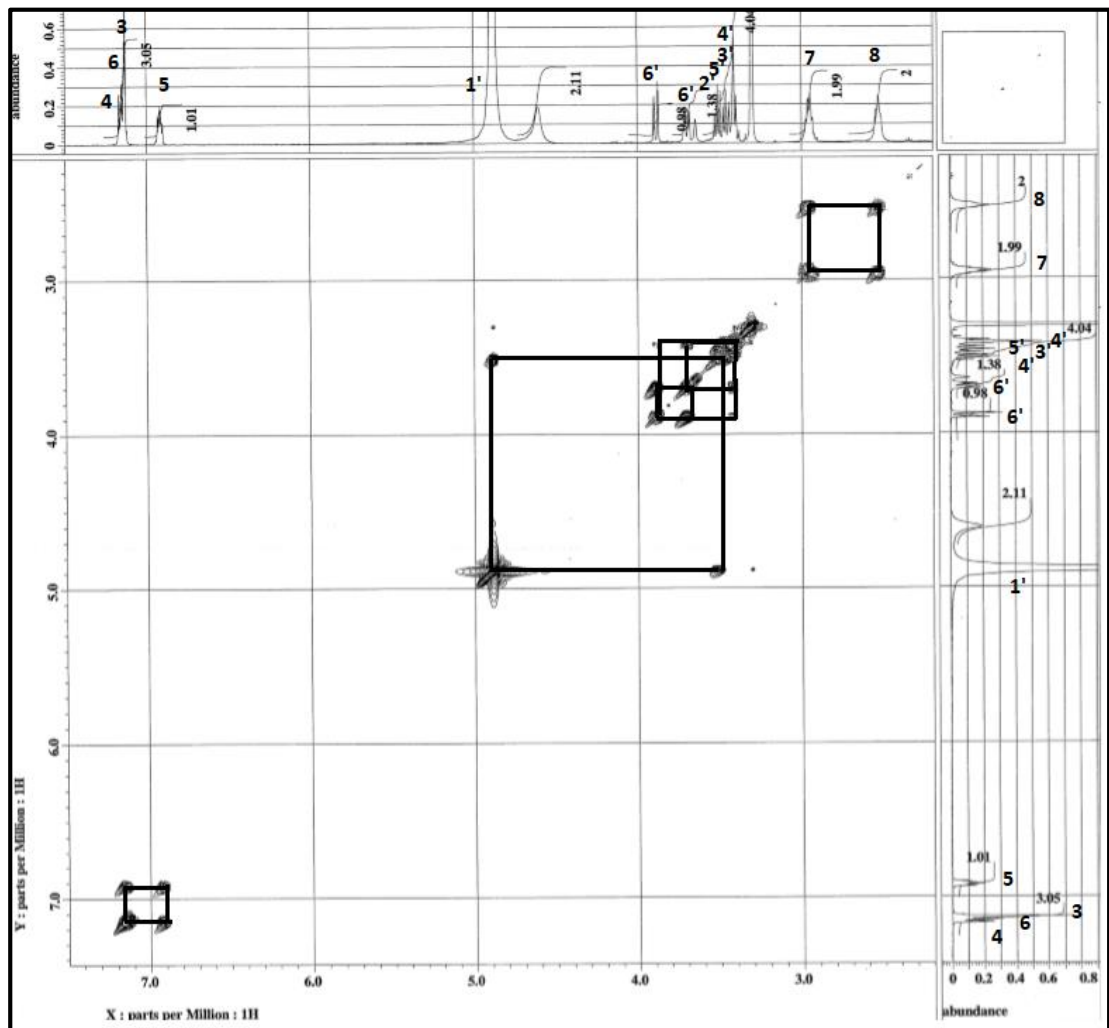
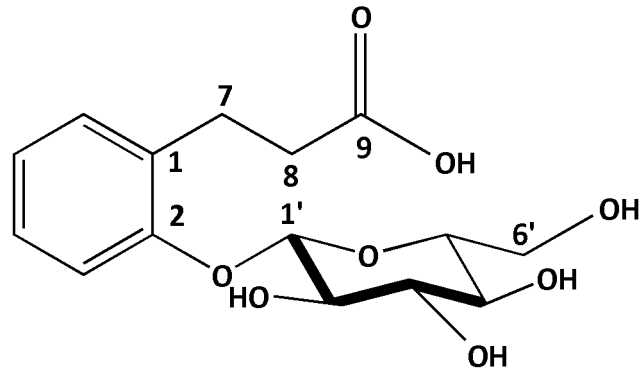
*Rezonanslar 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) yardımı ile yorumlanmıştır.



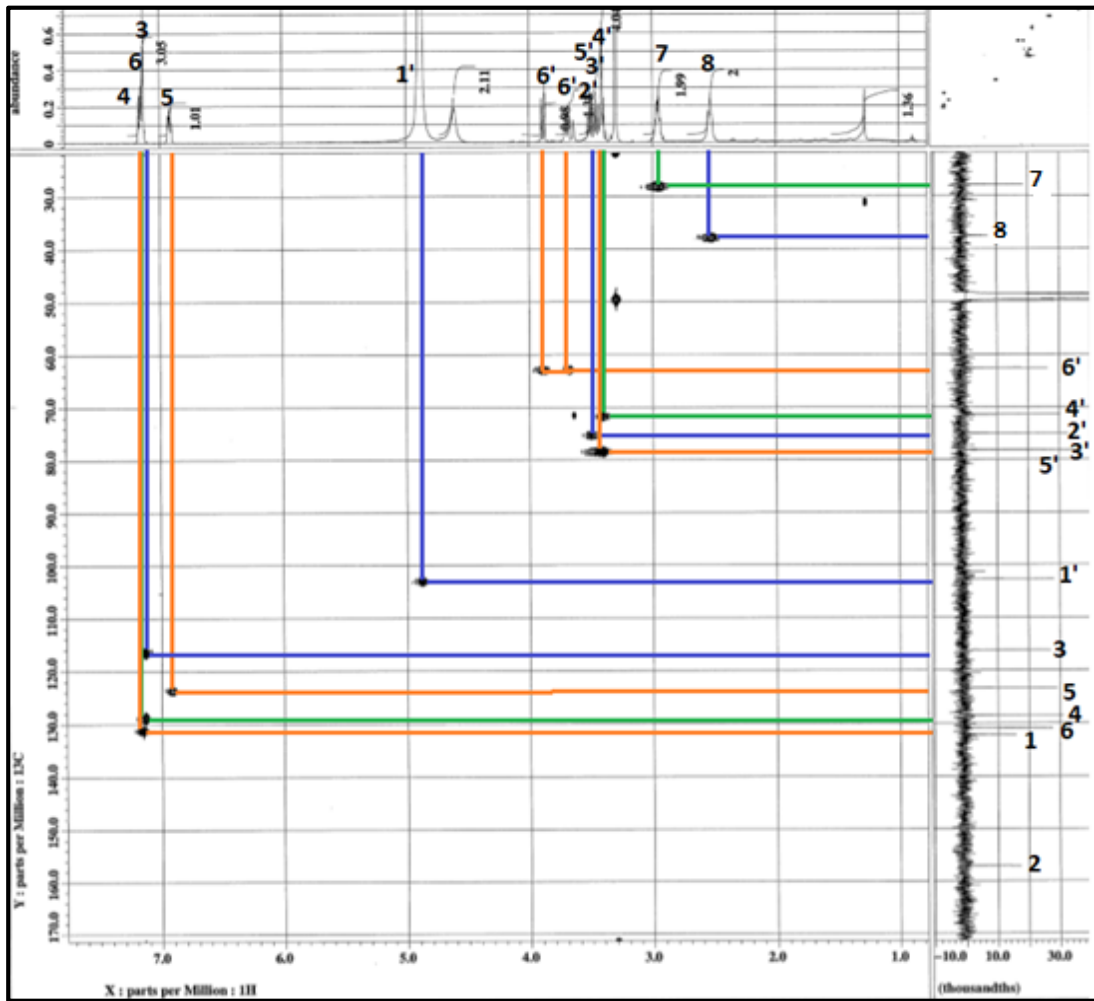
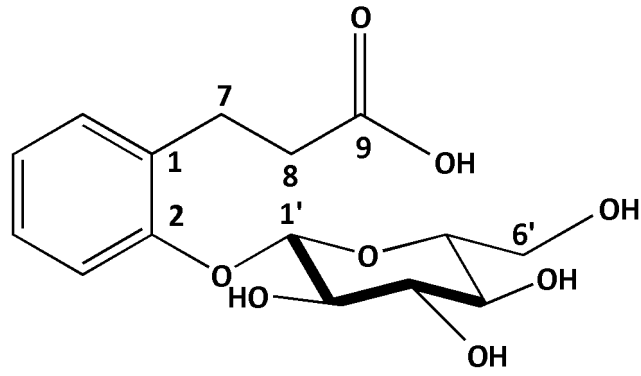
Şekil 4. 12. Dihidromelilotozit' in ^1H NMR pektümü (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)



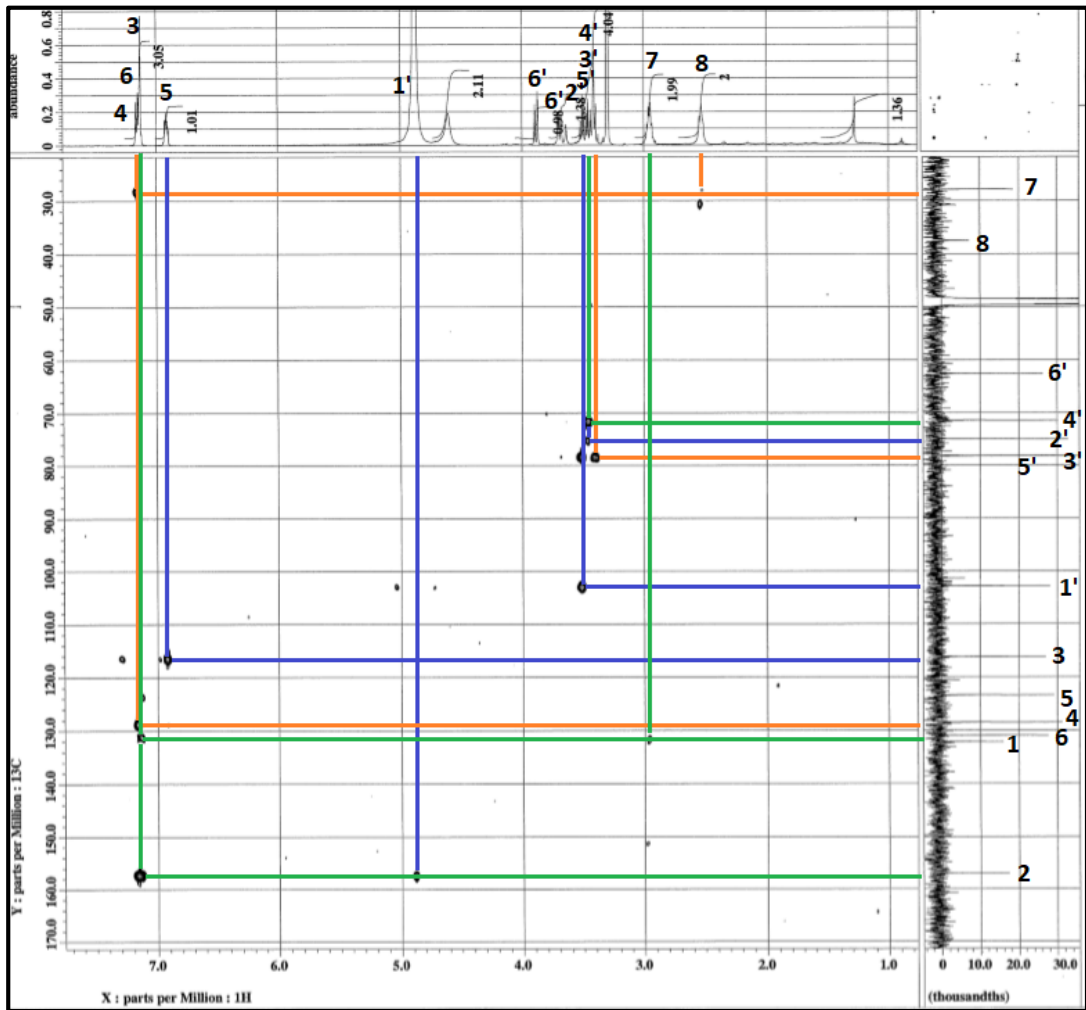
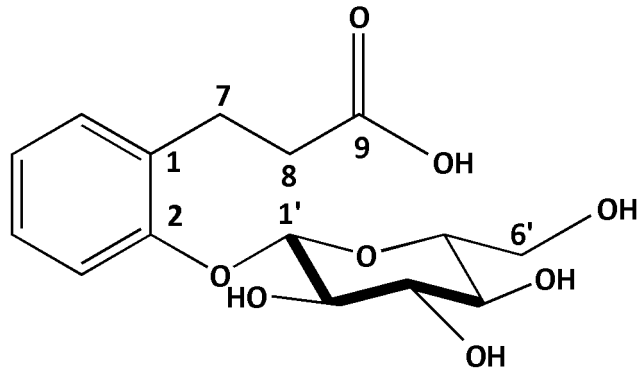
Şekil 4. 13. Dihydromelilotozite'in ^{13}C NMR ve DEPT spektrumları (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)



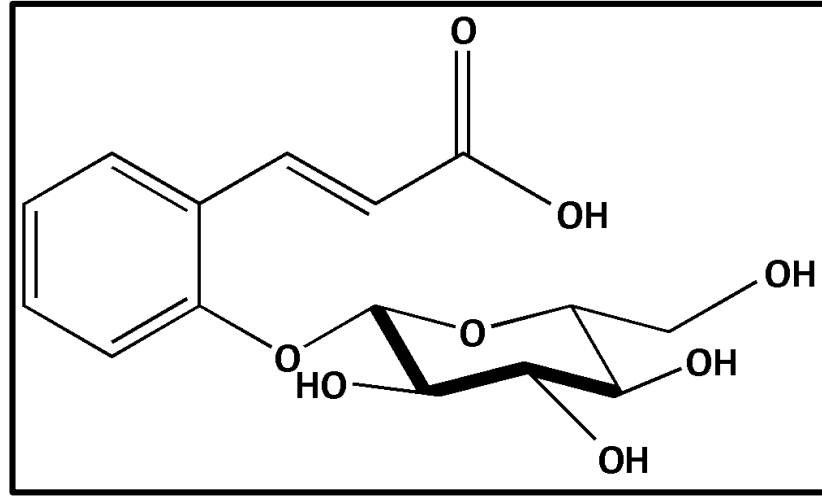
Şekil 4. 14. Dihydromelilotosit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)



Şekil 4. 15. Dihydromelitilozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)



Şekil 4. 16 . Dihydromelitilozit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)

Trans- MELİLOTOZİT

C₁₅H₁₈O₈ (Mol. Ağ. : 326.3)

UV λ_{maks} (MeOH) nm	275, 320
ESI-MS (m/z)	325.09 [M-H] ⁻
¹ H NMR	Tablo 4.4 Şekil 4.17, Şekil 4.18
¹³ C NMR ve DEPT	Tablo 4.4 Şekil 4.19
COSY	Şekil 4.20
HMQC	Şekil 4.21
HMBC	Şekil 4.22, Şekil 4.23

Trans- MELİLOTOZİT (PM-4)

2-O- β -glukopiranoziloksi-trans-sinnamik asit

PM-4 kodu verilen bileşik beyaz renkli amorf bir katı olarak izole edilmiştir. Bileşiğin İTK analizlerinde revelatör (vanilin/H₂SO₄) püskürtülmeden önce UV₂₅₄ nm'de silika jel plağın floresansını engellediği görülmüştür. Püskürtme işleminden sonra plak 105 °C' de 1-2 dakika ısıtıldığında önce çok kısa bir süre çok açık pembe renk almış sonra rengi hemen koyulaşarak kahverengiye dönüşmüştür.

¹³C NMR spektrumundaki 15 karbon sinyali ESI-kütle spektrumunda m/z 325.09' da gözlenen [M-H]⁻ iyon piki ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin C₁₅H₁₈O₈ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumunda (Şekil 4.17, Şekil 4.18), aromatik bölgede bulunan 4 metin proton sinyali [δ_H 7.02 (t, $J= 7.45$ Hz, H-5), 7.23 (d, $J= 8.6$ Hz, H-3), 7.31 (d, $J= 8.6$ Hz, H-4), 7.59 (d, $J= 8$ Hz, H-6) yapıda bir disüstitüe benzen halkasının varlığını göstermiştir (Tablo 4.4). 7.97 (2H, d, $J= 16.05$ Hz, H-7), 6.51 (2H, d, $J= 16.05$ Hz, H-8)' de 2 olefinik proton sinyali α , β - doymamış karbon zincirinin olduğunu işaret etmektedir. Olefinik protonların kenetlenme sabiti değeri ($J= 16.05$ Hz) *trans* izomer için karakteristiktir. Belirtilen tüm protonlara ait δ_C 116.8 (C-3), 132.0 (C-4), 123.5 (C-5), 128.3 (C-6), 138.5 (C-7), 123.5 (C-8), değerleri HMQC spektrumundan tespit edilmiş ve tüm değerler karbonile ait δ_C 174.5 değeri ile birlikte düşünüldüğünde yapıda fenil propenoik asit olduğu görülmüştür.

¹³C NMR spektrumunda 15 karbon sinyali gözlenmiştir. DEPT spektrumları incelendiğinde bu sinyallerin 2 katerner (δ_C 157.4, 126.0; C), 11 metin (δ_C 138.5, 132.0, 128.3, 123.5, 123.5, 116.8, 102.8, 78.2, 77.9, 74.9, 71.3; CH), 1 metilen (δ_C 62.5; CH₂), ve 1 karbonil (δ_C 174.5; C=O) karbonuna ait olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.19). Bu sinyallerden fenil propenoik asite ait olan 2 (C), 6 (CH) ve 1 karbonil sinyali çıkarıldığında geriye kalan sinyaller yapıda bir heksoz olabileceğini düşündürmüştür.

¹H ve ¹³C NMR spektrumlarında δ_H 4.90 (d, $J=8.6$ Hz, H-1') , δ_C 102.8(CH, C-1)'de görülen anomerik proton ve karbon sinyalleri yapıda bulunan ozu doğrulamıştır. Anomerik protonun kenetlenme sabiti ($J=8.6$ Hz) diğer oz sinyalleri ile

birlikte değerlendirildiğinde uzun β -glukoz olabileceğini düşündürmüştür. δ_C 62.5-78.3 ppm arasında gözlenen 5 karbon rezonansı ve δ_H 3.39-3.88 ppm arasında gözlenen proton sinyalleri yapıda bir glukoz varlığını doğrulamaktadır. COSY spektrumunda (Şekil 4.20) bu protonların birbirleri ile olan korelasyonları ve HMQC spektrumunda (Şekil 4.21) oz protonlarına karşılık gelen karbon rezonanslarının kesin olarak tespit edilmesi sonucu uzun β -glukoz olduğu kanıtlanmıştır.

HMBC spektrumunda (Şekil 4.22, Şekil 4.23) glukozun anomerik protonu (δ_H 4.90, H-1') ile aglikonun C-2 karbon atomu (δ_C 157.4) arasında gözlenen uzak mesafeli korelasyon, glukozun C-2 üzerinden bağlı olduğunu açıklamıştır.

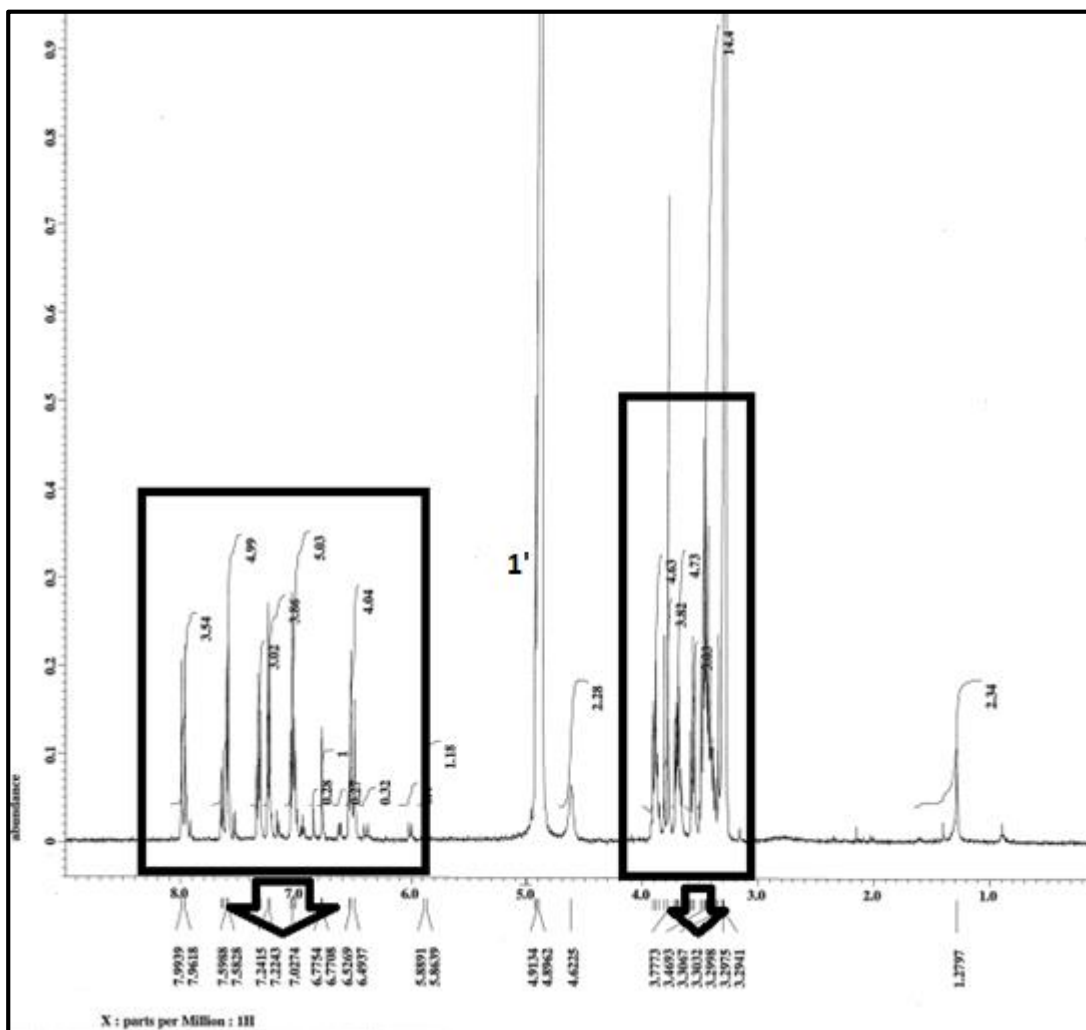
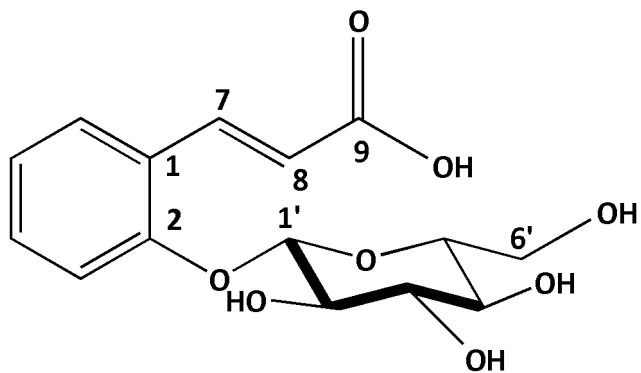
Tüm bu bulgular eşliğinde yapının **2-O- β -glukopiranoziloksi-trans-sinnamik asit** olduğu tespit edilmiştir. Bütün spektroskopik bulgular literatürlerde verilen değerlere uygun bulunmuştur(372). Yapılan literatür taramalarında *trans*-melilotozit' in daha önce *P. mahaleb*, *P. padus*' da tespit edildiği bildirilmiştir (74, 375).

Tablo 4. 4. *trans*- Melilotozit' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)

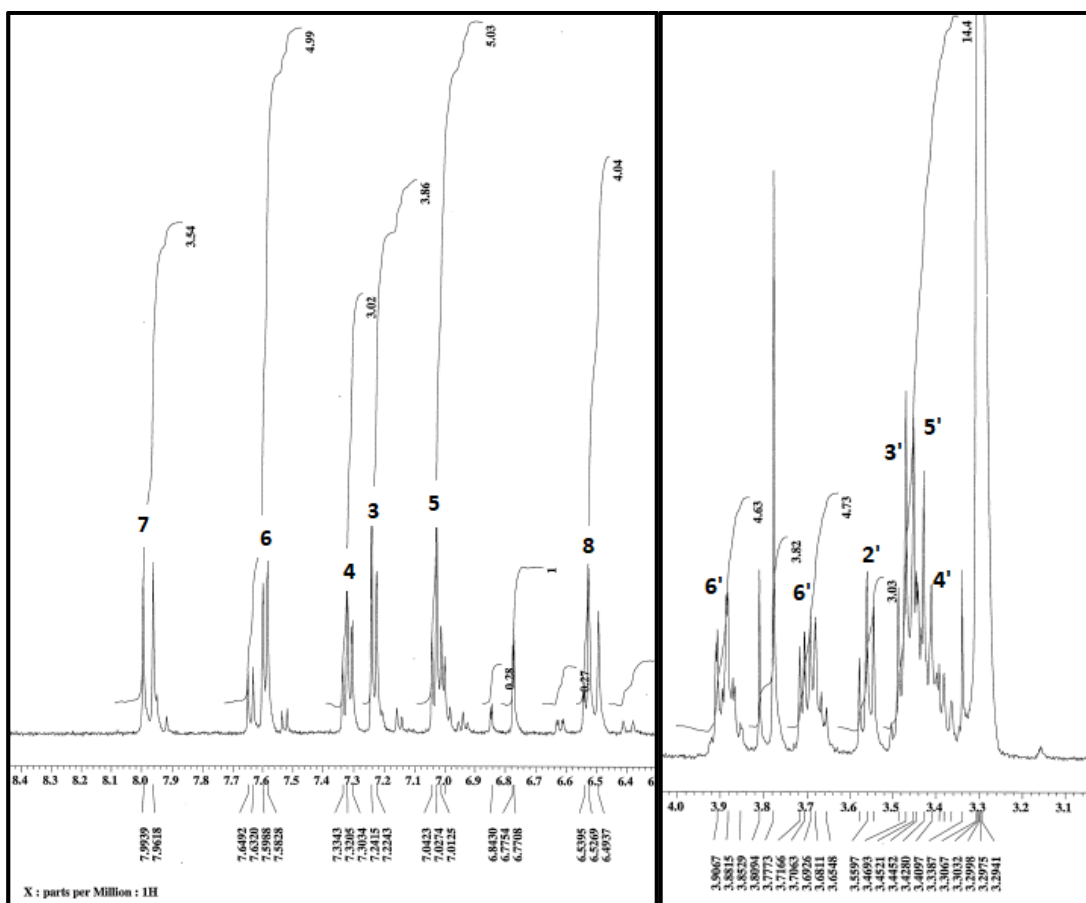
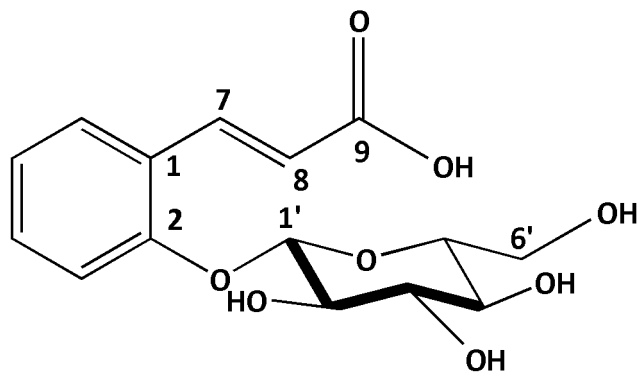
	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm	J (Hz)	HMBC (H \rightarrow C)
Aglikon					
1	C	126.0	-	-	
2	C	157.4	-	-	
3	CH	116.8	7.23 d	(8.6)	C-1, C-2, C-5
4	CH	132.0	7.31 d	(8.6)	C-2, C-6
5	CH	123.5	7.02 t	(7.45)	C-1, C-3
6	CH	128.3	7.59 d	(8)	C-2, C-4, C-7
7	CH	138.4	7.97 d	(16.05)	C-2, C-6, C-9
8	CH	123.5	6.51 d	(16.05)	C-1
9	C	174.5	-	-	
Glukoz					
1'	CH	102.8	4.90 d	(8.6)	C-2
2'	CH	74.9	3.55 dd	(9.2/8)	C-3'
3'	CH	77.9	3.48 t	(7.45)	C-5'
4'	CH	71.3	3.39 t		C-3', C-5'
5'	CH	78.2	3.46 m		C-3'
6'	CH ₂	62.5	3.88 d	(12.06)	
			3.69 dd	(12.06/6.85)	

*Rezonanslar 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) yardımı ile yorumlanmıştır.

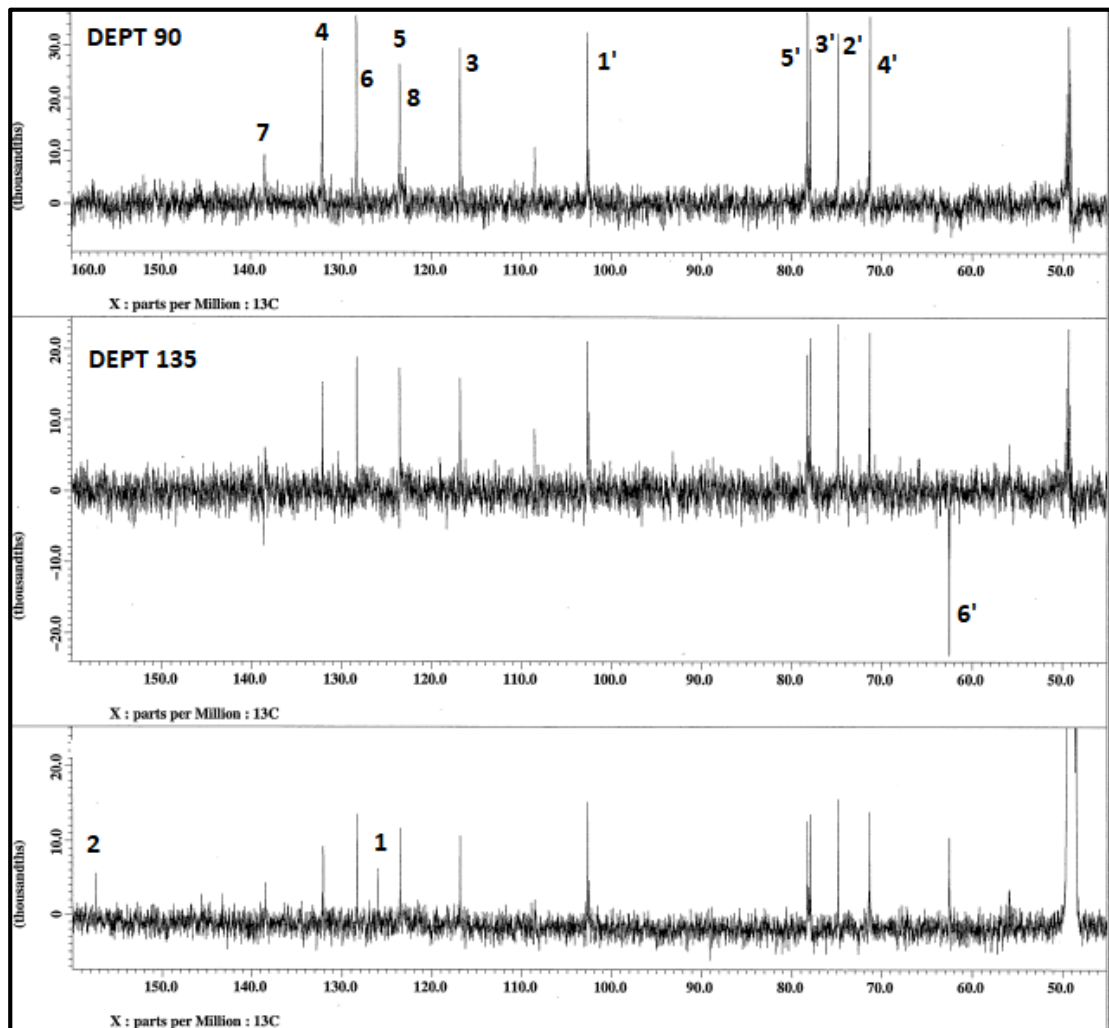
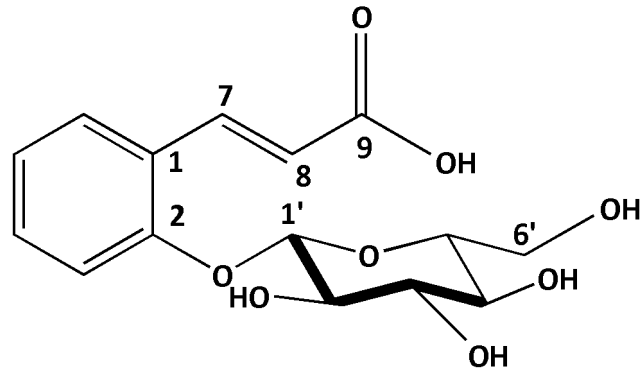
"t" Girişim nedeniyle hesaplanamamıştır.



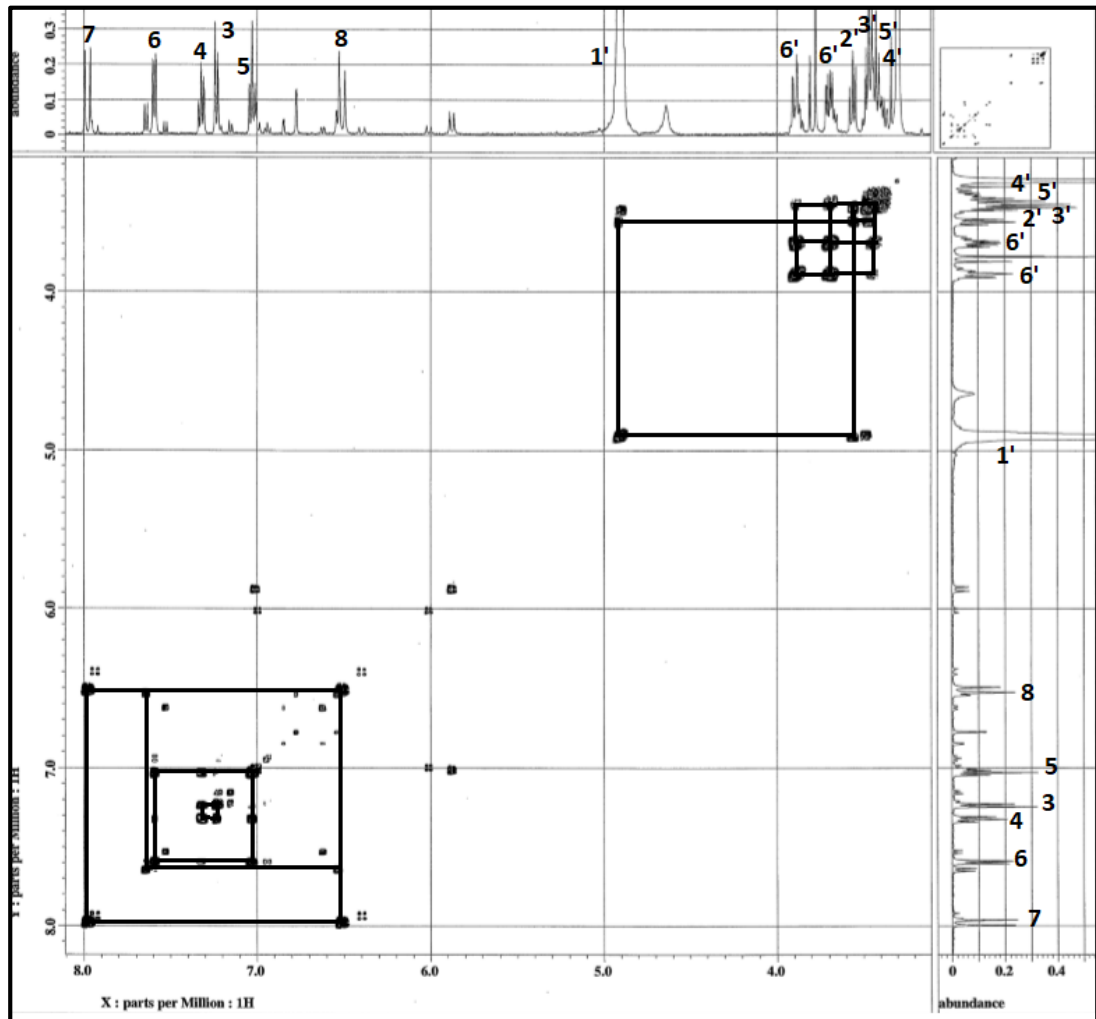
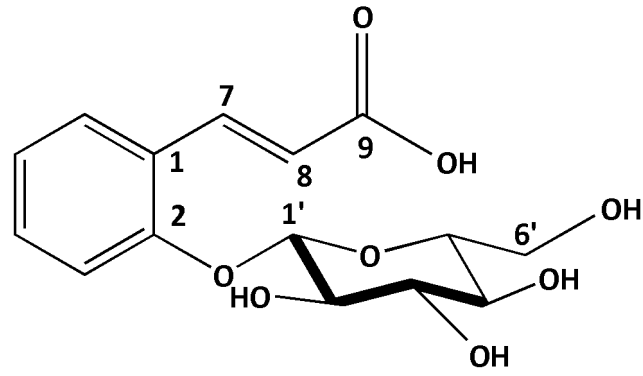
Şekil 4. 17 . *trans*-Melilotozit' in ^1H NMR spektrumu I (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)



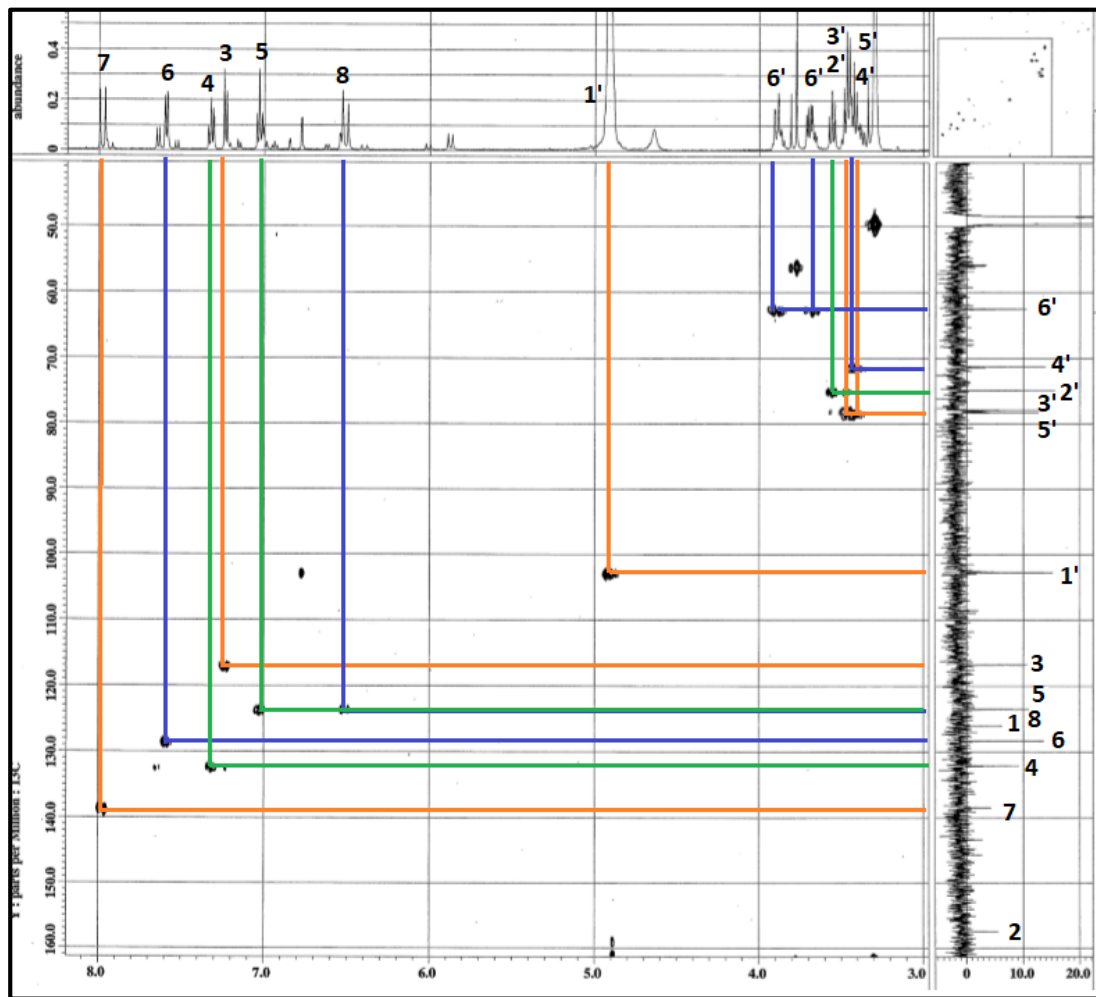
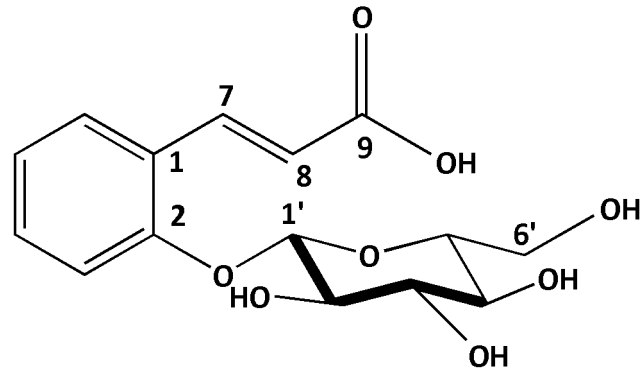
Şekil 4. 18. *trans*-Melilotozit' in ¹H NMR spektrumu II (CD₃OD, ¹H: 500 MHz)



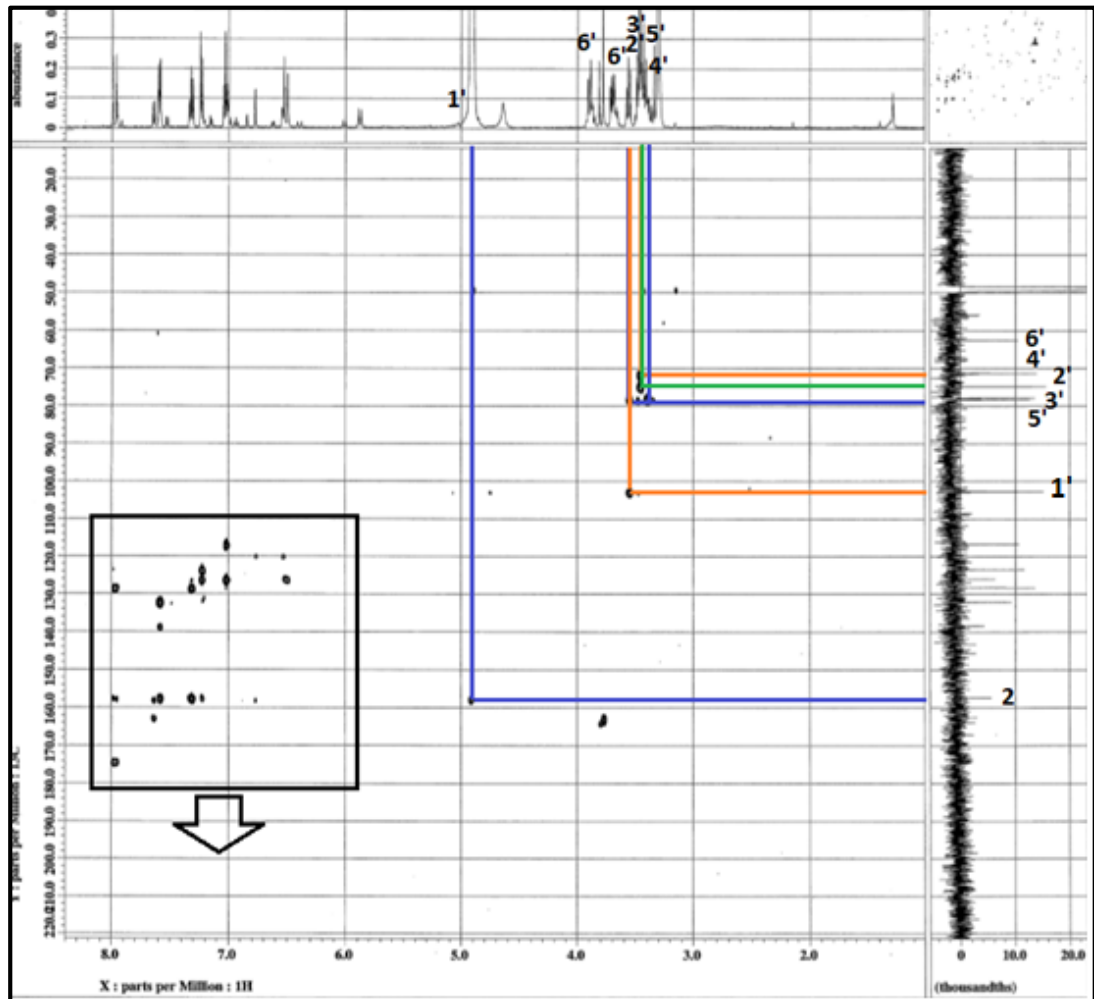
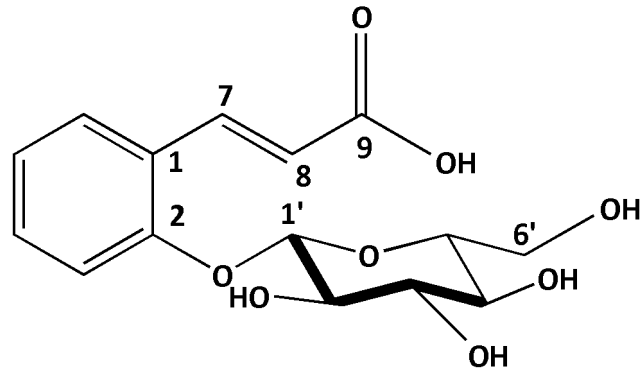
Şekil 4. 19. *trans*-Melilotozit'in ^{13}C NMR ve DEPT spektrumu (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)



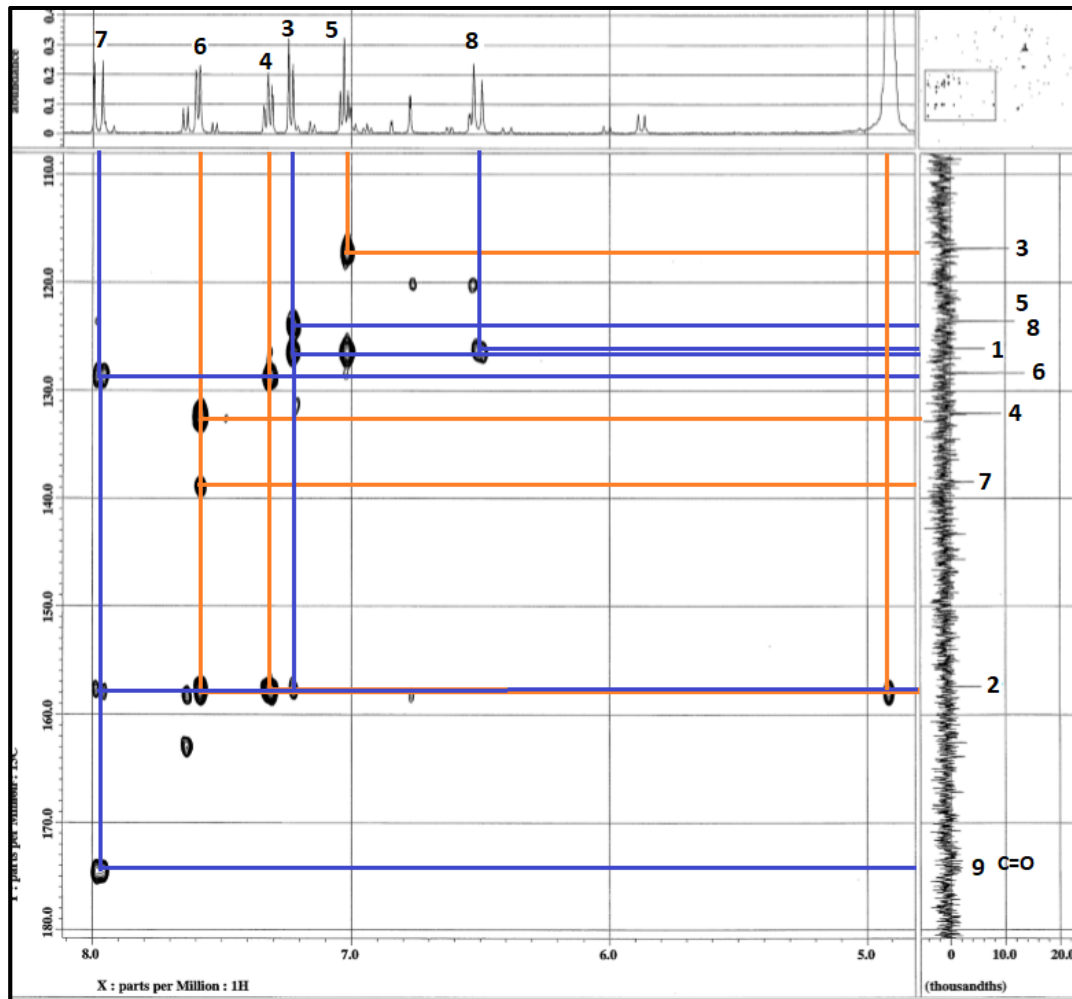
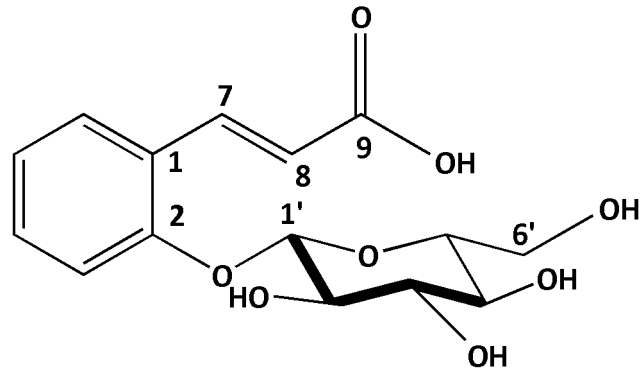
Şekil 4. 20. *trans*- Melilotozite'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)



Şekil 4. 21. *trans*- Melilotozid'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)

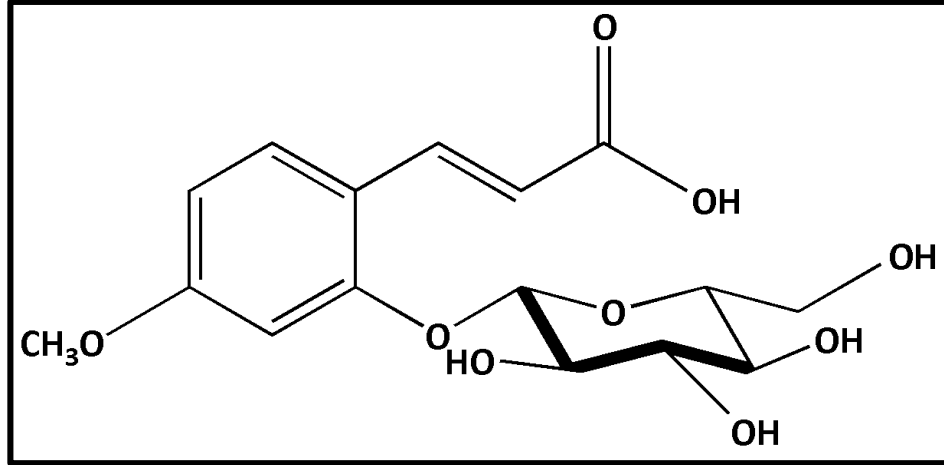


Şekil 4. 22. *trans*- Melilotozid'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu I (HMBC)



Şekil 4. 23. *trans*- Melilotozid'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu II (HMBC)

2-O- β -GLUKOZİLOKSİ-4-METOKSİ- *trans*-SİNNAMİK ASİT



C₁₆H₂₀O₉ (Mol. Ağ. : 356.3)

UV λ_{maks} (MeOH) nm	286, 320
ESI-MS (m/z)	355.10 [M-H] ⁻
¹ H NMR	Tablo 4.5 Şekil 4.24
¹³ C NMR ve DEPT	Tablo 4.5 Şekil 4.25
COSY	Şekil 4.26
HMQC	Şekil 4.27
HMBC	Şekil 4.28

2-O- β -GLUKOZİLOKSİ-4-METOKSİ *trans*-SİNNAMİK ASİT (PM-6)

PM-6 kodu verilen bileşik beyaz renkli amorf bir katı olarak izole edilmiştir. Bileşiğin İTK analizlerinde revelatör (vanilin/H₂SO₄) püskürtülmeden önce UV₂₅₄ nm'de silika jel plağın floresansını engellediği görülmüştür. Püskürtme işleminden sonra plak 105 °C' de 1-2 dakika ısıtıldığında önce pembe renk almış sonra rengi koyulaşarak açık kahverengiye dönüşmüştür.

¹³C NMR spektrumundaki 16 karbon sinyali ESI-kütle spektrumunda m/z 355'de gözlenen [M-H]⁻ iyon piki ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin C₁₆H₂₀O₉ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumunda δ_H 6.63-7.55 ppm arasında ABX sistem şeklinde gözlenen, 3 aromatik proton sinyali [δ_H 6.63 (dd, $J=8.6/2.3$ Hz, H-5), δ_H 6.84 (d, $J=2.3$ Hz, H-3), δ_H 7.55 (d, $J=8.6$ Hz, H-6)] yapıda bir trisüstitüe benzen halkasının varlığını göstermiştir (Tablo 4.5, Şekil 4.24). 8.02 (2H,d, $J= 16.0$ Hz, H-7), 6.4 (2H, d, $J= 16.0$ Hz, H-8)' de 2 olefinik proton sinyali α , β - doymamış karbon zincirinin olduğunu işaret etmektedir. Olefinik protonların kenetlenme sabiti değeri ($J= 16.0$ Hz) *trans* izomer için karakteristiktir. δ_H 3.81 ppm' de 3H şiddetinde singlet olarak gözlenen sinyal yapının metoksil grubu taşıdığını göstermiştir. Belirtilen tüm protanlara ait δ_C 102.6 (C-3), 109.9 (C-5), 126.9 (C-6), 141.1 (C-7), 116.9 (C-8), 56.0 (OCH₃) değerleri HMQC spektrumundan tespit edilmiştir. Bu değerler karbonile ait δ_C 172.0 ile beraber değerlendirildiğinde yapıda metoksibenzen propenoik asit olduğu görülmüştür.

¹³C NMR spektrumunda 16 karbon sinyali görülmüştür. DEPT spektrumları incelendiğinde bu sinyallerin 4 katerner (δ_C 164.3, 159.0, 118.0; C), 10 metin (δ_C 141.1, 129.9, 116.9, 109.9, 102.6, 102.5, 78.4, 78.1, 74.8, 71.4; CH), 1 metilen (δ_C 62.6 CH₂), 1 metoksil (δ_C 56.0; OCH₃) ve 1 karbonil (δ_C 172.0; C=O) karbonuna ait olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.25). Bu sinyallerden metoksibenzen propenoik asite ait olan 3 (C), 5 (CH), 1 (OCH₃), ve 1 karbonil sinyali çıkarıldığında geriye kalan sinyaller yapıda bir heksoz olabileceğini düşündürmüştür.

¹H ve ¹³C NMR spektrumlarında δ_H 4.95 (d, $J=7.45$ Hz, H-1') δ_C 102.5 (CH, C-1')'de görülen anomerik proton ve karbon sinyalleri yapıda bulunan ozu

doğrulamıştır. Anomerik protonun kenetlenme sabiti ($J=7.45\text{Hz}$) diğer oz sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde uzun β -glukoz olabileceğini düşündürmüştür. δ_c 62.6-78.5 ppm arasında gözlenen 5 karbon rezonansı ve δ_H 3.38-3.90 ppm arasında gözlenen proton sinyalleri yapıda bir glukoz varlığını doğrulamaktadır. COSY spektrumunda (Şekil 4. 26) bu protonların birbirleri ile olan korelasyonları ve HMQC spektrumunda (Şekil 4. 27) oz protonlarına karşılık gelen karbon rezonanslarının kesin olarak tespit edilmesi sonucu uzun β -glukoz olduğu kanıtlanmıştır.

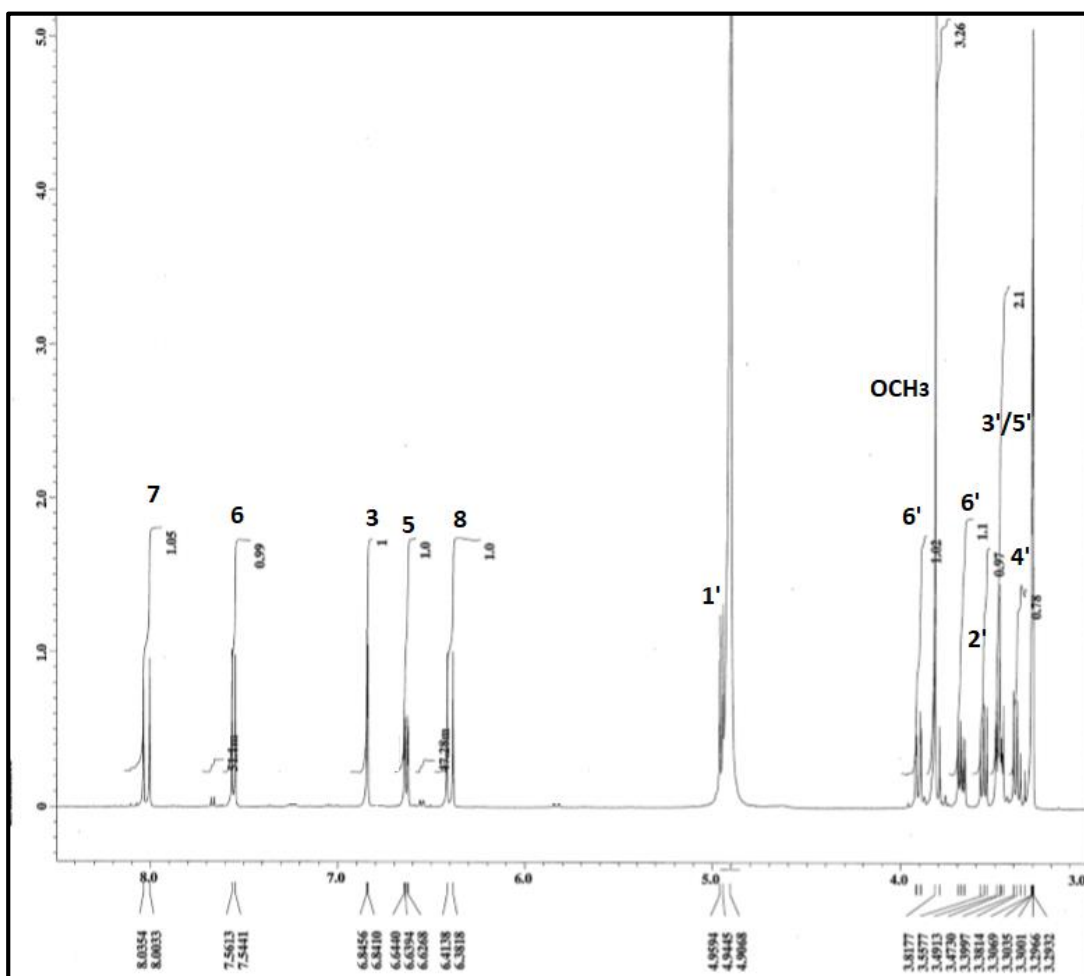
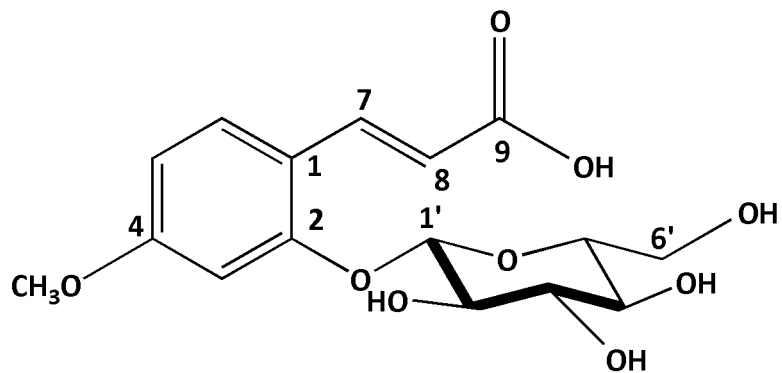
HMBC spektrumunda (Şekil 4. 28) glukozun anomerik protonu (δ_H 4.95, H-1') ile aglikonun C-2 karbon atomu (δ_c 159.0) arasında gözlenen uzak mesafeli korelasyon, glukozun C-2 üzerinden bağlı olduğunu açıklamıştır. Aynı şekilde metoksil grubuna ait proton (δ_H 3.81) ile C-4 karbon atomu (δ_c 164.3; C) arasında gözlenen uzak mesafeli korelasyon metoksil grubunun bağlantı noktasını göstermiştir.

Tüm bu bulgular eşliğinde yapının **2-O- β -glukoziloksi-4-metoksi *trans*-sinnamik asit** olduğu tespit edilmiştir. Bütün spektroskopik bulgular literatürlerde verilen değerlere uygun bulunmuştur (372). Yapılan literatür taraması sonucunda bu bileşiğin *Prunus* cinsinden ve cinsin ait olduğu familyadan daha önce izole edilmediği belirlenmiştir. *P. mahaleb'* den gerçekleştirdiğimiz izolasyon Rosaceae familyası için verilen ilk kayıttır.

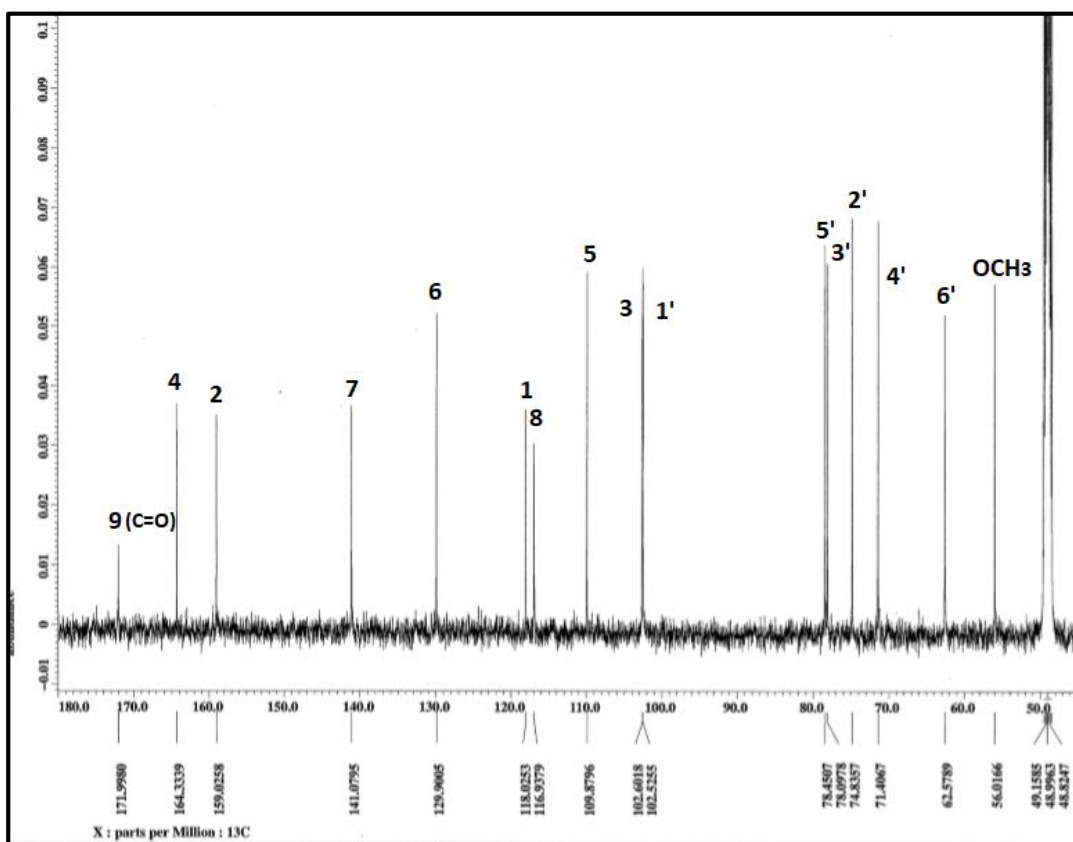
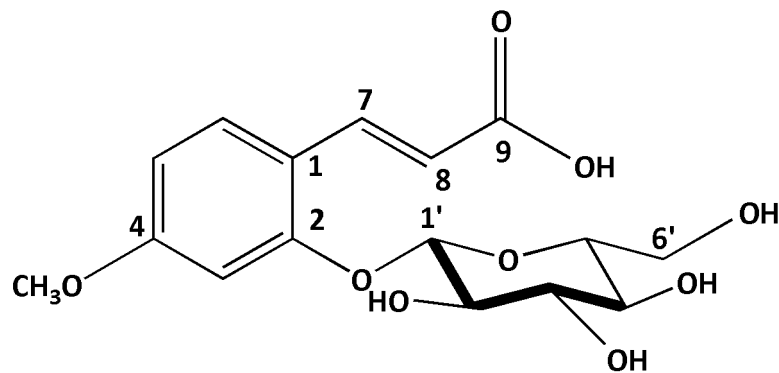
Tablo 4.5. 2-*O*- β -glukoziloksi-4-metoksi *trans*-sinnamik asit' in ^{13}C ve ^1H NMR Spektroskopik Değerleri* (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)

	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm	<i>J</i> (Hz)	HMBC (H \rightarrow C)
Aglikon					
1	C	118.0	-	-	-
2	C	159.0	-	-	-
3	CH	102.6	6.84 d	(2.3)	C-1, C-2, C-4, C-5
4	C	164.3	-	-	-
5	CH	109.9	6.63 dd	(8.6/2.3)	C-1, C-3
6	CH	129.9	7.55 d	(8.6)	C-2, C-4, C-7
7	CH	141.1	8.02 d	(16)	C-2, C-6, C-8, C-9
8	CH	116.9	6.4 d	(16)	C-1, C-9
9	C	172.0	-	-	-
4-OCH ₃		56.0	3.81 s	-	C-4
Glukoz					
1'	CH	102.5	4.95 d	(7.45)	C-2
2'	CH	74.8	3.55 dd	(9.5/7.5)	C-3'
3'	CH	78.1	3.48 t	(9.15)	C-2', C-4'
4'	CH	71.4	3.38 d	(9.15)	C-5'
5'	CH	78.5	3.46 m		C-4'
6'	CH ₂	62.6	3.90 dd	(12/1.7)	C-4'
			3.68 dd	(12/6.3)	

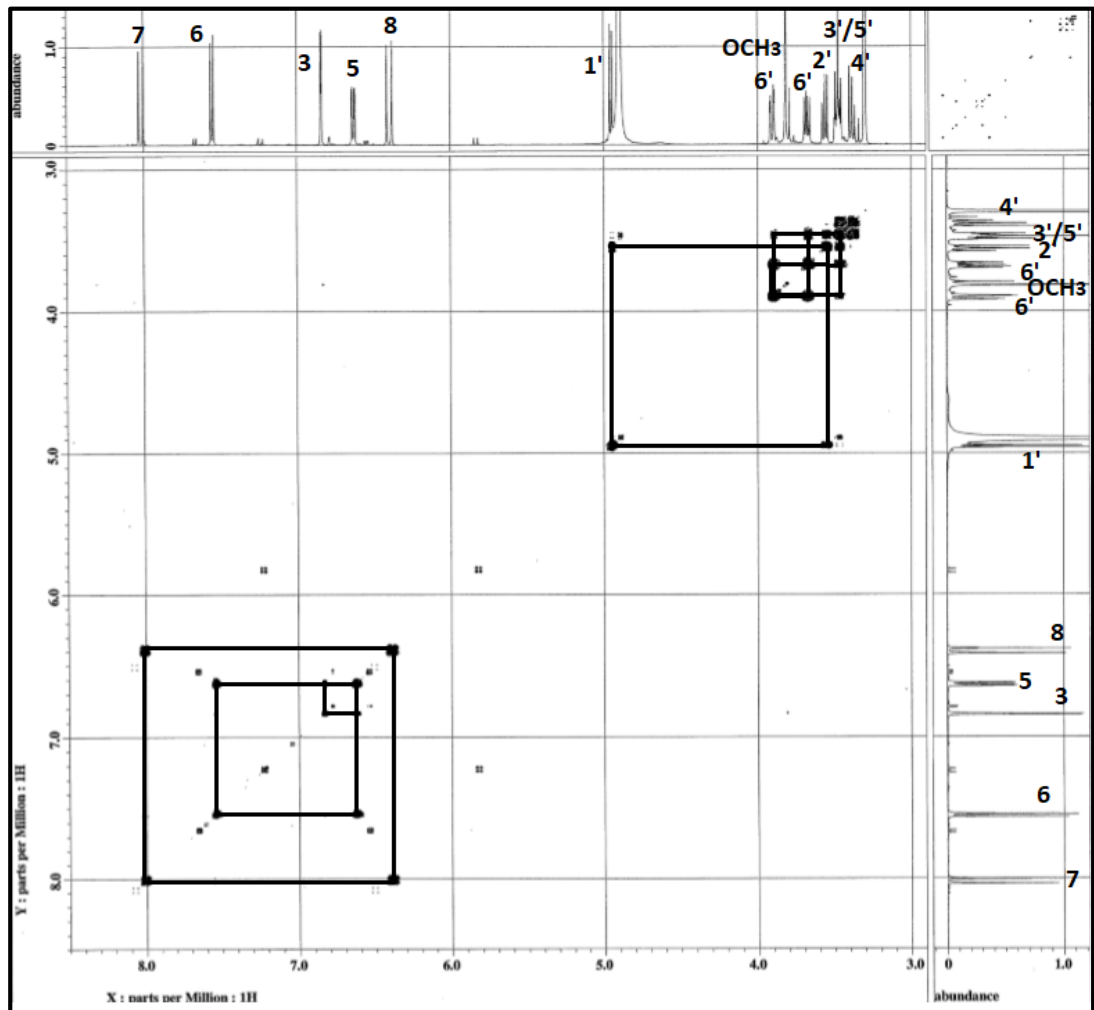
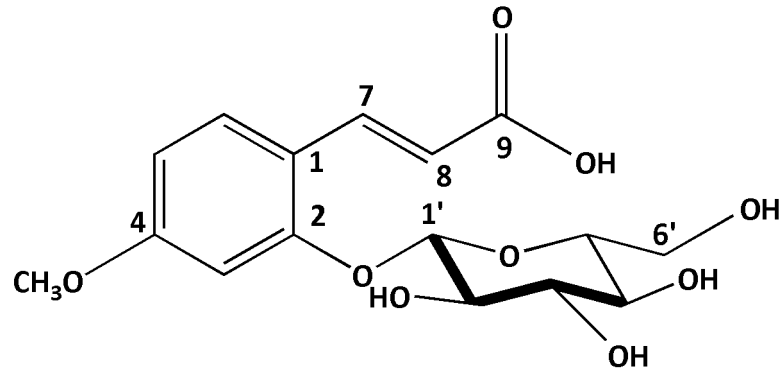
*Rezonanslar 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) yardımı ile yorumlanmıştır.



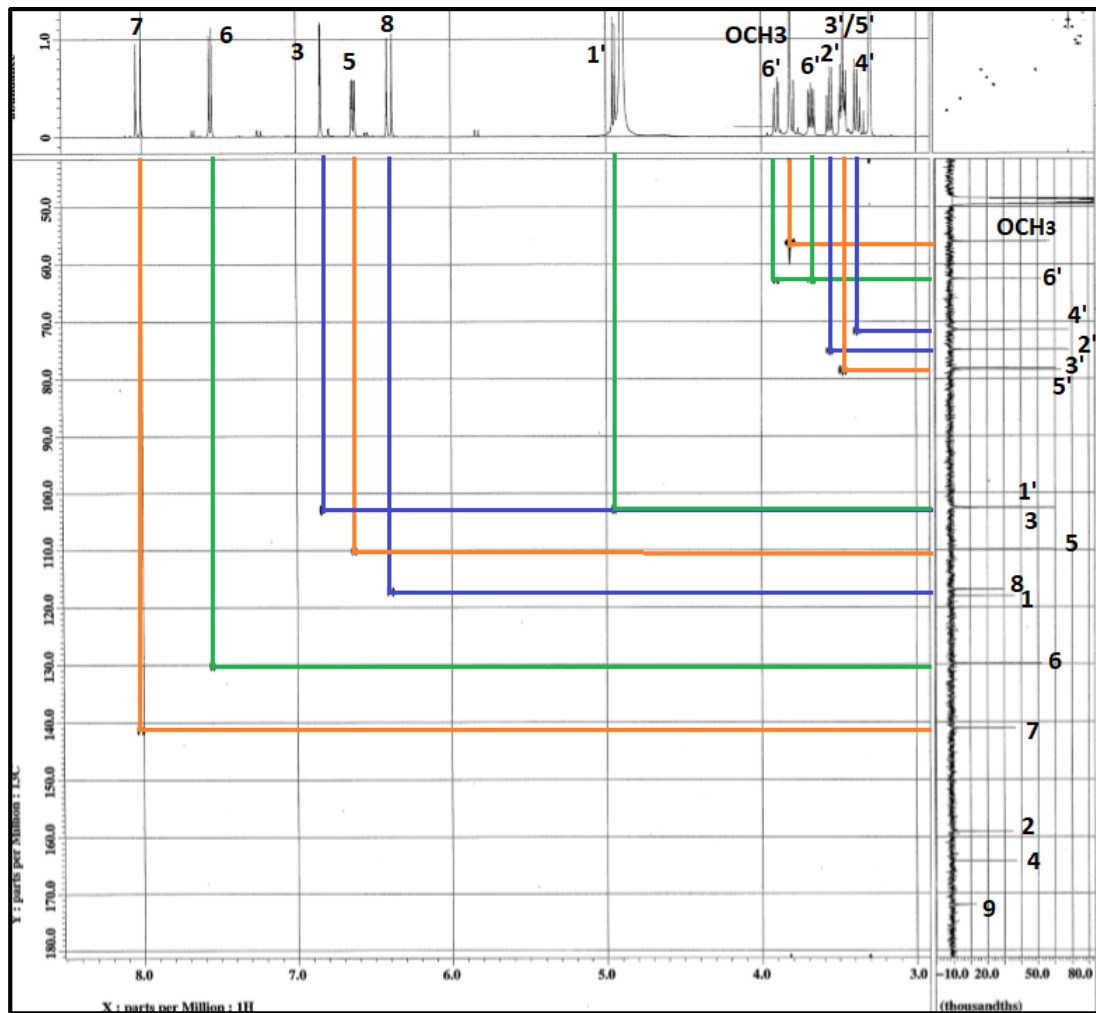
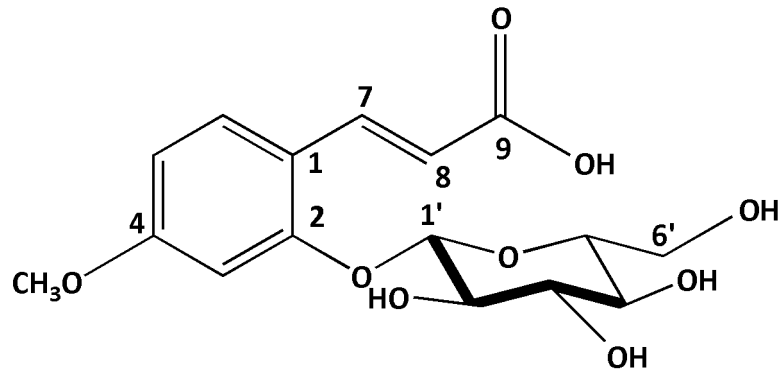
Şekil 4. 24. 2-O- β -glukoziloksi-4-metoksi *trans*-sinnamik asit'in ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)



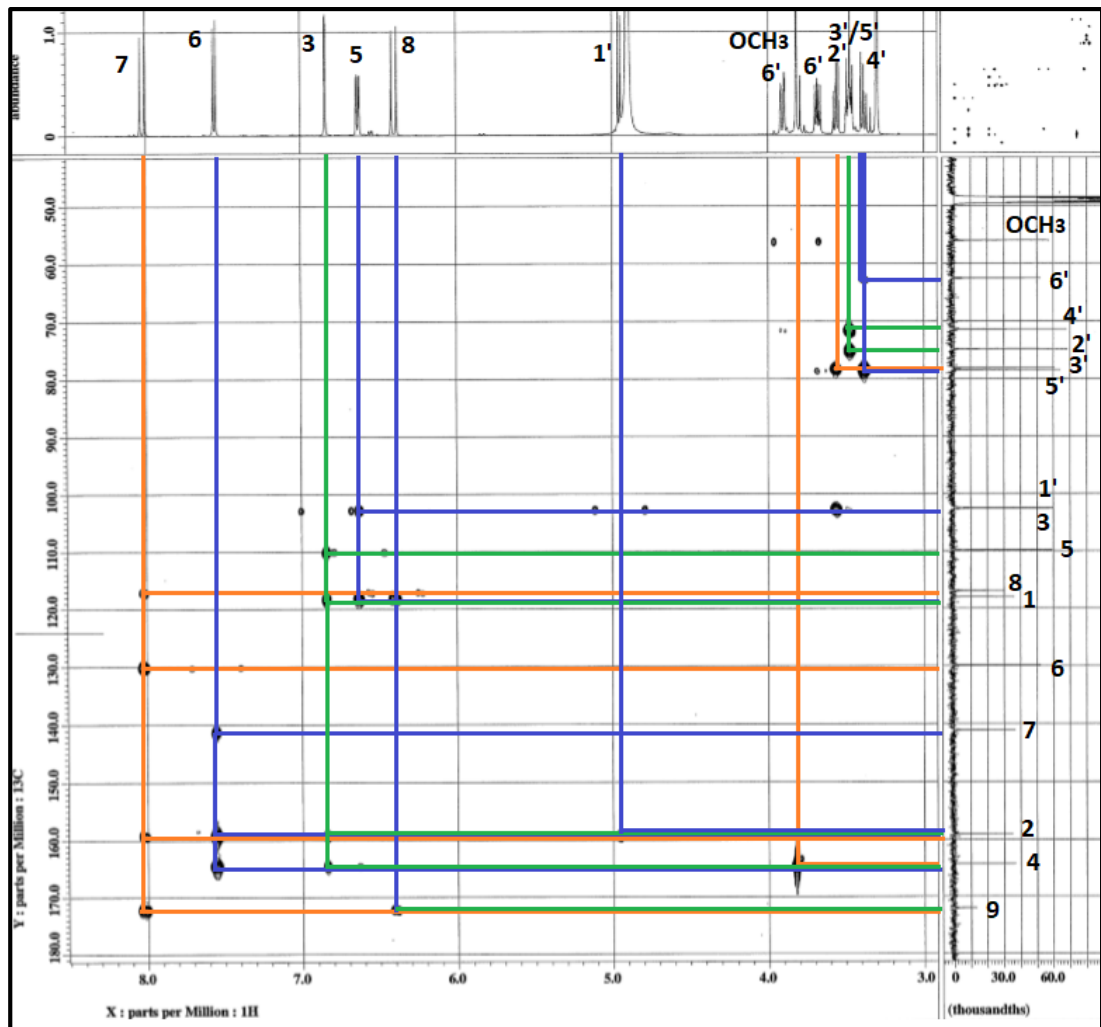
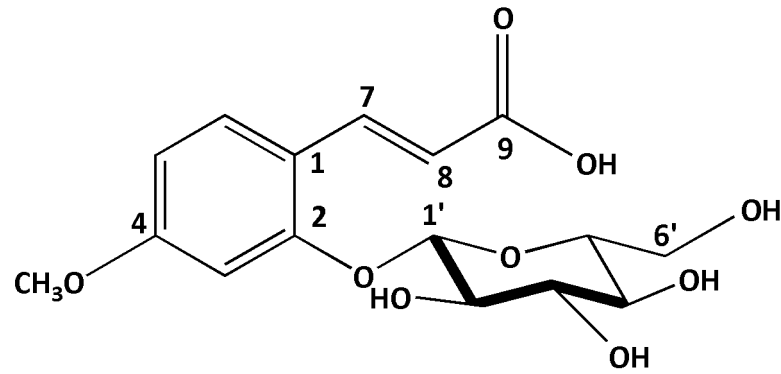
Şekil 4. 25. 2-O- β -glukoziloksi-4-metoksi *trans*-sinnamik asit'in ^{13}C NMR spektrumu (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)



Şekil 4. 26. 2-O- β -glukoziloksi-4-metoksi *trans*-sinnamik asit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)

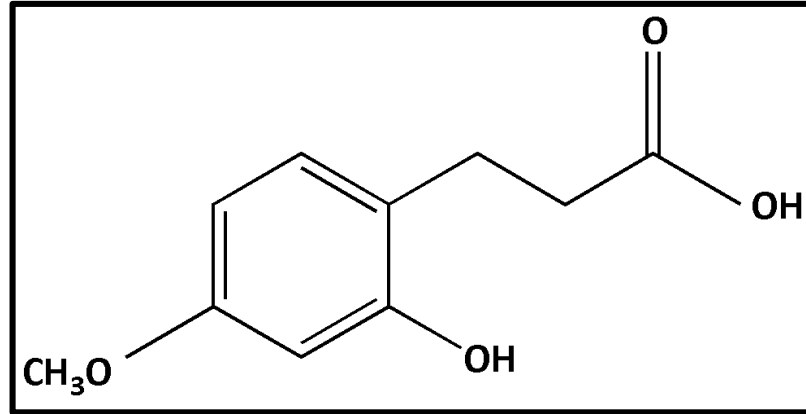


Şekil 4. 27. 2-O- β -glukoziloksi-4-metoksi *trans*-sinnamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)



Şekil 4. 28. 2-O- β -glukoziloksi-4-metoksi *trans*-sinnamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)

2- HİDROKSİ-4-METOKSİ HİDROSİNNAMİK ASİT



$C_{10}H_{12}O_4$ (Mol. Ağ. : 196.2)

UV λ_{maks} (MeOH) nm	
ESI-MS (m/z)	195 [M-H] ⁻
¹ H NMR	Tablo 4.6 Şekil 4.29
¹³ C NMR ve DEPT	Tablo 4.6 Şekil 4.30
COSY	Şekil 4.31
HMQC	Şekil 4.32
HMBC	Şekil 4.33

2- HİDROKSİ-4-METOKSİ HİDROSİNNAMİK ASİT (PM-15)

PM-15 kodu verilen bileşik beyaz renkli amorf bir katı olarak izole edilmiştir. Bileşiğin İTK analizlerinde revelatör (vanilin/H₂SO₄) püskürtülmeden önce UV₂₅₄ nm'de silika jel plağın floresansını engellediği görülmüştür. Püskürtme işleminden sonra plak 105 °C' de 1-2 dakika ısıtıldığında belirgin pembe renk almıştır.

¹³C NMR spektrumundaki 10 karbon sinyali ESI-kütle spektrumunda m/z 195' de gözlenen [M-H]⁻ iyon piki ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin C₁₀H₁₂O₄ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumunda δ_H 6.30-6.95 ppm arasında ABX sistem şeklinde gözlenen, 3 aromatik proton sinyali [δ_H 6.30 (dd, J=8.5/2 Hz, H-5), δ_H 6.33 (d, J=2 Hz, H-3), δ_H 6.95 (d, J=8.5 Hz, H-6)] yapıda bir trisüstitüe benzen halkasının varlığını göstermiştir (Tablo 4.6, Şekil 4.29). δ_H 2.56 (t, J=7.45 Hz, H-8) ve δ_H 2.87 (t, J=7.45 Hz, H-7) ppm'de 2H şiddetindeki protonlar benzen halkasına bağlı yan zincirin olduğunu işaret etmektedir. δ_H 3.70 ppm' de 3H şiddetinde singlet olarak gözlenen sinyal yapının metoksil grubu taşıdığını göstermiştir. Belirtilen tüm protanlara ait δ_C 102.5 (C-3), 105.6 (C-5), 131.4 (C-6), 26.6 (C-7), 36.1 (C-8), 55.3 (-OCH₃) değerleri HMQC spektrumundan tespit edilmiştir (Şekil 4.32).

¹H ve ¹³C NMR spektrumlarında anomerik proton ve karbon sinyallerine ait herhangi bir sinyal olmaması yapıya bağlı bir oz olmadığını işaret etmiştir.

¹³C NMR spektrumunda (Şekil 4.30) 10 karbon sinyali görülmüştür. DEPT spektrumları incelendiğinde bu sinyallerin 3 katerner (δ_C 160.7, 157.2, 121.1; C), 8 metin (δ_C 131.4, 105.6, 102.5; CH), 2 metilen (δ_C 36.1, 26.6; CH₂), 1 metoksil (δ_C 55.3; OCH₃) ve 1 karbonil (δ_C 178.4; C=O) karbonuna ait olduğu anlaşılmıştır. δ_C 157.2 ppm' de görülen karbon sinyalinin düşük alana kaymış olması ve katerner oluşu, yapıya bağlı bir oz ünitesinin olmaması da göz önünde bulundurulduğunda bu karbona bir hidroksilin bağlı olduğunu düşündürmüştür.

Tüm bu veriler karbonile ait δ_c 178.4 değeri ile birlikte düşünüldüğünde yapıda hidroksi, metoksifenil propanoik asit olduğu görülmüştür.

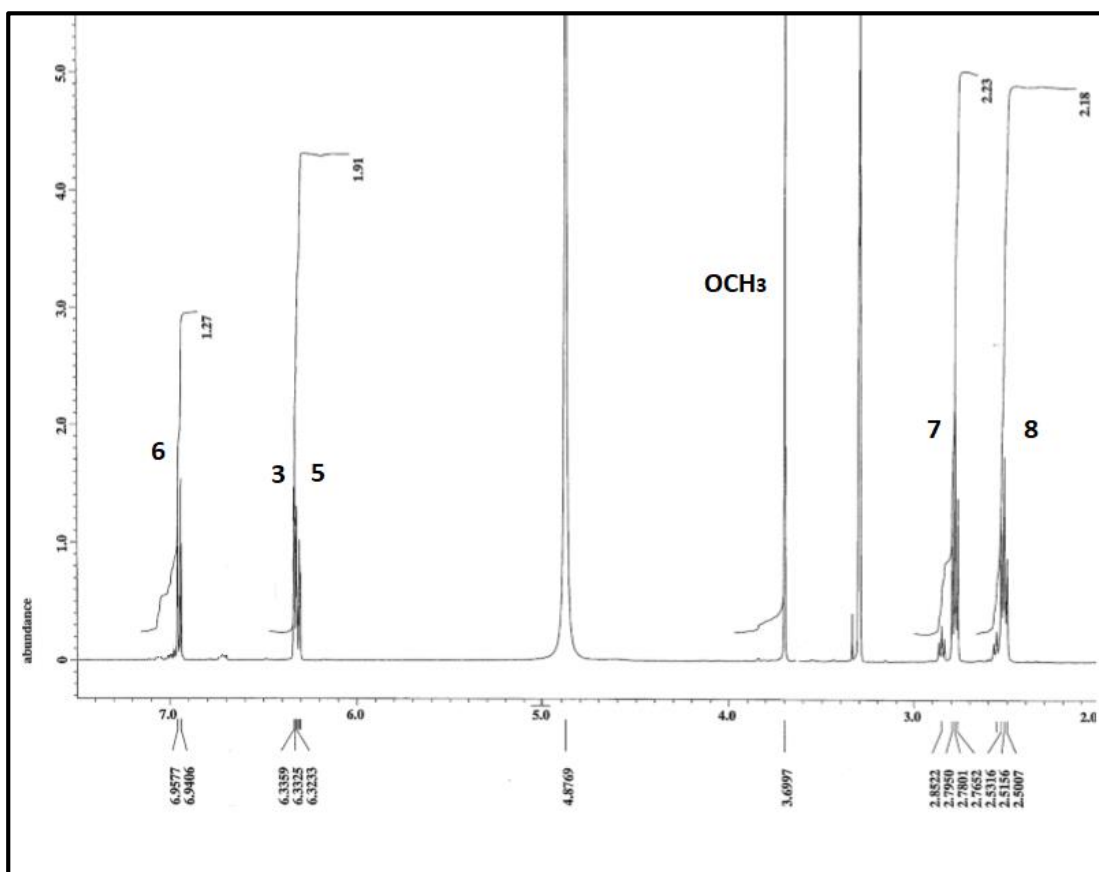
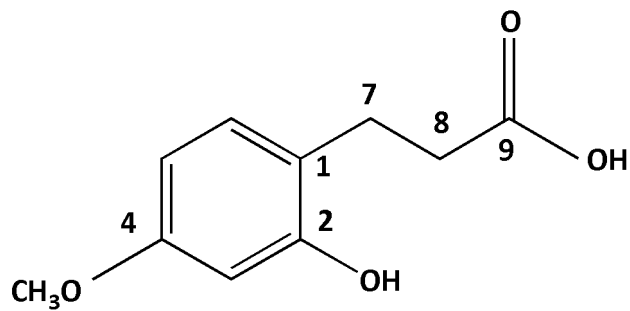
HMBC spektrumunda (Şekil 4.33) metoksil grubuna ait proton (δ_H 3.7 ppm) ile C-4 karbon atomu (δ_c 160.7; C) arasında gözlenen uzak mesafeli korelasyon metoksil grubunun bağlantı noktasını göstermiştir.

Tüm bu bulgular eşliğinde yapının **2-hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit** olduğu tespit edilmiştir. Bileşik çalışmamız sırasında doğadan ilk kez izole edilerek, yapısı ileri analiz yöntemleri ile aydınlatılmıştır.

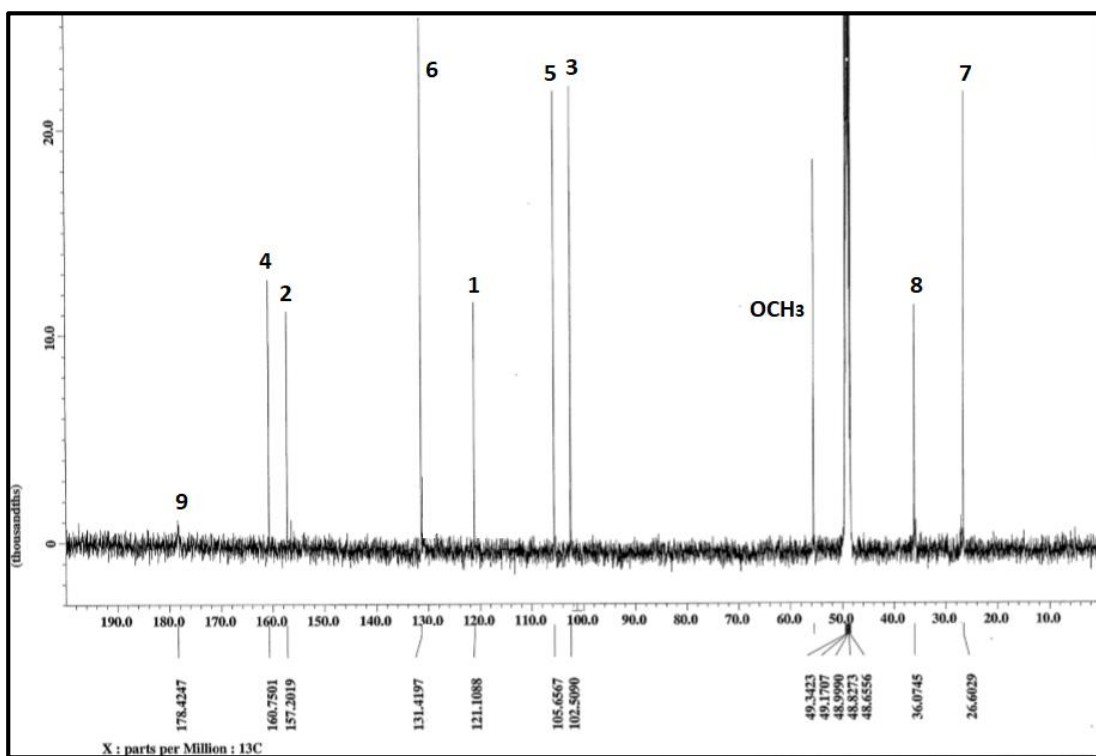
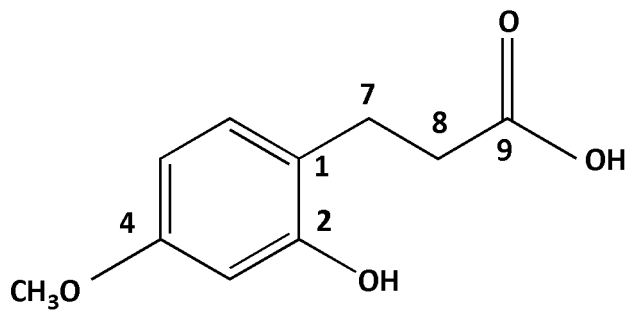
Tablo 4.6. 2-hidroksi-4-metoksi hidrosinamik asit in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)

	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm	J (Hz)	HMBC (H→C)
1	C	121.1			
2	C	157.2			
3	CH	102.5	6.33 d	(2)	C-1, C-5
4	C	160.7			
5	CH	105.6	6.3 dd	(8.5/2)	C-3
6	CH	131.4	6.95 d	(8.5)	C-2, C-4, C-7
7	CH_2	26.6	2.87 t	(7.45)	C-1, C-2, C-6, C-9
8	CH_2	36.1	2.56 t	(7.45)	C-7, C-9
9	C	178.4			
4-OCH ₃		55.3	3.7 s		C-4

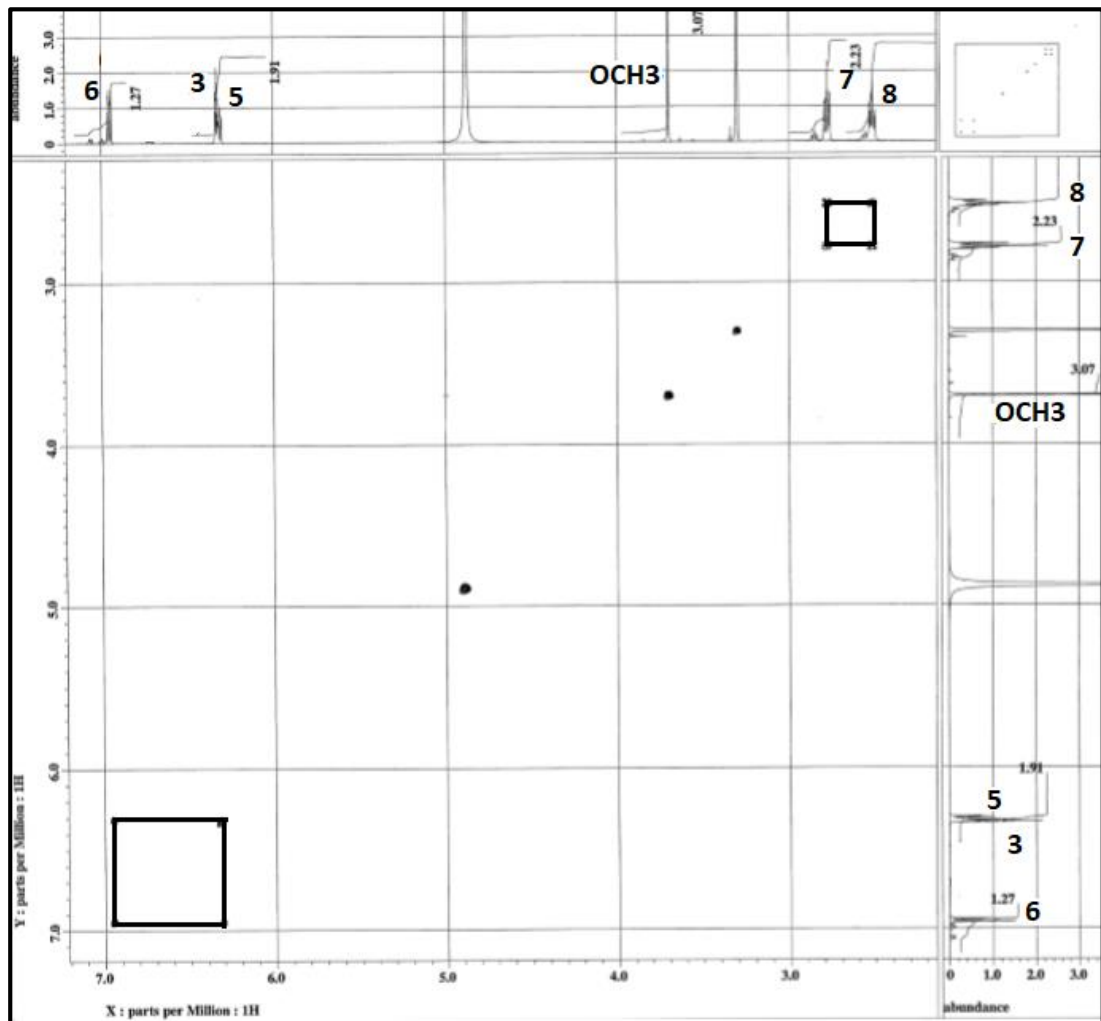
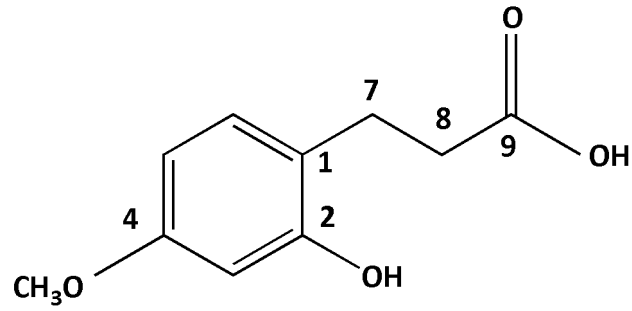
*Rezonanslar 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) yardımı ile yorumlanmıştır.



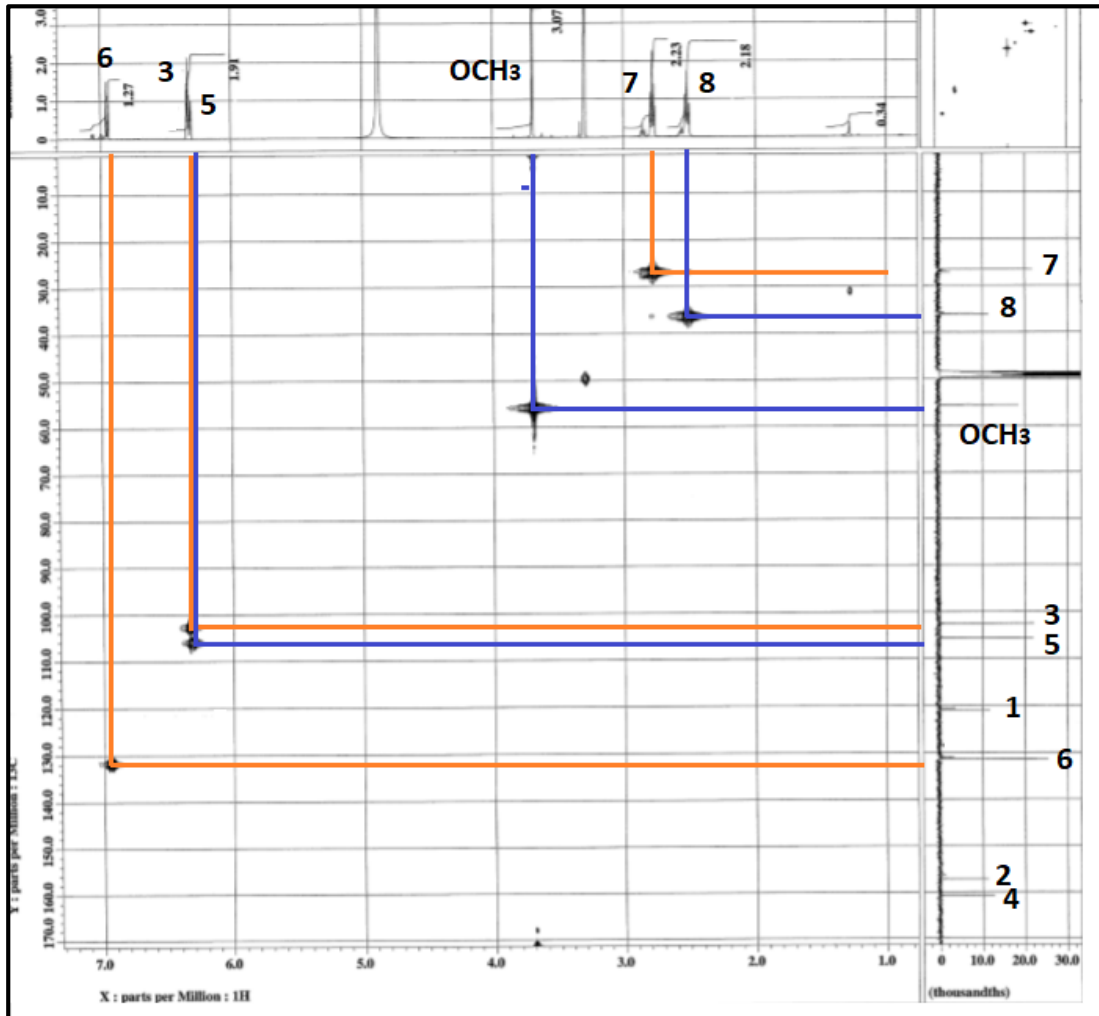
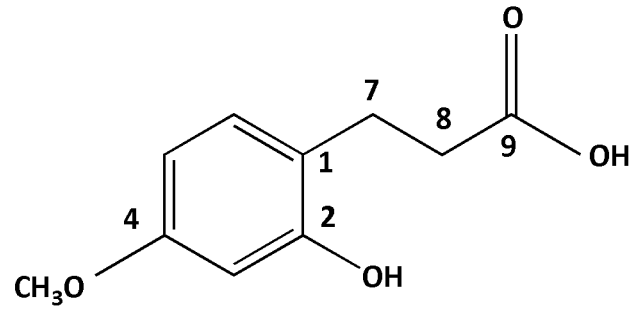
Şekil 4. 29. 2-hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)



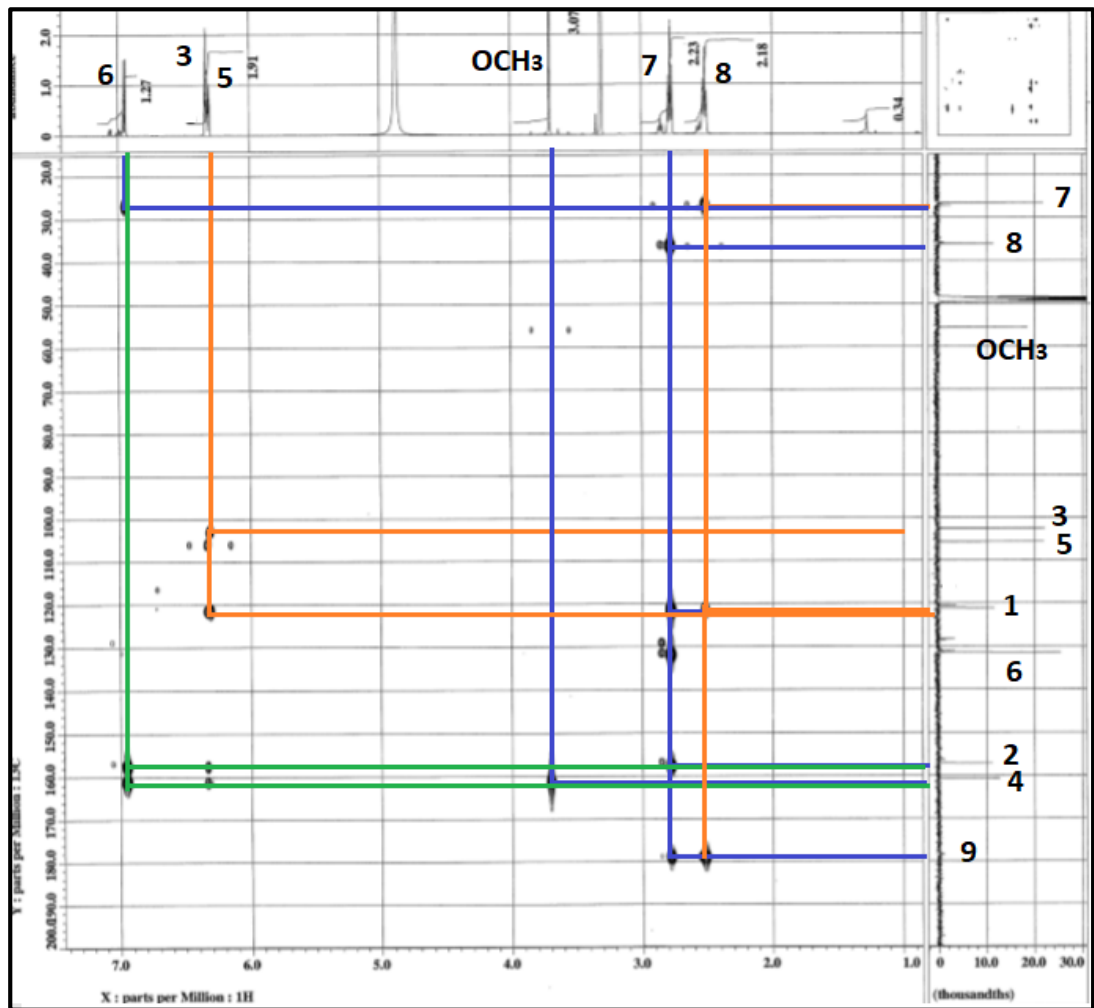
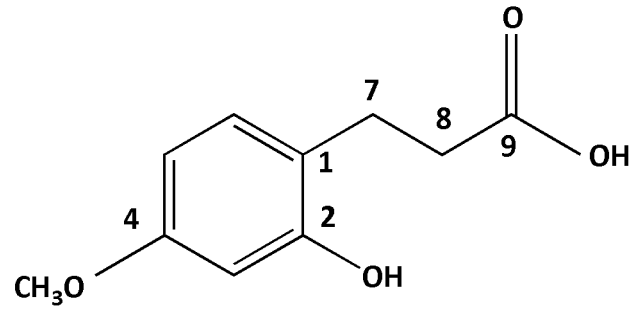
Şekil 4. 30. 2-hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in ¹³C NMR spektrumu (CD₃OD, ¹³C: 125 MHz)



Şekil 4. 31. 2-hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)



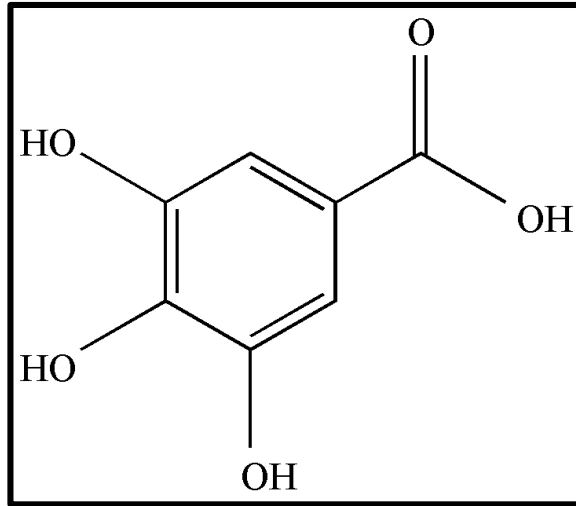
Şekil 4. 32. 2-Hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)



Şekil 4. 33. 2- Hidroksi-4-metoksi hidrosinnamik asit'in 2D ¹H, ¹³C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)

FENOLİK ASİT YAPISINDAKİ BİLEŞİK

GALLİK ASİT



$C_7H_6O_5$ (Mol. Ağ. : 170)

UV λ_{maks} (MeOH) nm	270
ESI-MS (m/z)	169 [M-H] ⁻
¹ H NMR	Tablo 4.7 Şekil 4.34
¹³ C NMR ve DEPT	Tablo 4.7 Şekil 4.35

GALLİK ASİT (PM-12)

PM-12 kodu verilen bileşik beyaz renkli amorf bir katı olarak izole edilmiştir. Bileşiğin İTK analizlerinde revelatör (vanilin/H₂SO₄) püskürtülmeden önce UV₂₅₄ nm'de silika jel plağın floresansını engellediği görülmüştür. Püskürtme işleminden sonra plak 105 °C' de 1-2 dakika ısıtıldığında çok açık pembe renk almıştır.

¹³C NMR spektrumundaki 7 karbon sinyali ESI-kütle spektrumunda m/z 169' da gözlenen [M-H]⁻ iyon piki ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin C₇H₆O₅ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumunda δ_H 7.21 ppm gözlenen, 2H şiddetindeki aromatik proton sinyali yapıda 4 farklı yerden süstitüe bir benzen halkasının varlığını göstermiştir (Tablo 4.7, Şekil 4.34). Aynı yerde üst üste gözlenen proton sinyalleri de süstitüe olmayan karbona ait protonların birbirlerine simetrik olduğunu göstermiştir.

¹H ve ¹³C NMR spektrumlarında anomerik proton ve karbon sinyallerine ait herhangi bir sinyal olmaması yapıya bağlı bir oz olmadığını işaret etmiştir.

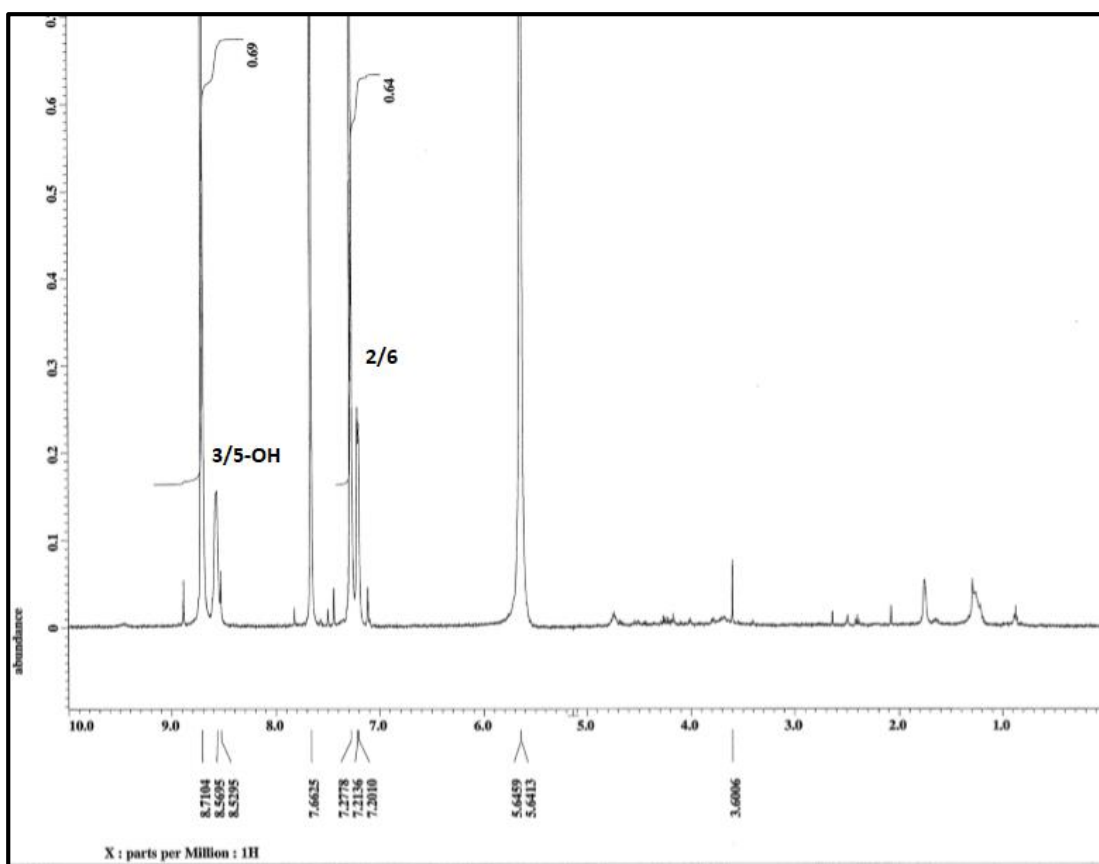
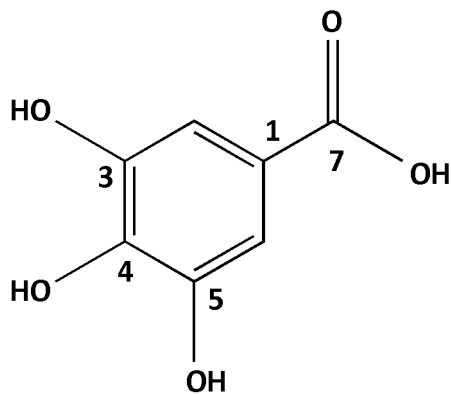
¹³C NMR spektrumunda 7 karbon sinyali görülmüştür. DEPT spektrumları incelendiğinde bu sinyallerin 4 katerner (δ_C, 160.6, 154.5, 131.8; C), 2 metin (δ_C 114.6; CH) ve 1 karbonil (δ_C 172.0; C=O) karbonuna ait olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.35). Katerner karbon sinyallerinin düşük alana kaymış olması bu karbonlara -OH bağlı olduğunu düşündürmüştür. ¹H NMR spektrumunda hidrosillere ait δ_H 8.54 ppm' de görülen geniş proton sinyalleri bu düşünceyi doğrulamıştır.

Tüm bu spektroskopik bulgular, standart İTK'si ve literatür bilgieri ile kıyaslandığında yapının gallik asit olduğu tespit edilmiştir (376). Yapılan literatür taramalarında bu bileşiğin daha önce *P. mahaleb* de dahil birçok *Prunus* türünde tespit edildiği bildirilmiştir (111).

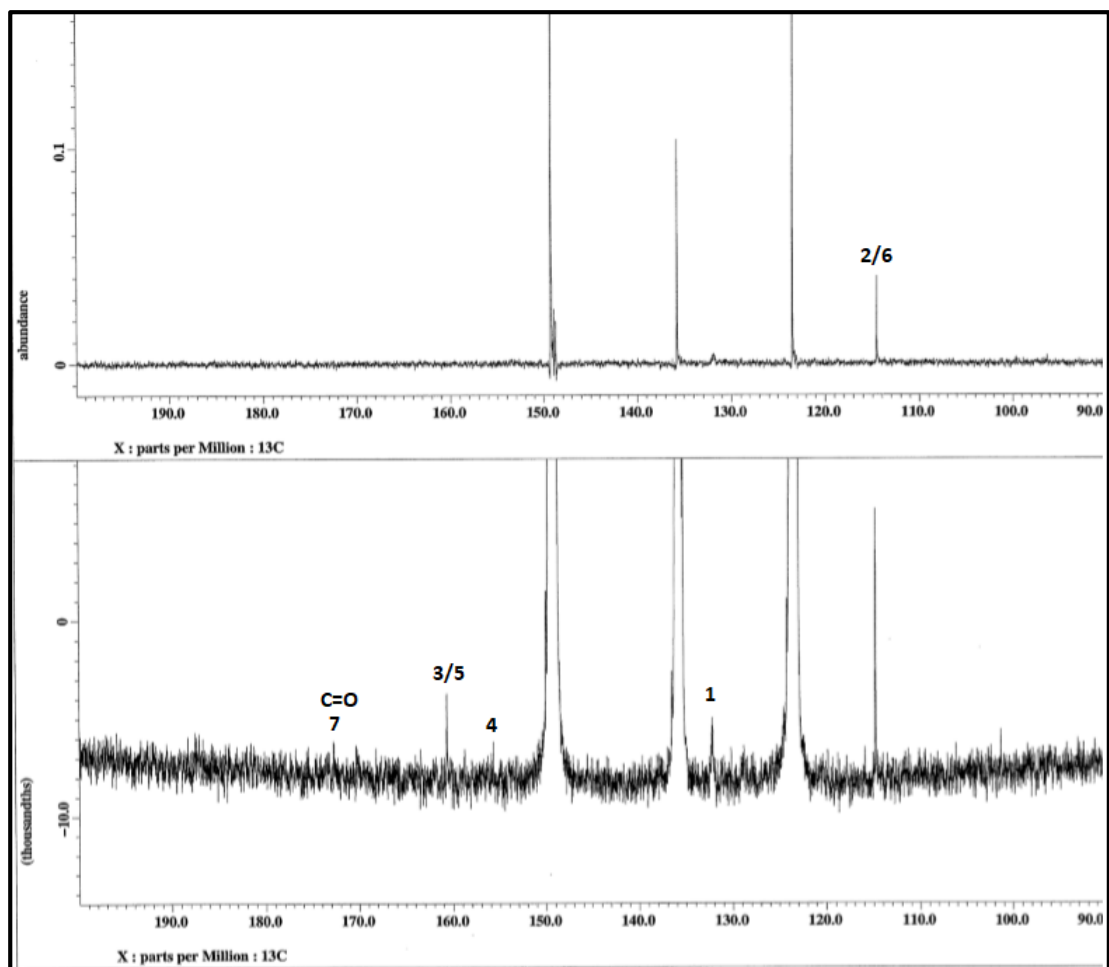
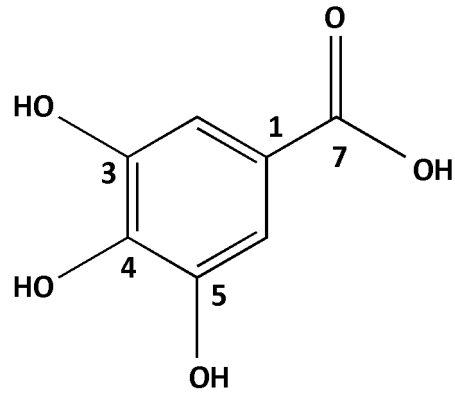
Tablo 4.7. Gallik asit'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (D_2O , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)

	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm	J (Hz)
1	C	131.81		
2/6	CH	114.58	7.20/7.21 †	
3/5	C	160.63		
4	C	154.5		
7	C	172		

“†” Girişim nedeniyle hesaplanamamıştır.

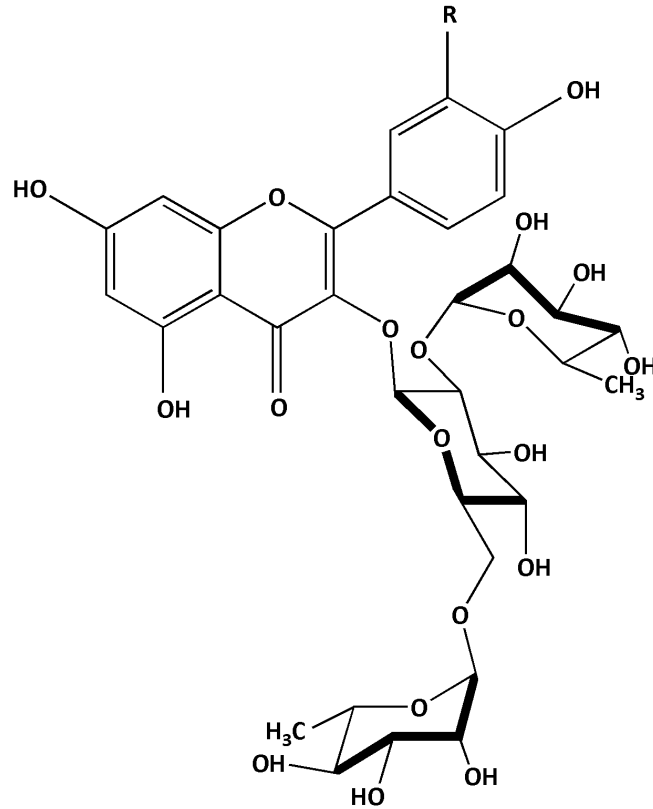


Şekil 4. 34. Gallik asit'in ^1H NMR spektrumu (D_2O , ^1H : 500 MHz)



Şekil 4. 35. Gallik asit'in ^{13}C NMR spektrumu (D_2O , ^{13}C : 125 MHz)

FLAVONOL YAPISINDAKİ BİLEŞİKLER



KERSETİN-3-O-(2-O,6-O α -DİRAMNOPIRANOZİL β -GLUKOPİRANOZİT) (PM-5)

R= OH $C_{33}H_{40}O_{20}$ (Mol. Ağ. :756)

KEMFEROL-3-O-(2-O,6-O α -DİRAMNOPIRANOZİL β -GLUKOPİRANOZİT) (PM-7)

R= H $C_{33}H_{40}O_{19}$ (Mol. Ağ. : 740)

	PM-5	PM-7
UV λ_{maks} (MeOH) nm	256,370	266,348
ESI-MS (m/z)		739 [M-H] ⁻
¹ H NMR	Tablo 4.9 Şekil 4.41	Tablo 4.8 Şekil 4.36
¹³ C NMR ve DEPT		Tablo Şekil 4.37
COSY		Şekil 4.38
HMQC		Şekil 4.39
HMBC		Şekil 4.40

KERSETİN-3-O-(2-O,6-O α -DİRAMNOPIRANOZİL β -GLUKOPİRANOZİT) (PM-5)

KEMFEROL-3-O-(2-O,6-O α -DİRAMNOPIRANOZİL β -GLUKOPİRANOZİT) (PM-7)

PM- 5 ve PM-7 kodu verilen bileşikler sarı renkli amorf katılar olarak izole edilmiştir. İTK sürüklemelerinin ardından, reaktif püskürtülmeden önce UV₂₅₄ nm'de koyu mor, UV366 nm'de açık sarı, vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürtülmesinin ardından 105°C'de 1-2 dk ısıtılınca sarı-kahverengi renk vermeleri bu bileşiklerin flavonoit yapısında olabileceğini düşündürmüştür.

PM-7, ¹³C NMR spektrumundaki 33 karbon sinyali ESI-kütle spektrumunda m/z 739' da gözlenen [M-H]⁻ iyon piki ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin C₃₃H₄₀O₁₉ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

¹H NMR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.36), aromatik bölgede görülen δ H 8.05 (2H, d, J=8.9 Hz) ve δ H 6.88 (2H, d, J=8.9 Hz) sinyalleri AA'BB' sistemini (*p*-süstitüe B halkası); δ H 6.18 (d, J=1.7Hz) ve δ H 6.38 (d, J=1.7 Hz) sinyalleri ise meta etkileşim gösteren proton sinyallerini işaret etmektedir (Tablo 4.8). ¹H-NMR spektrumunun aromatik bölgesindeki bu sinyallerle birlikte, karbon sayısı ve bileşiğin ince tabaka kromatogramında görülen özellikleri dikkate alındığında yapının flavonoit olduğu belirlenmiştir. AA'BB' sistemini gösteren sinyaller flavonoitin B halkasını, meta etkileşime ait sinyaller ise A halkasını işaret etmektedir. DEPT spektrumunda görülen katerner δ C 163.2 (C-5) ve δ C 165.6 (C-7) sinyalleri bu konumlara bağlı –OH gruplarından kaynaklanmaktadır ve aromatik alanda görülen meta etkileşime ait sinyaller aynı halkadaki H-6 ve H-8 protonları için karakteristiktir. Bu sinyaller δ C 179.4 (C-4, karbonil) sinyali ile birlikte değerlendirildiğinde flavonoit ana iskeletinin kemferol olduğu anlaşılmıştır.

¹³C NMR spektrumunda (Şekil 4.37) görülen 33 karbon sinyalinden kemferol aglikonuna ait olan 9 (C) ve 6 (CH) sinyalleri çıkarıldığında geriye kalan 18 sinyal yapıda 3 heksoz olabileceğini düşündürmüştür. ¹H NMR spektrumlarında görülen δ H 4.51 (d, J=1.15, H-1'''), δ H 5.20 (gs, H-1'''), δ H 5.60 (d, J=8, H-1'') ve HMQC spektrumunda (Şekil 4.39) bu protonların karşılık geldiği karbon sinyalleri δ C 101.8 (CH, C-1'''), δ C

102.6 (CH, C-1'''), δ_c 100.8 (CH, C-1'') bu düşünceyi doğrulamıştır. Anomerik protonların kenetlenme sabitleri ve literatür verileri 1. uzun β , 2. ve 3. uzun α -konfigürasyonuna sahip olduğunu göstermiştir. COSY spektrumu (Şekil 4.38) kullanılarak oz bölgesindeki tüm sinyaller anomerik proton sinyallerinden başlanarak belirlenmiş ve ozlardan birinin glukoz olduğu anlaşılmıştır. δ_H 0.96 (d, $J=6.3$, H-6'''), δ_H 1.17 (d, $J=6.3$, H-6'') ppm ve bu protonlara karşılık gelen δ_c 17.5 ve δ_c 17.9 ppm de görülen sinyaller diğer iki uzun ramnoz olduğunu göstermiştir. Bu sinyaller ramnozun 6 numarasında bulunan karakteristik metil sinyalleridir. Merkezi glukozdaki süstitüsyon olan konumların δ_c ve δ_H değerlerinin glukozidasyon etkisine bağlı olarak düşük alana kaydığı, diğer iki uzun değerlerinde belirgin bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Merkezi glukozun 2 numaralı karbon ve proton sinyallerinin δ_c 77.5 ppm ve δ_H 3.92 ppm, 6 numaralı karbon ve proton sinyallerinin δ_c 67.1 ve δ_H 3.42-3.7 δ_H ppm gibi düşük alana kayması glukozidasyon etkisine bağlıdır. Bu veriler merkezi bir glukozu 2 ve 6 konumundan bağlı 2 ramnoz olduğunu düşündürmüştür. Bu düşünceyi doğrulamak amacıyla HMBC spektrumu incelenmiştir. Spektrumda (Şekil 4.40) ramnozlardan birinin anomerik protonu (δ_H 5.20, $J=1.15$, gs) ile merkezi glukozun C-2'' karbonu (δ_c 77.5), diğer ramnozun anomerik protonu (δ_H 4.51, d) ile de glukozun C-6'' karbonu (δ_c 67.1) arasındaki uzak mesafeli etkileşim ramnozlardan bağlantı noktalarını doğrulamıştır.

Tüm bu bulgular eşliğinde yapının **Kemferol-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)** olduğu tespit edilmiştir. Bütün spektroskopik bulgular literatürlerde verilen değerlere uygun bulunmuştur (377). Yapılan bir çalışmada bu bileşiğin *P. mume'* deki varlığı HPLC ile analiz edilmiştir (45). Bu yayın dışında bu bileşiğin *Prunus* cinsinden izolasyonuna dair başka bir bilgiye rastlanmamıştır.

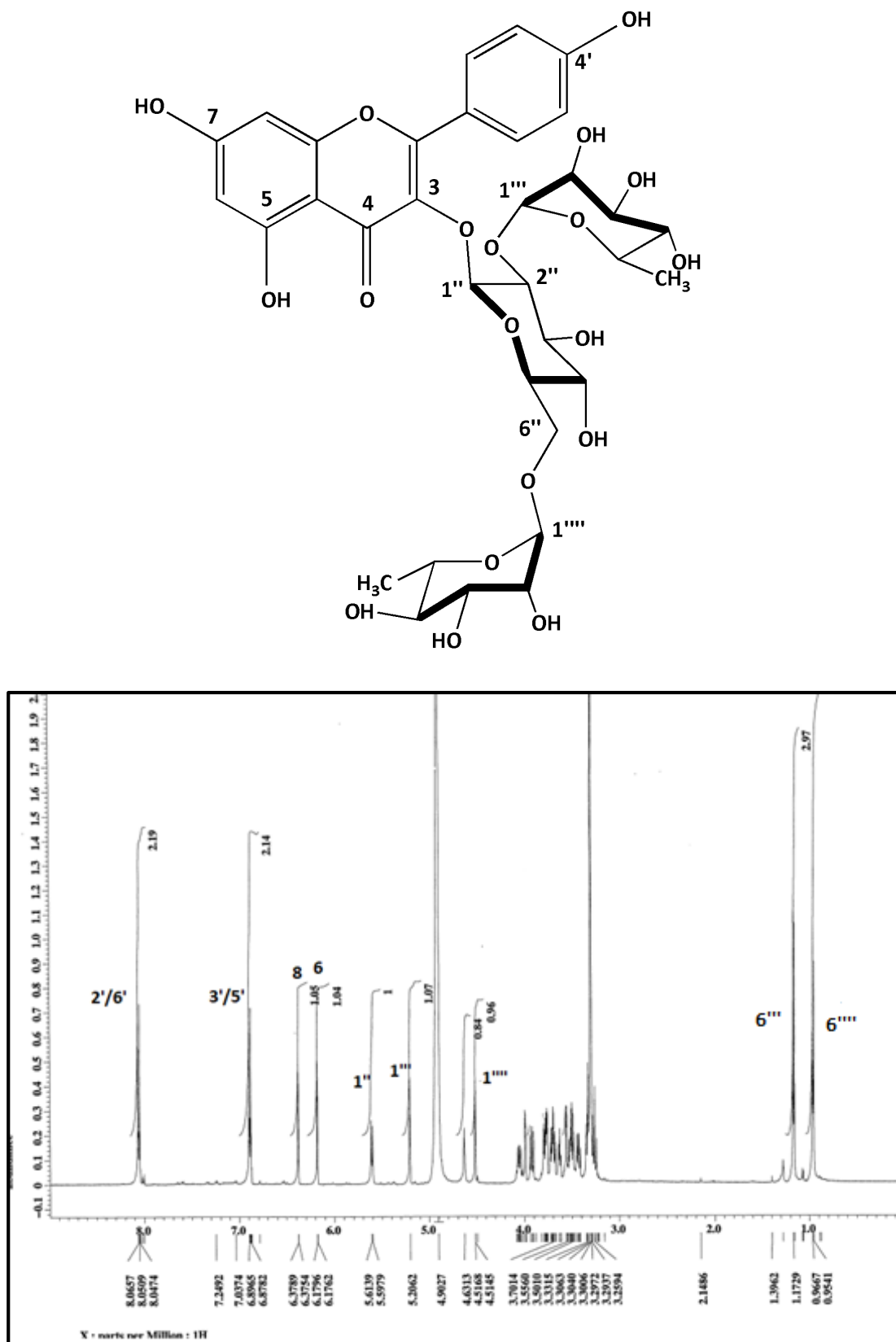
PM- 5 kodlu bileşik miktarı ^{13}C NMR ve 2D NMR analizi için yeterli olmadığından sadece ^1H NMR spektrumu çekilebilmiştir. Bileşiğin ^1H NMR spektrumu incelendiğinde oz bölgesindeki sinyallerin PM- 7 kodlu bileşikle aynı olduğu aglikon kısımlarında farklılıklar olduğu görülmüştür.

^1H -NMR spektrumunda (Şekil 4.41) aromatik bölgede 6.86 (d, $J=8.4$ Hz), δ_{H} 7.56 (d, $J=8.4$ Hz), ve 7.68 (d, $J=1.75$ Hz)'de görülen sinyaller ABX sistemini, δ_{H} 6.36 (gs) ve δ_{H} 6.17 (gs)'de görülen sinyaller ise meta etkileşim gösteren protonları taşıyan iki aromatik halkayı işaret etmektedir (Tablo 4.9). Bu sinyallerle birlikte, bileşiğin İTK sürüklenmesinde gösterdiği profil dikkate alınarak yapının flavonoit olduğu belirlenmiştir. ABX sistemini gösteren protonlar flavonoitin B halkasına, meta etkileşim gösteren sinyaller ise A halkasını işaret etmektedir. Aromatik alanda görülen meta etkileşime ait sinyaller aynı halkadaki H-6 ve H-8 protonları için karakteristiktir. Tüm bu bulgular göz önüne alındığında yapının **Kersetin-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)** olduğu tespit edilmiştir. Spektroskopik bulgular literatürlerde verilen değerlere uygun bulunmuştur (377). Yapılan bir çalışmada bu bileşiğin *P. mume*'deki varlığı HPLC ile analiz edilmiştir (45). Bu yayın dışında bu bileşiğin *Prunus* cinsinden izolasyonuna dair başka bir bilgiye rastlanmamıştır.

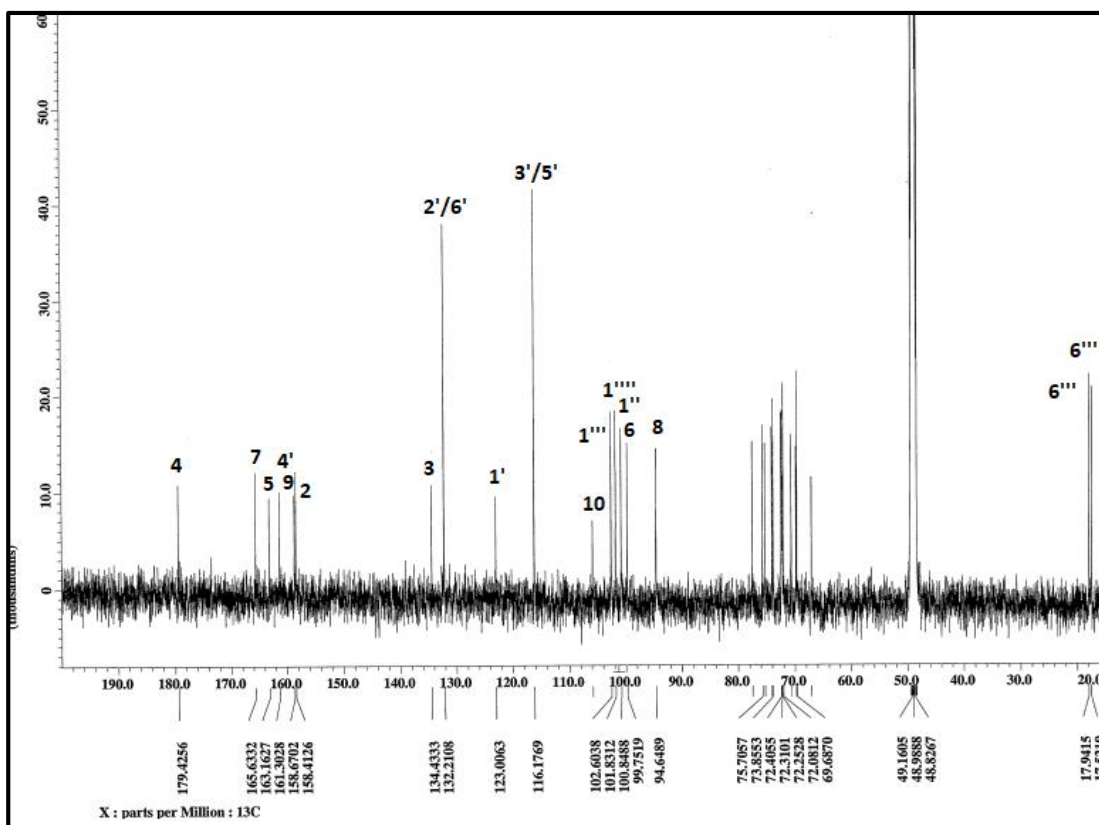
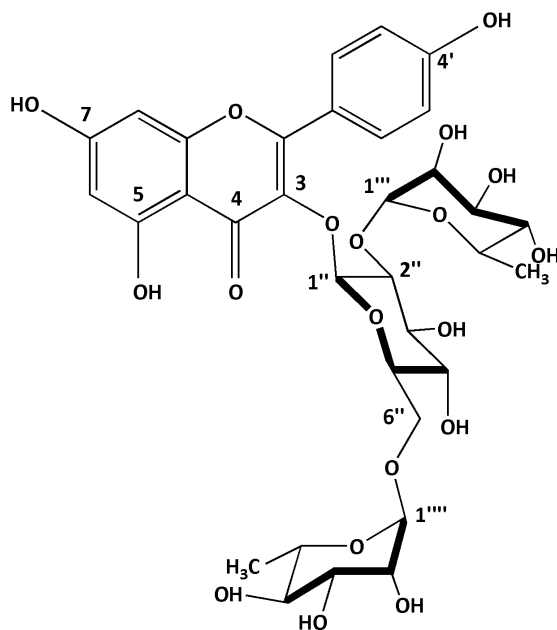
Tablo 4. 8. Kemferol-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri *(CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)

C/H Atom	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm	J (Hz)	HMBC (H \rightarrow C)
Aglikon					
2	C	158.4			
3	C	134.4			
4	C=O	179.4			
5	C	163.2			
6	CH	99.7	6.18 d	(1.7)	(C-5,C-8)
7	C	165.6			
8	CH	94.6	6.38 d	(1.7)	(C-6, C-9, C-10)
9	C	158.7			
10	C	105.9			
1'	C	123			
2'/6'	CH	132.2	8.05 d	(8.9)	(C-2'/6, C-4')
3'/5'	CH	116.2	6.88 d	(8.9)	(C-1',C-3'/5')
4'	C	161.3			
Glukoz					
1''	CH	100.8	5.60 d	(8.0)	
2''	CH	77.5	3.92 m		(C-5'')
3''	CH	75.3	3.64 m		(C-2'',C-6'')
4''	CH	70.4	3.72 m		(C-2'')
5''	CH	75.7	3.68 m		
6''	CH ₂	67.1	3.7 dd	(11.5/6.85)	(C-5'')
			3.42 dd	(11.5/2.3)	
Ramnoz					
1'''	CH	102.6	5.20 gs		(C-2'',C-2''')
2'''	CH	72.4	3.79 m		(C-4''')
3'''	CH	72.2	4.02 m		(C-2''',C-4''')
4'''	CH	74.0	3.32 t	(9.2)	(C-5''')
5'''	CH	69.6	4.06 dd	(9.6/6.3)	(C-3''')
6'''	CH ₃	17.9	1.17 d	(6.3)	
Ramnoz					
1''''	CH	101.8	4.51 d	(1.15)	(C-6'', C-2''''')
2''''	CH	72.3	3.78 m		
3''''	CH	72.1	3.5 m		(C-4''''')
4''''	CH	73.8	3.26 t	(9.2)	(C-5''''')
5''''	CH	69.4	3.52 dd	(6.3/9.6)	
6''''	CH ₃	17.5	0.96 d	(6.3)	(C-4'''''-C-5''''')

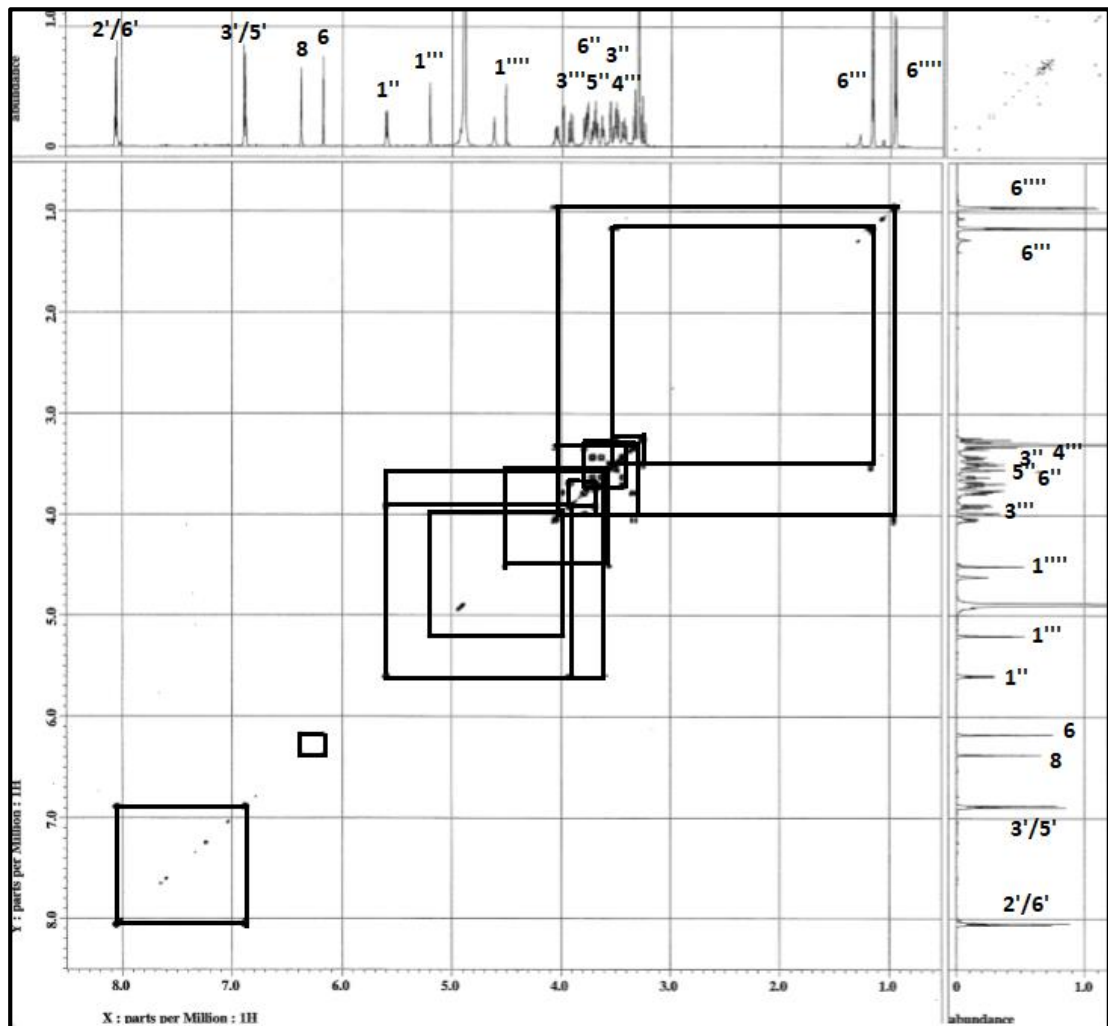
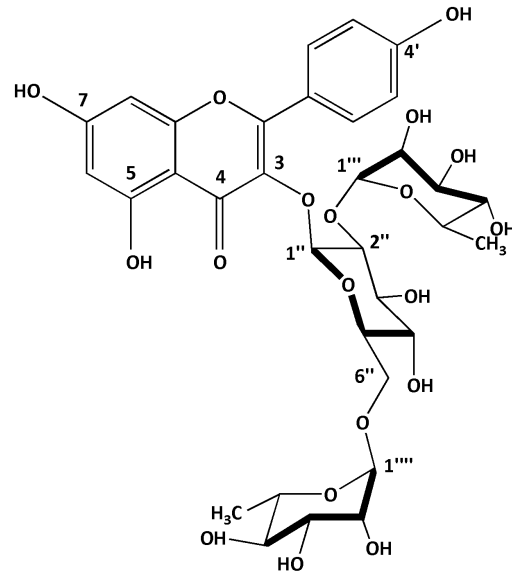
*Rezonanslar 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) yardımı ile yorumlanmıştır.



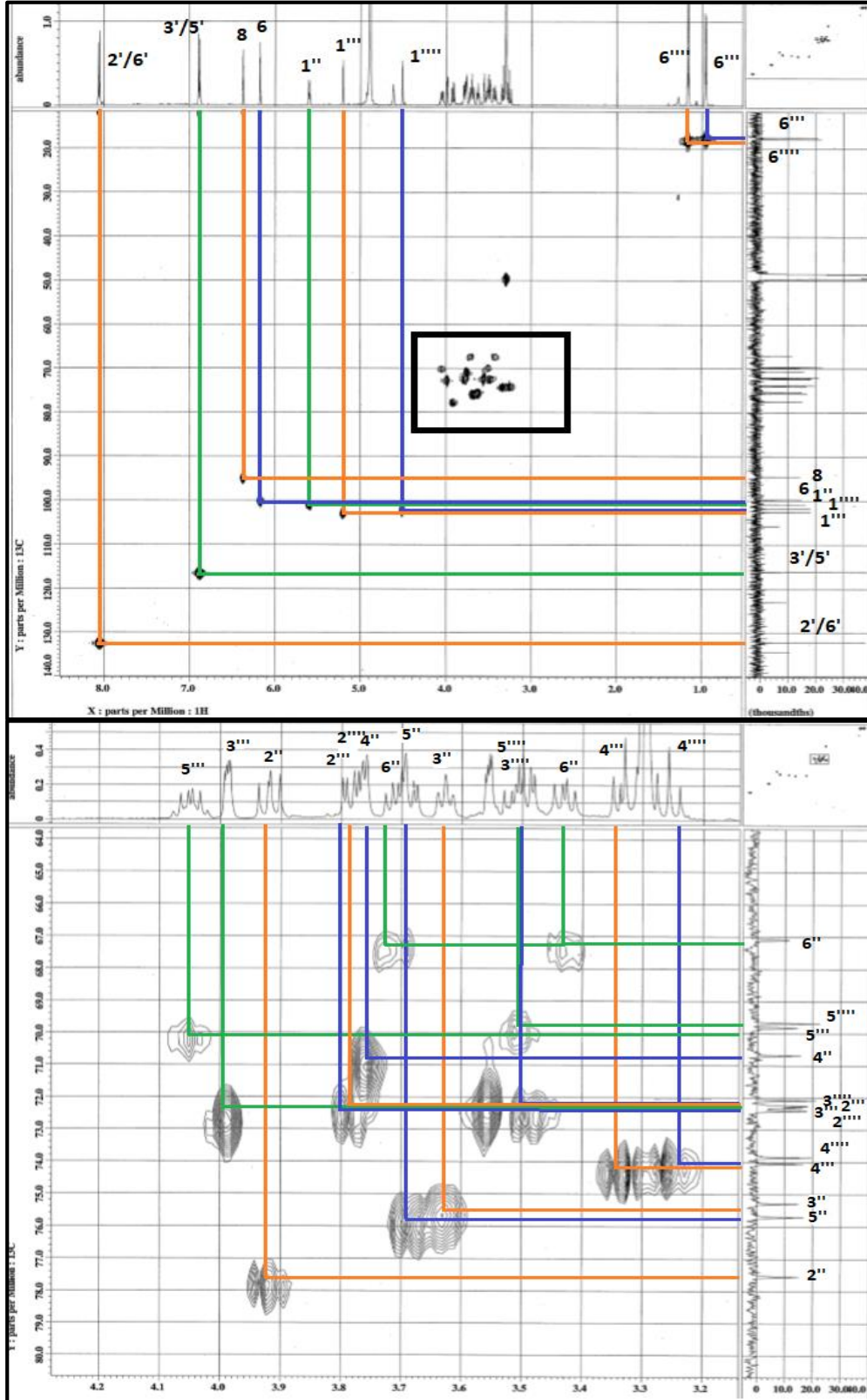
Şekil 4. 36. Kemferol-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in ^1H NMR spektrumu (CD_3OD , ^1H : 500 MHz)



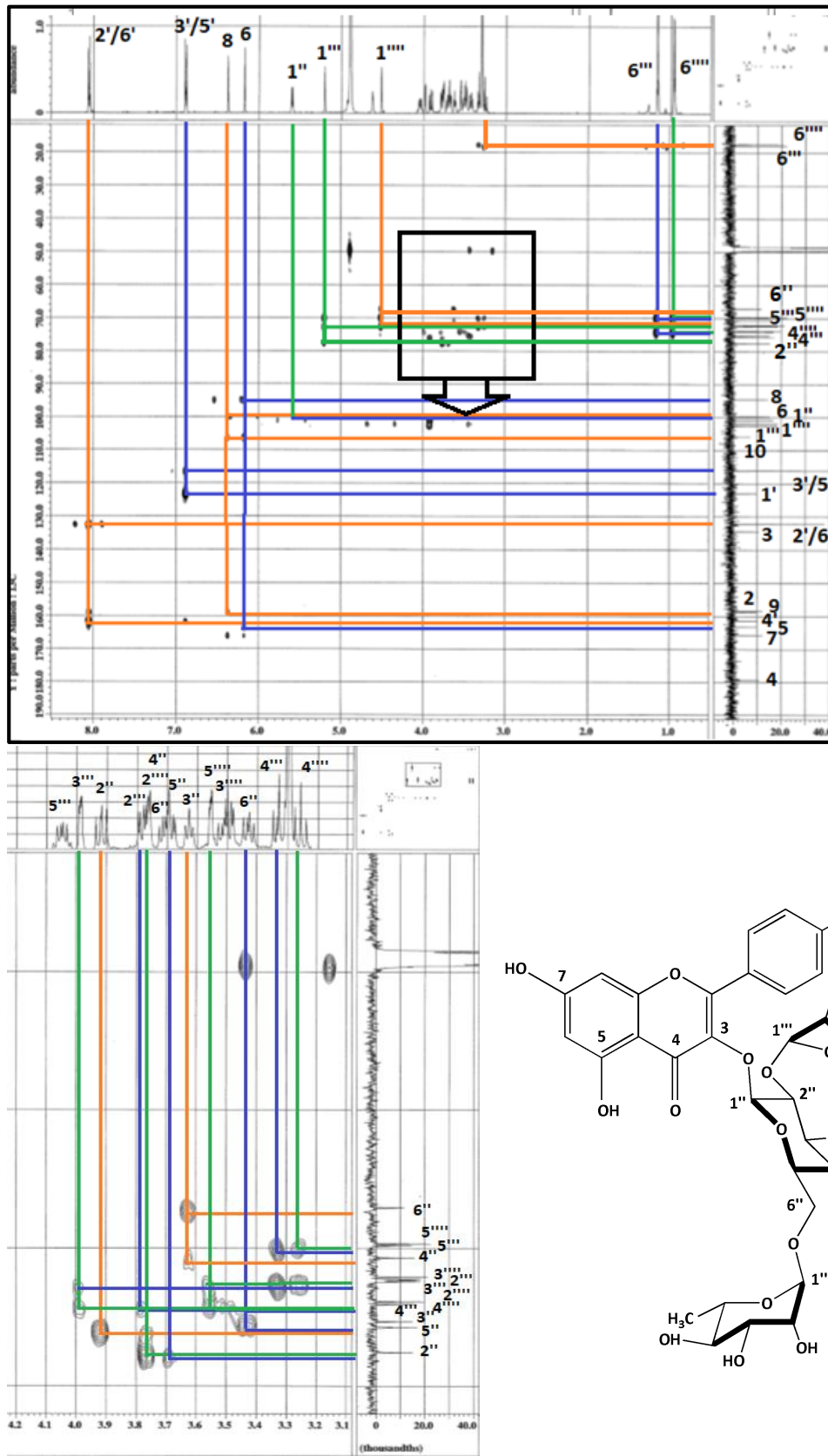
Şekil 4. 37. Kemferol-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in ^{13}C NMR spektrumu (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz)



Şekil 4. 38. Kemferol-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)



Şekil 4. 39. Kemferol-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)

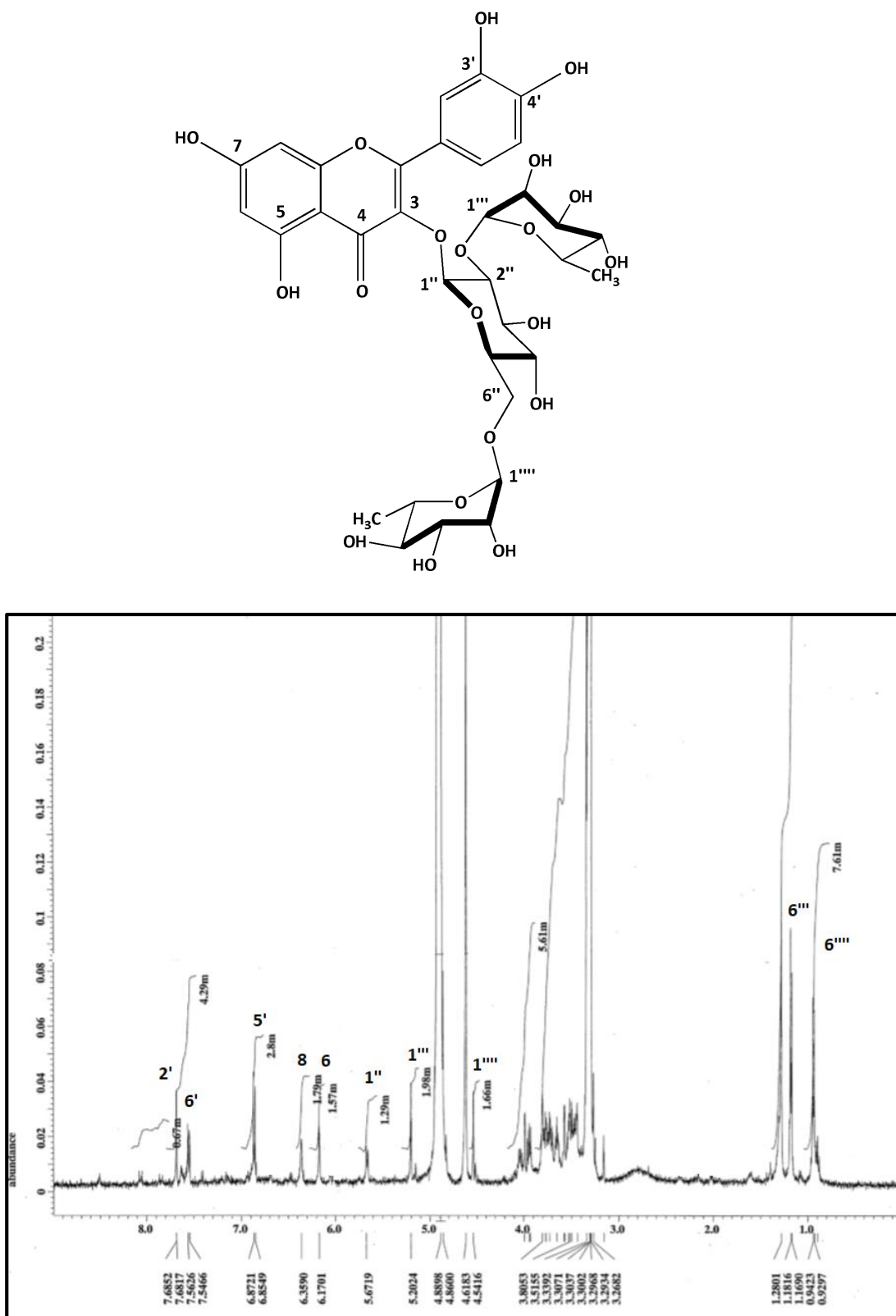


Şekil 4. 40. Kemferol-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopyranozil β -glukopiranozitol)'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)

Tablo 4.9. Kersetin-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit)'in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)

C/H Atom	DEPT	δ_{H} ppm*	J (Hz)*	δ_{H} ppm	J (Hz)
Aglikon					
2	C				
3	C				
4	C				
5	C				
6	CH	6.21 d	(2.0)	6.17 gs	
7	C				
8	CH	6.40 d	(2.0)	6.36 gs	
9	C				
10	C				
1'	C				
2'	CH	7.66 d	(2.0)	7.68 d	(1.75)
3'	C				
4'	C				
5'	CH	6.86 d	(8.5)	6.86 d	(8.4)
6'	CH	7.60 dd	(8.5/2)	7.56 d	(8.4)
Glukoz					
1''	CH	5.59 d	(7.6)	5.67 d	(8)
2''	CH	3.67 m		3.65 m	
3''	CH	3.38 m		3.49 m	
4''	CH	3.61 m		3.65 m	
5''	CH	3.70 m		3.72 m	
6''	CH ₂	3.57 m		3.57 m	
		4.04 m		4.04 m	
Ramnoz					
1'''	CH	5.22 gs		5.20 gs	
2'''	CH	4.00 dd	(2.8/1.7)	3.94 m	
3'''	CH	3.86 m		3.92 m	
4'''	CH	3.36 m		3.43 m	
5'''	CH	4.08 dd	(9.2/6.3)	3.99 m	
6'''	CH ₃	1.07d	(6.2)	1.17 d	(6.3)
Ramnoz					
1''''	CH	4.50 gs		4.61 gs	
2''''	CH	3.87 m		3.80 m	
3''''	CH	3.64 m		3.56 m	
4''''	CH	3.31 m		3.26 m	
5''''	CH	3.63 m		3.52 m	
6''''	CH ₃	1.00 d	(6.2)	0.93 d	(6.3)

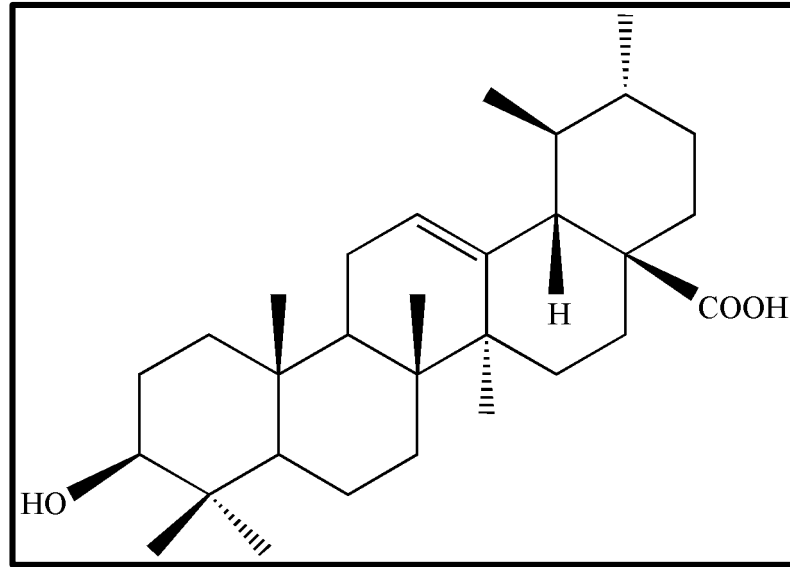
*: Literatüre ait veriler (377, 378)



Şekil 4. 41. Kersetin-3-O-(2-O,6-O- α -diramnopyranozil β -glukopiranozit)'in ^1H NMR spektrumu (CD₃OD, ^1H : 500 MHz)

TERPENİK YAPIDAKİ BİLEŞİKLER

URSOLİK ASİT



$C_{30}H_{48}O_3$ (Mol. Ağ. : 456.7)

UV λ_{maks} (MeOH) nm	212
ESI-MS (m/z)	479 [M+Na] ⁺
¹ H NMR	Tablo 4.10 Şekil 4.42
¹³ C NMR ve DEPT	Tablo 4.10 Şekil 4.43
COSY	Şekil 4.44
HMQC	Şekil 4.45
HMBC	Şekil 4.46

URSOLİK ASİT (PM-10)

PM-10 kodu verilen bileşik beyaz renkli amorf bir katı olarak izole edilmiştir. İTK sürüklenmelerinde, reaktif püskürtmeden önce UV 254/366'da floresans vermeyen madde, vanilin/H₂SO₄ püskürtülmesinin ardından 105°C'de 1-2 dk ısıtılınca, bekleme süresine göre pembeden mora dönüşen tek bir leke olarak gözlenmiştir.

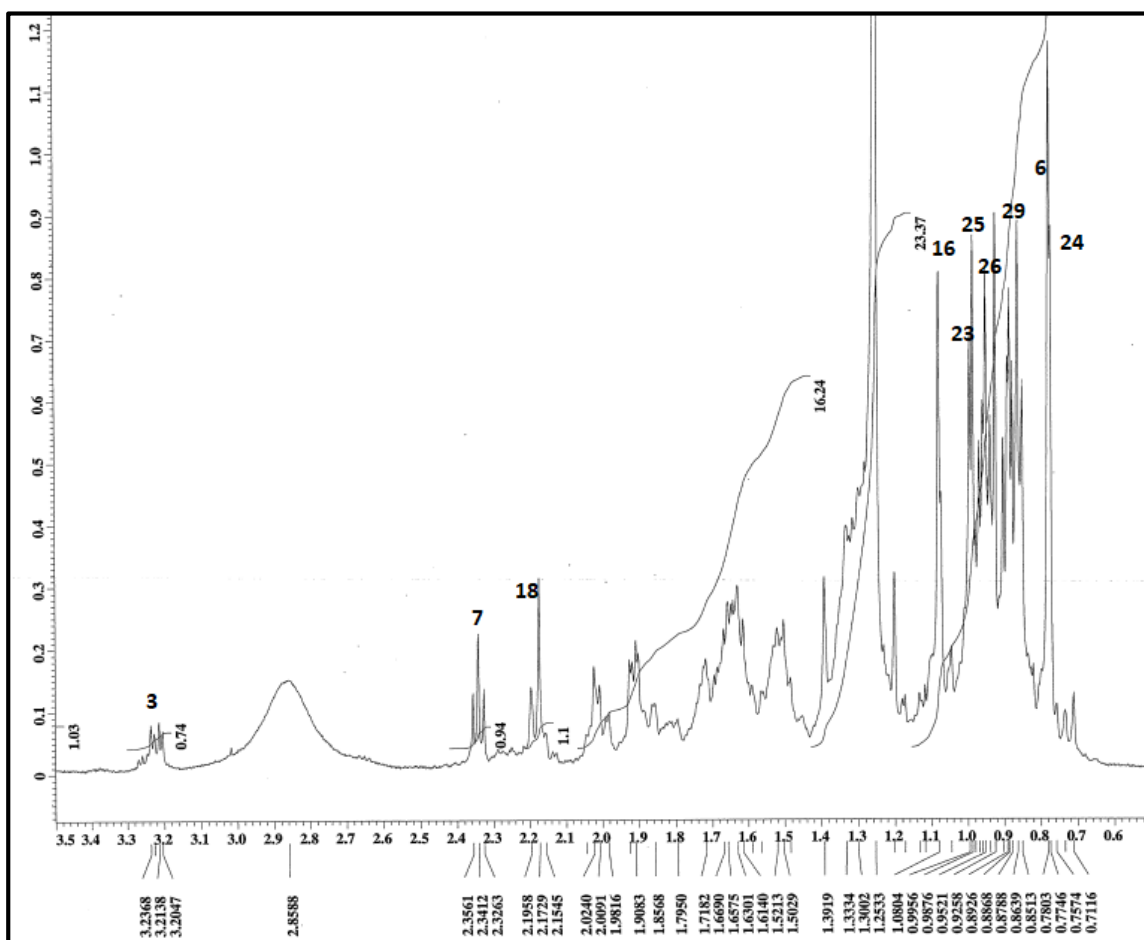
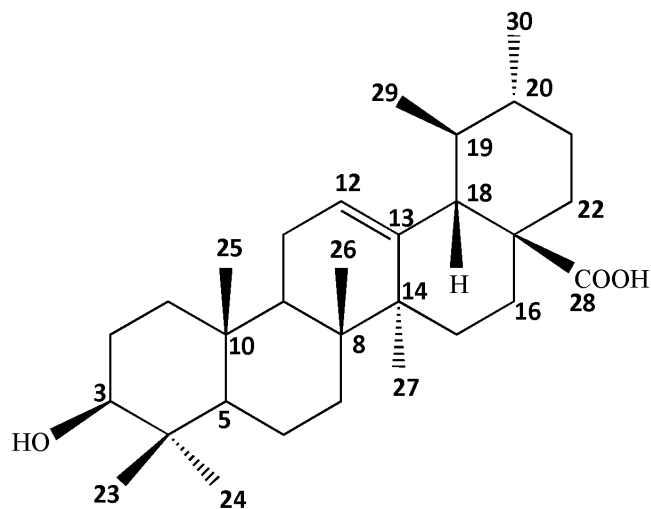
¹H NMR spektrumunda (Şekil 4.42) δ_H 0.77-0.99 ppm arasında izlenen 7 metil sinyali ve ¹³C-NMR spektrumunda izlenen 30 karbon sinyali ESI-kütle spektrumunda m/z 479'da gözlenen [M+Na]⁺ iyon piki ile birlikte değerlendirilmiş ve bu sonuçlar bileşiğin bir triterpen olabileceğine işaret etmiştir (Tablo 4.10). ¹H NMR spektrumu değerlendirildiğinde, δ_H 0.77-0.99 ppm arasında gözlenen 5 metil singletinin yanı sıra δ_H 0.86 (d, J= 6.3) ve δ_H 0.92 (d, J= 6.5) ppm'de iki dublet metilinin varlığı bileşiğin ursan yapısında olduğunu göstermektedir.

δ_H 3.21(dd, J= 11.5/4.5 Hz, H-3) ppm'deki sinyal hidroksile komşu protona, 5.24 (gt) ppm' deki ise bir olefinik protona işaret etmektedir. Ayrıca δ_H 2.18 (d, J=11.5 Hz) ppm de izlenen pikin ise H-18 protonuna ait olduğu belirlenmiş ve bu sinyalin bu kadar aşağı alanda izlenmesi C-17'ye bağlı bir (-COOH) asit grubunun varlığını düşündürmüştür. δ_C 125.8 (C-12) ve 137.9 (C-13)' daki sinyaller iskelettteki çifte bağ varlığını bir kez daha doğrulamıştır (Şekil 4.43). δ_C 79.1 (C-3)' deki sinyal ise oksijenli bir sübstitüent varlığını açıklamıştır. Asit karbonili δ_C 182.4 ppm'de izlenmiştir. Bileşiğe ait diğer sinyaller COSY, HMBC ve HMQC ile değerlendirildiğinde yapının **ursolik asit (3 β -hidroksi-urs-12-en-28-oik asit)** olduğu belirlenmiştir (379). Yapılan literatür taramalarında bu bileşiğin daha önce birçok *Prunus* türünde tespit edildiği bildirilmiştir ancak *P. mahaleb'* den izolasyonuna dair herhangi bir kayıda rastlanmamıştır (47, 81, 124, 129, 131, 133, 134, 136). Ursolik asit çalışmamız ile *P. mahaleb'* den ilk kez izole edilmektedir.

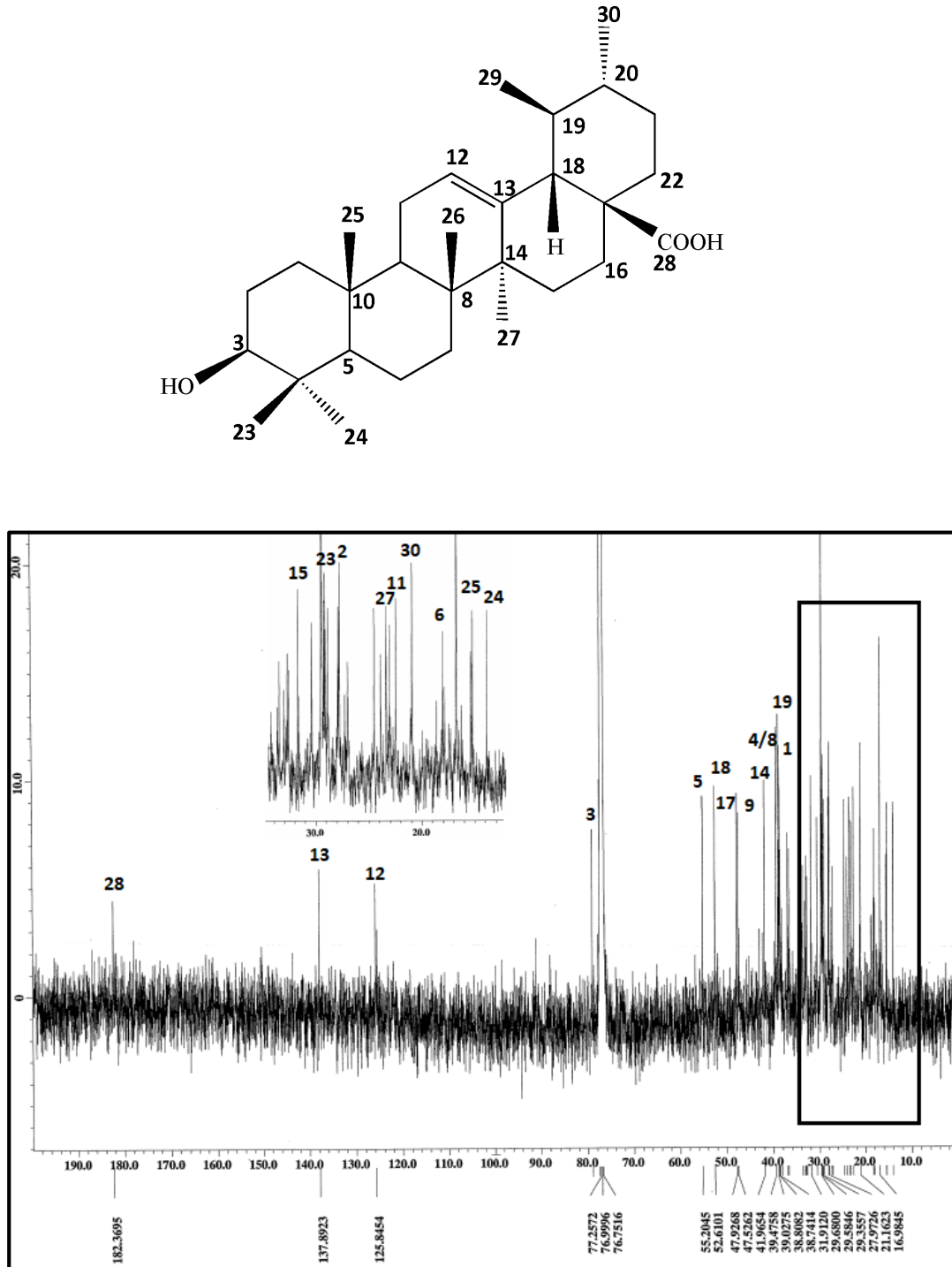
Tablo 4.10. Ursolik asit ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (CDCl_3 , ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)

C/H Atom	DEPT	δ_c ppm	δ_H ppm	J (Hz)	HMBC (H \rightarrow C)
Aglikon					
1	CH ₂	38.7			
2	CH ₂	27.9			
3	CH	79.1	3.21 dd	(4.5/11.5)	
4	C	39.5			
5	CH	55.2			(C-23)
6	CH ₂	18.1			
7	CH ₂	33.7	2.32 t	(7.45)	(C-15)
8	C	39.5			
9	CH	47.5			
10	C	36.9			
11	CH ₂	23.6			
12	CH	125.8	5.24 gt		
13	C	137.9			
14	C	41.9			
15	CH ₂	29.9			
16	CH ₂	24.7	1.08 gs		(C-14)
17	C	47.9			
18	CH	52.6	2.18 d	(11.5)	(C-19)
19	CH	39.0			
20	CH	38.8			
21	CH ₂	31.9			
22	CH ₂	36.7			
23	CH ₃	28.1	0.92 s		(C-4)
24	CH ₃	15.5	0.78 s		(C-4)
25	CH ₃	15.6	0.77 s		(C-10)
26	CH ₃	16.9	0.85 s		
27	CH ₃	24.1	0.99 s		
28	C=O	182.4			
29	CH ₃	16.5	0.86 d	(6.3)	(C-19)
30	CH ₃	21.2	0.92 d	(6.5)	(C-20)

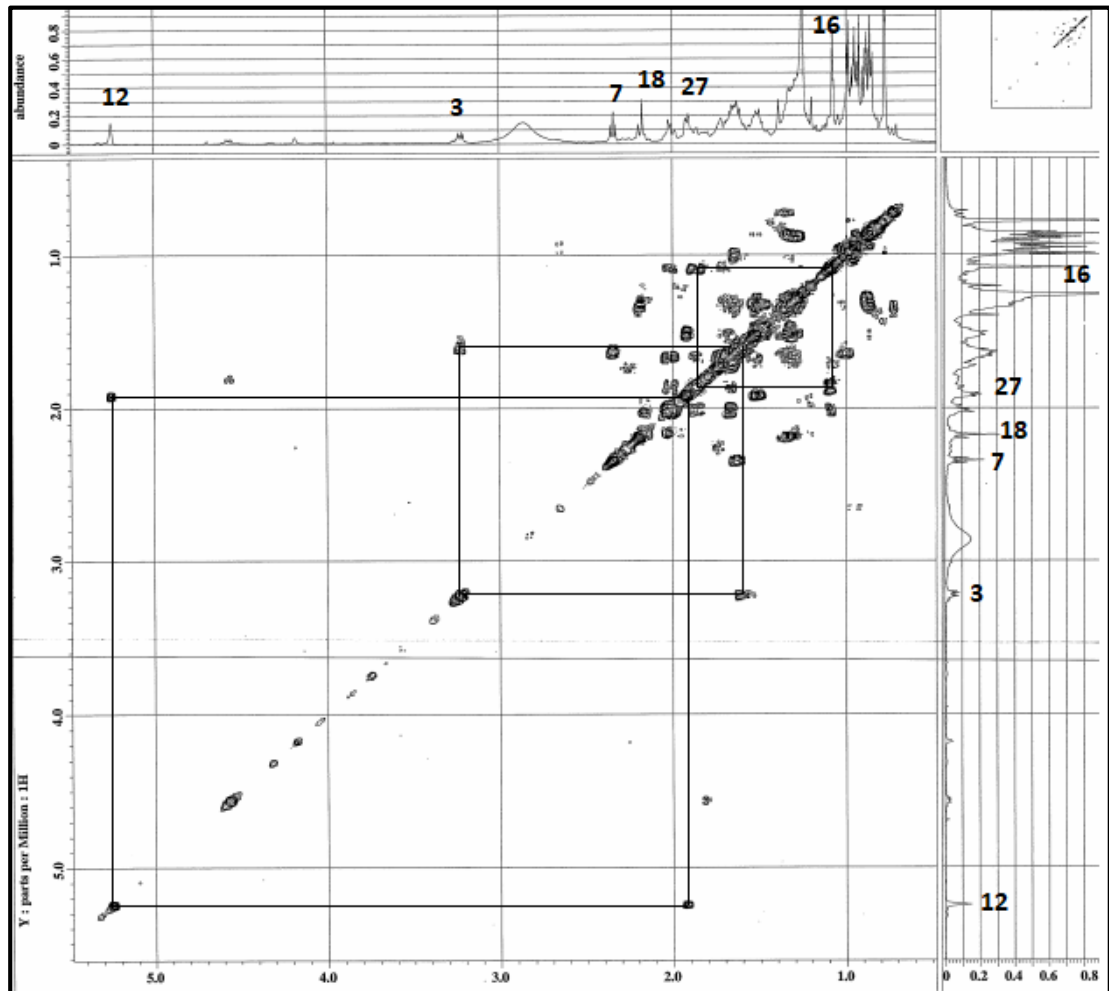
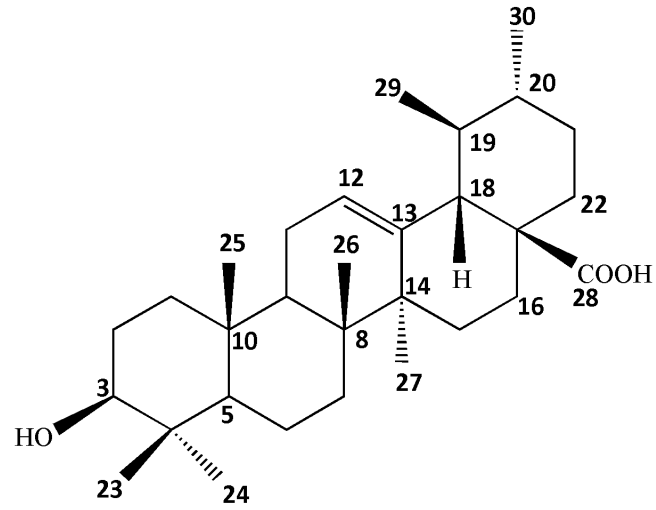
*Rezonanslar 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) yardımı ile yorumlanmıştır.



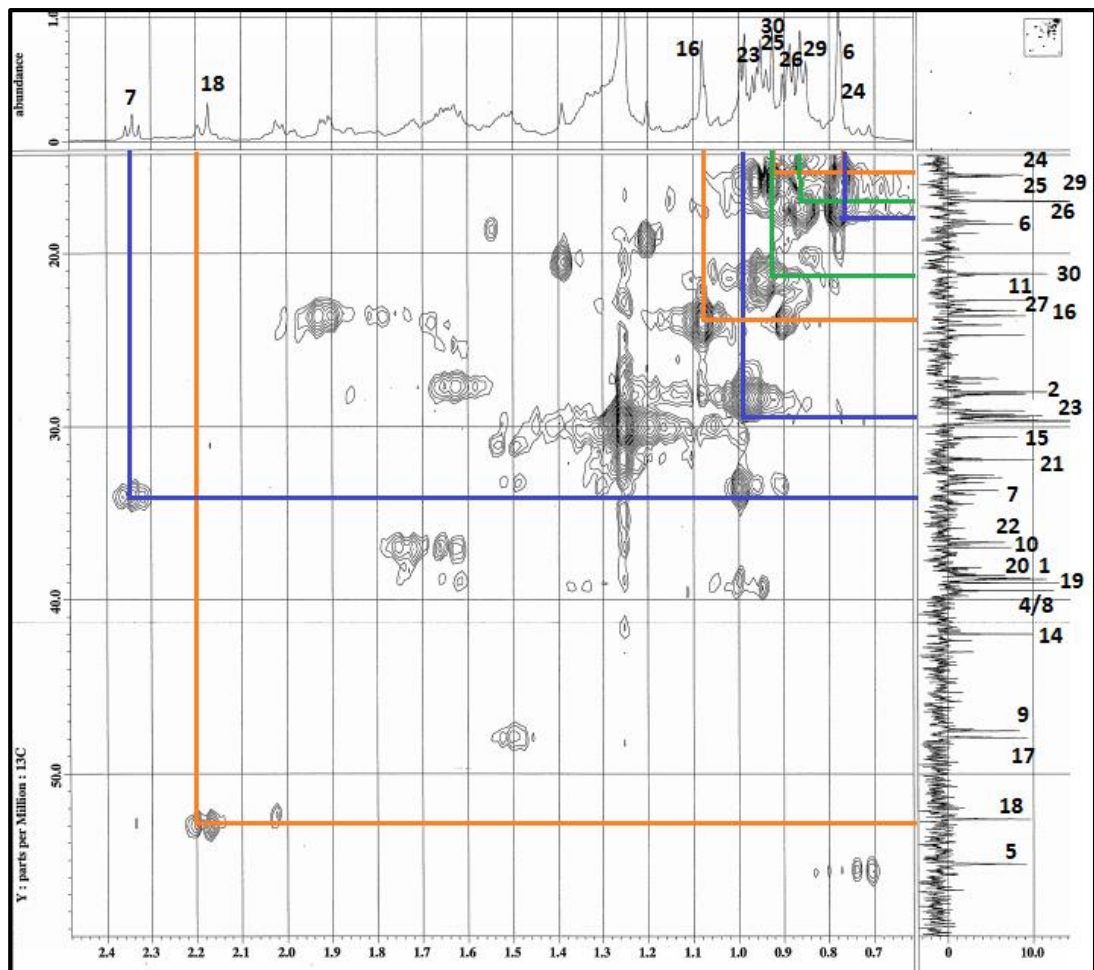
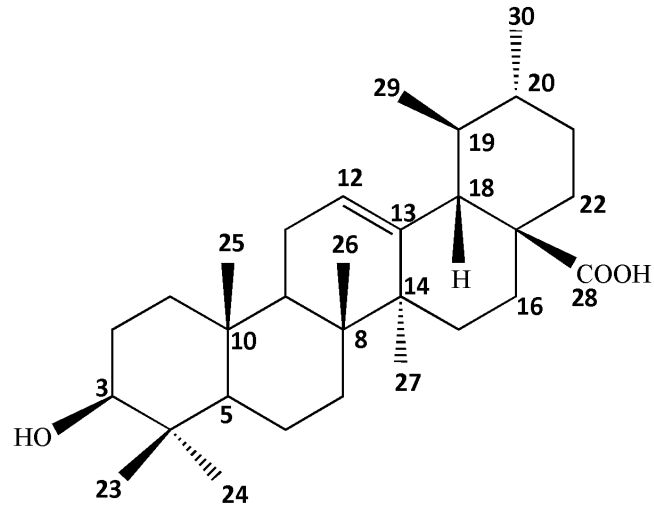
Şekil 4. 42. Ursolik asit'in ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , ^1H : 500 MHz)



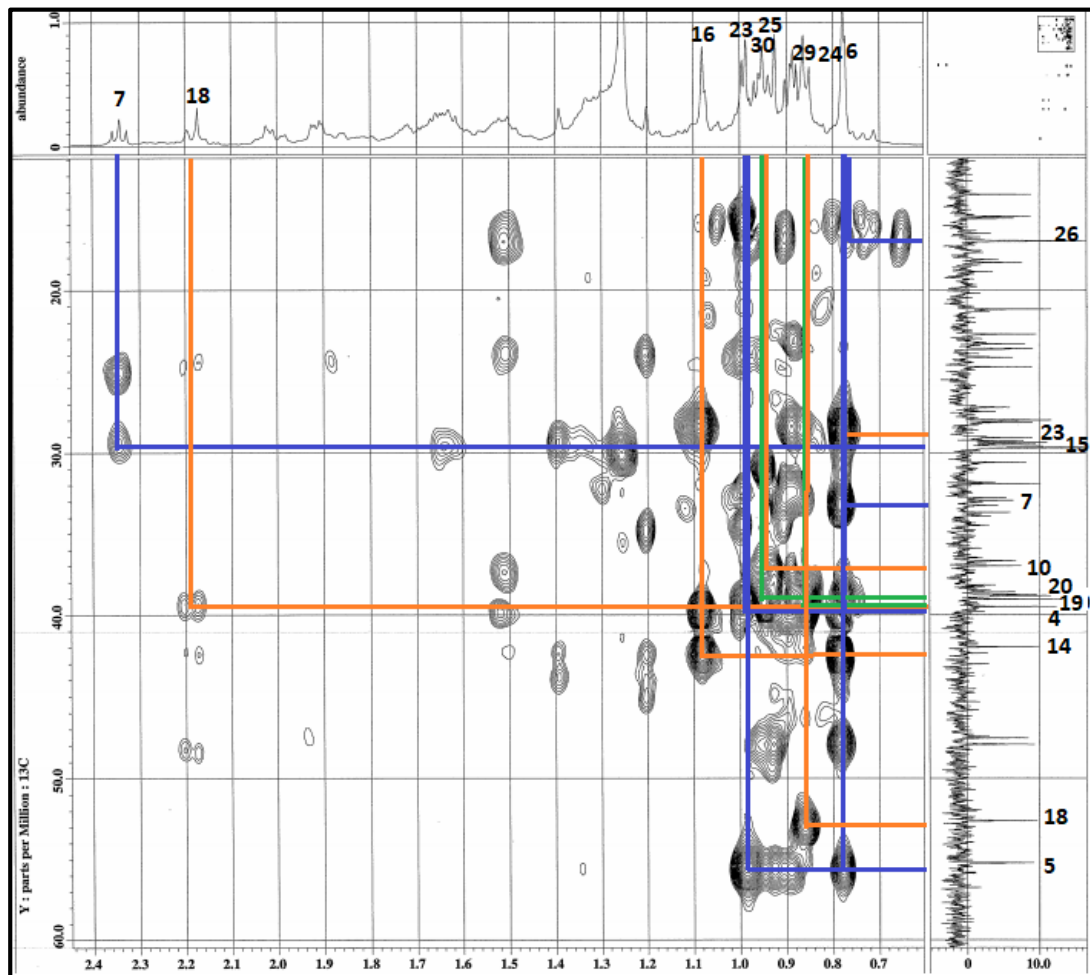
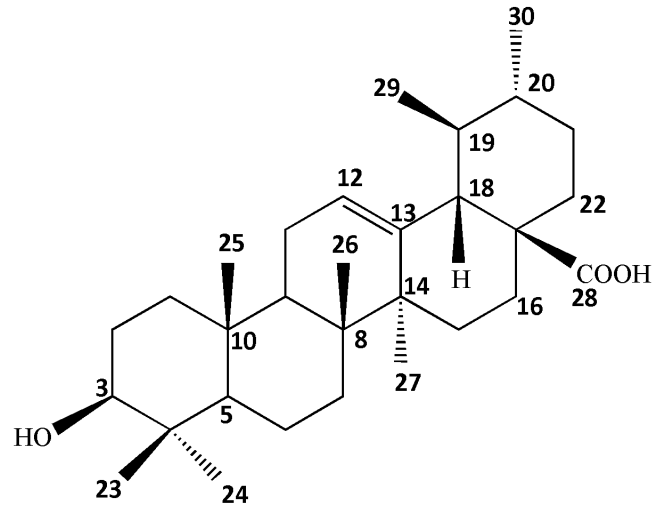
Şekil 4. 43. Ursolik asit'in ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , ^{13}C : 125 MHz)



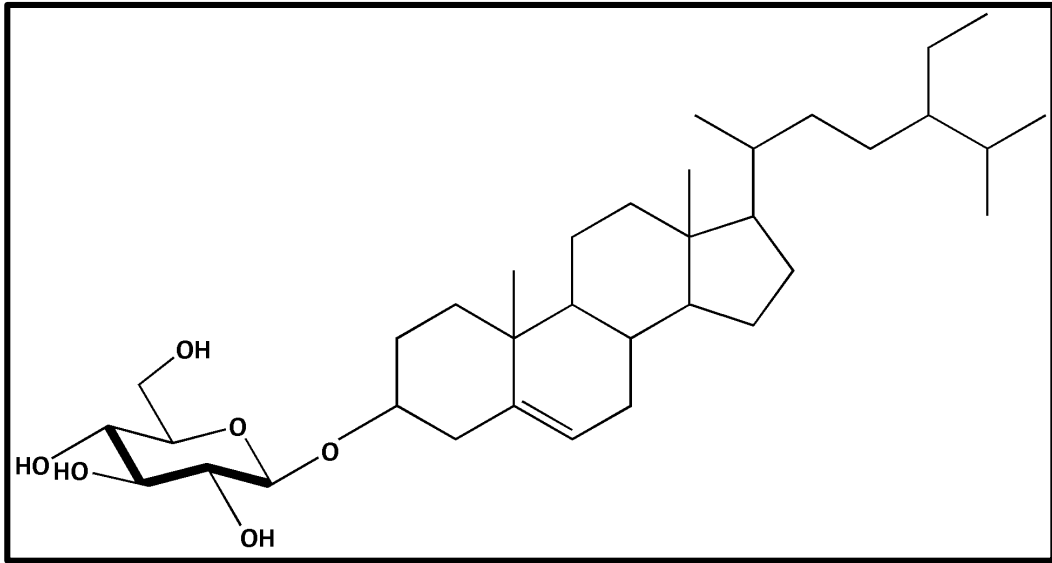
Şekil 4. 44. Ursolik asit'in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)



Şekil 4. 45. Ursolik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)



Şekil 4. 46. Ursolik asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)

β -SİTOSTEROL-3-O- β -GLUKOPİRANOZİT

$C_{35}H_{60}O_6$ (Mol. Ağ. : 576.85)

ESI-MS (m/z)	575 [M-H] ⁻
¹ H NMR	Tablo 4.11 Şekil 4.47
¹³ C NMR ve DEPT	Tablo 4.11 Şekil 4.48
COSY	Şekil 4.49
HMQC	Şekil 4.50
HMBC	Şekil 4.51

β -SİTOSTEROL-3-O- β -GLUKOPİRANOZİT (PM-11)

PM-11 kodu verilen bileşik beyaz renkli amorf bir katı olarak izole edilmiştir. İTK sürüklenmelerinde, reaktif püskürtmeden önce UV 254/366'da floresans vermeyen madde, vanilin/H₂SO₄ püskürtülmesinin ardından 105°C'de 1-2 dk ısıtılınca, bekleme süresine göre mordan kırmızıya dönüşen tek bir leke olarak gözlenmiştir.

¹H-NMR spektrumu (Şekil 4.47) değerlendirildiğinde yüksek alanında δ H 0.63 (s, H-18), δ H 0.78(d, *J*= 6.3, H-26), δ H 0.79(d, *J*= 6.3, H-27), δ H 0.84 (m, H-29), 0.89 (s, H-24), δ H 0.92(d, *J*= 6.3, H-21) ppm' de toplam 6 metil sinyali gözlenmiştir (Tablo 4. 11). Bunun dışında δ H 5.33 (gs, H-6)' de gözlenen olefinik proton sinyali, yapıdaki çifte bağ varlığını göstergesidir. δ H 4.20 (d, *J*= 8 Hz)' de gözlenen anomerik proton sinyali, yapıya bir uzun bağlı olduğunu işaret etmektedir. Bu sinyalden hareketle COSY spektrumuyla oza ait diğer sinyallerin yerleri tespit edilmiştir. HMQC spektrumu ile bu sinyallere karşılık gelen karbon rezonansları, β -glukoz için karakteristik olan kenetlenme sabiti (*J*= 8.0) değeri birlikte değerlendirildiğinde, yapıdaki uzun β -glukoz olduğu anlaşılmıştır.

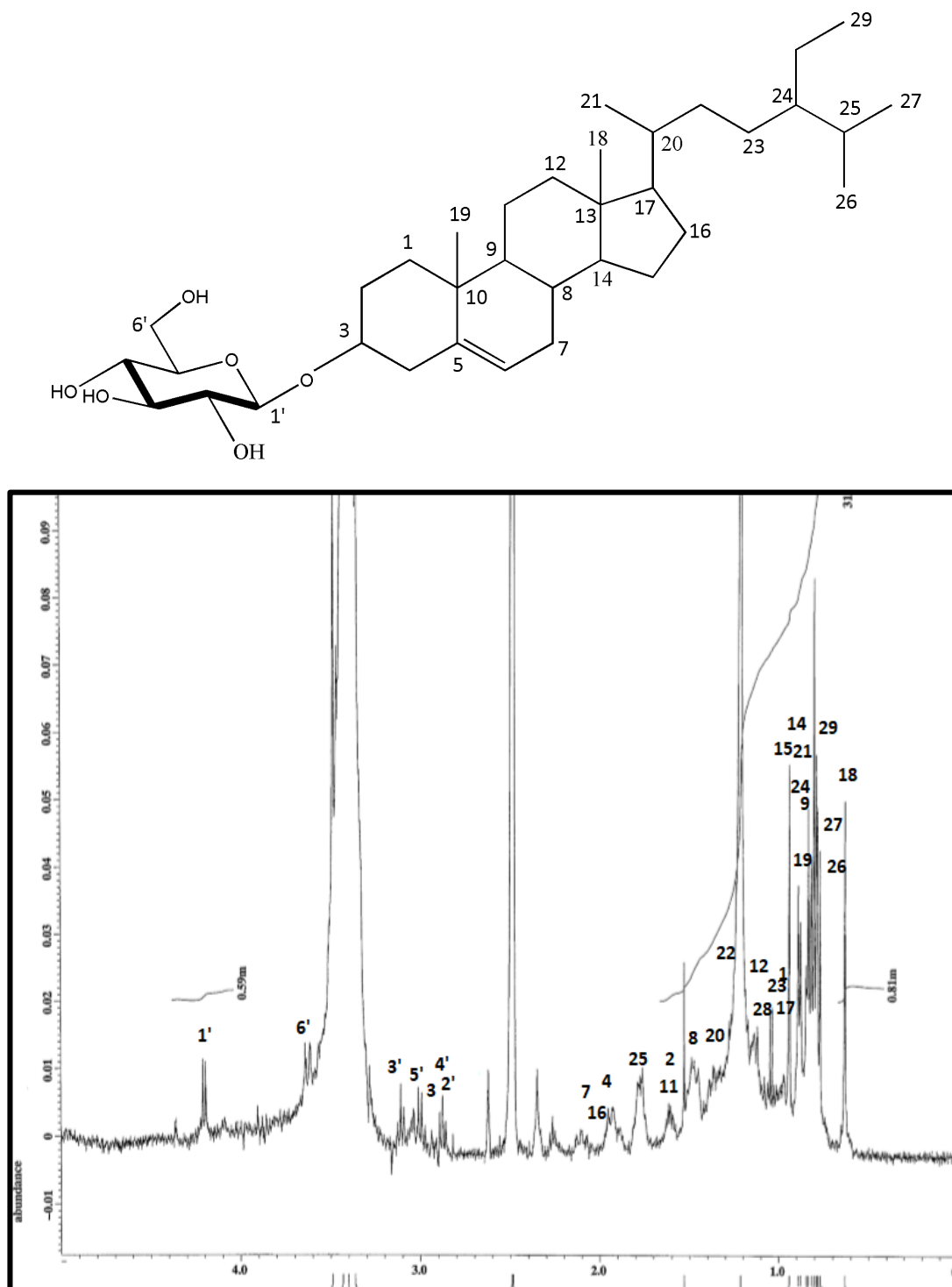
¹³C NMR spektrumunda (Şekil 4.48) toplam 35 karbon rezonansı bulunmaktadır. Glukoza ait olan 6 rezonans dışındaki sinyaller DEPT spektrumları yardımıyla yorumlandığında aglikonun 6 metil (CH₃), 11 metilen (CH₂), 9 metin (CH) ve 3 katerner (C) karbondan oluşan 29 karbonlu bir steroid iskeletine sahip olduğu sonucuna varılmıştır. δ C 140.5 (C-5) ve 121.2 (C-6)' daki sinyaller, steroid iskeletinde bir çifte bağ varlığını ve düşük alana kayan δ C 76.8 (C-3)' deki sinyal ise oksijenli bir sübstitüent varlığını açıklamıştır. HMBC spektrumunda (Şekil 4.51) glukozun anomerik protonu (H-1') ile aglikonun C-3 karbonu arasındaki uzak mesafeli etkileşim, glukozun aglikonun C-3 üzerinden bağlı olduğunu göstermiştir. Aglikona ait diğer sinyaller COSY, HMBC ve HMQC ile değerlendirildiğinde yapının **β -sitosterol 3-O- β -glukopiranozit** olduğu bulunmuştur. Spektroskopik bulgular literatürlerde verilen değerlere uygun bulunmuştur (380). Yapılan literatür taramalarında bu bileşiğin daha önce *P. mahaleb* de dahil birçok *Prunus* türünde tespit edildiği bildirilmiştir.

Tablo 4.11. β -sitosterol-3-O- β -glukopiranozit' in ^{13}C ve ^1H NMR spektroskopik değerleri* (DMSO, ^{13}C : 125 MHz, ^1H : 500 MHz)

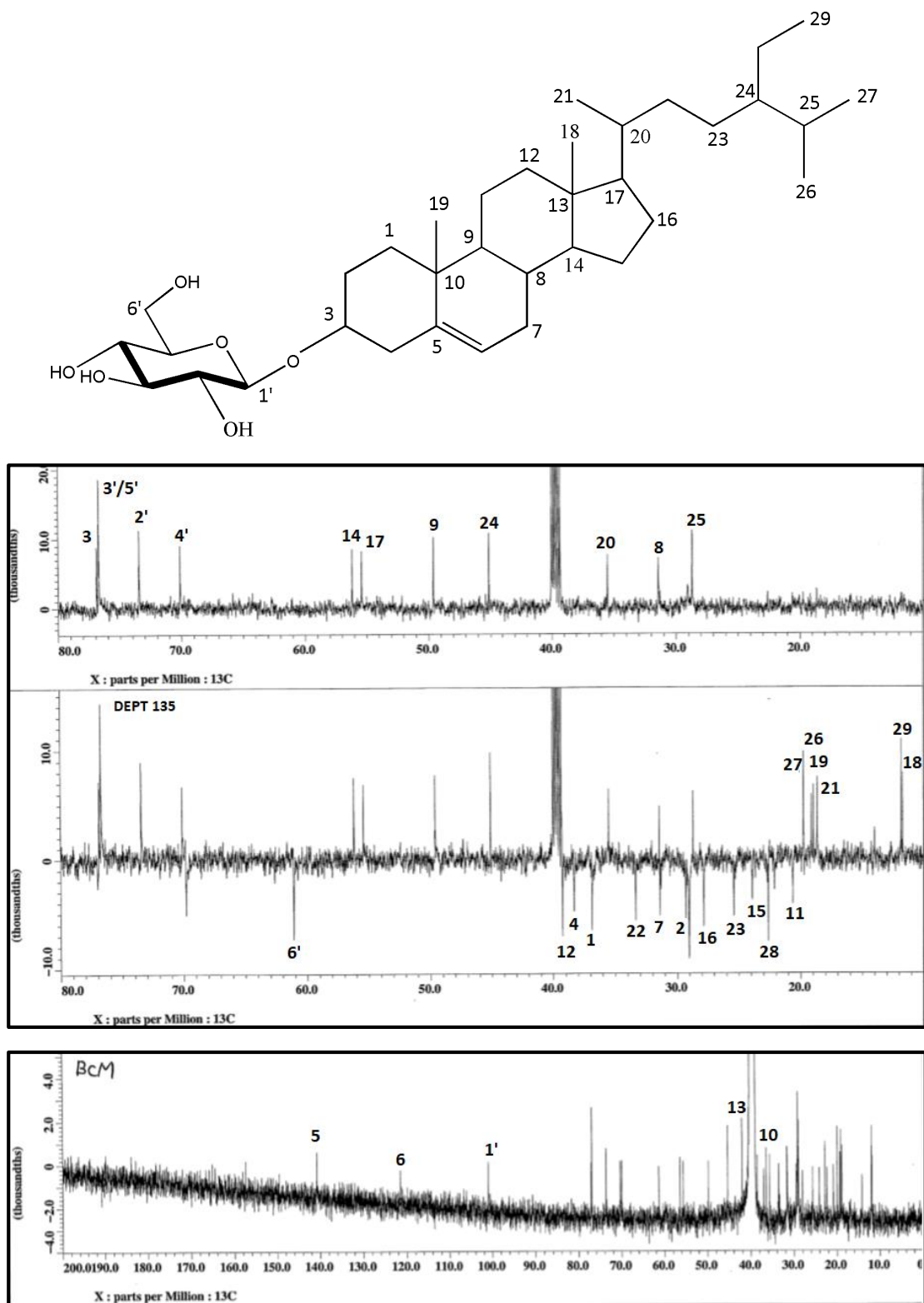
C/H Atom	DEPT	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm	J (Hz)	HMBC (H \rightarrow C)
Aglikon					
1	CH ₂	36.8	0.98, 1.75 †		(C-9, C-2)
2	CH ₂	29.3	1.49, 1.75 †		
3	CH	76.8	3.00 m		(C-3)
4	CH ₂	38.9	1.78 m		
5	C	140.5			
6	CH	121.2	5.33 gs		
7	CH ₂	31.4	1.48, 1.94 †		(C-14)
8	CH	31.4	1.38 m		
9	CH	49.6	0.86 m		
10	C	36.2			
11	CH ₂	20.6	1.48 m		
12	CH ₂	38.3	1.22 m		
13	C	41.9			
14	CH	56.2	0.94 s		(C-9)
15	CH ₂	23.8	1.15 m		(C-14)
16	CH ₂	27.8	1.21, 1.78 †		
17	CH	55.4	1.05 m		
18	CH ₃	11.7	0.63 s		(C-17)
19	CH ₃	18.9	0.89 s		
20	CH	35.5	1.34 m		
21	CH ₃	18.6	0.92 d	(6.3)	(C-17)
22	CH ₂	33.3	1.20 m		(C-20, C-22)
23	CH ₂	25.4	1.12 m		
24	CH	45.1	0.89 m		
25	CH	28.7	1.65 m	(6.3)	
26	CH ₃	19.1	0.78 d	(6.3)	(C-25, C-27)
27	CH ₃	19.7	0.79 d		(C-25, C-26)
28	CH ₂	22.6	1.15 m		(C-11)
29	CH ₃	11.8	0.84 m		
Glukoz					
1'	CH	100.8	4.20 d	(8)	(C-3)
2'	CH	73.5	2.89 m		(C-5'')
3'	CH	76.9	3.27 m		(C-2''), C-6'')
4'	CH	70.1	2.98 m		(C-2'')
5'	CH	76.8	3.06 m		
6'	CH ₂	61.1	3.7 m		(C-5'')
			3.42 m		

*Rezonanslar 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) yardımı ile yorumlanmıştır.

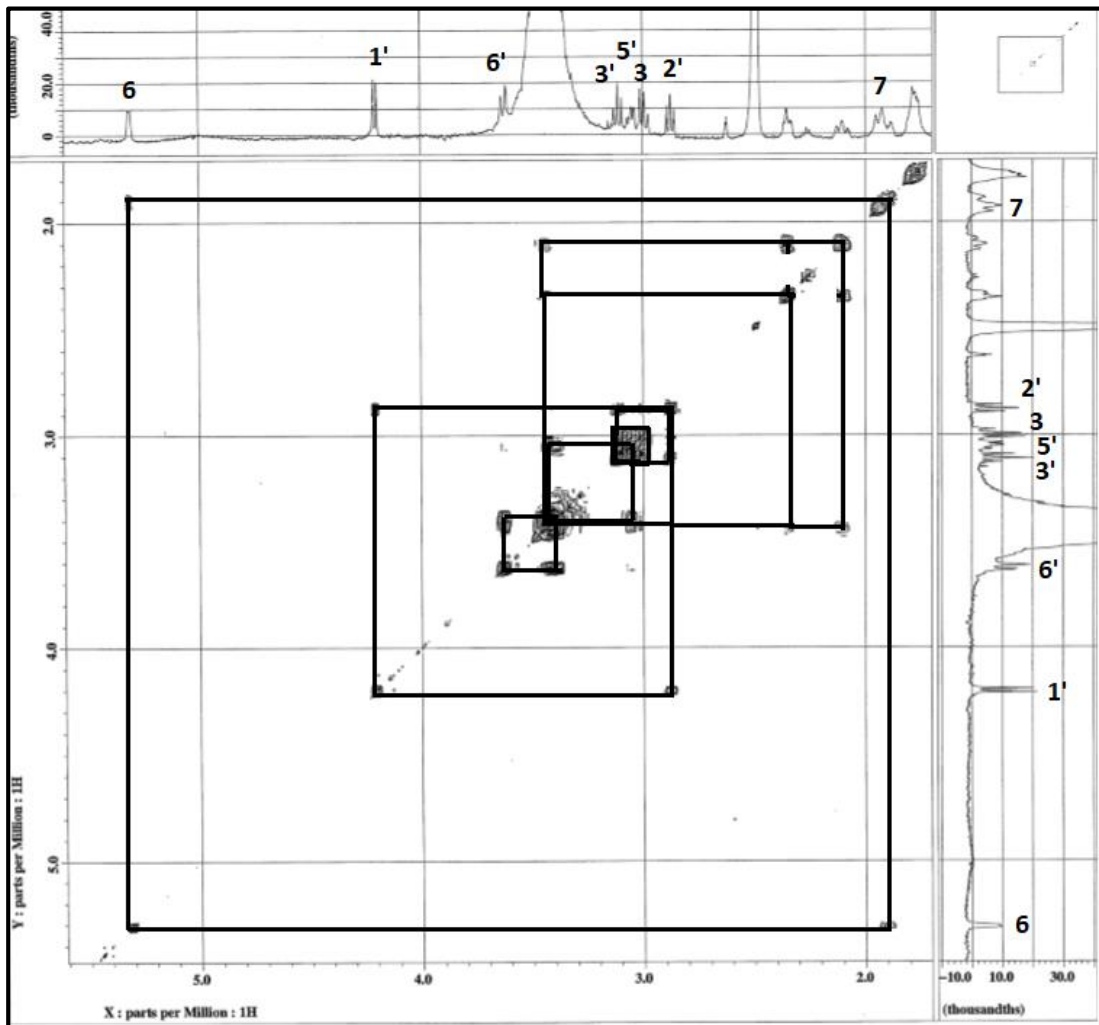
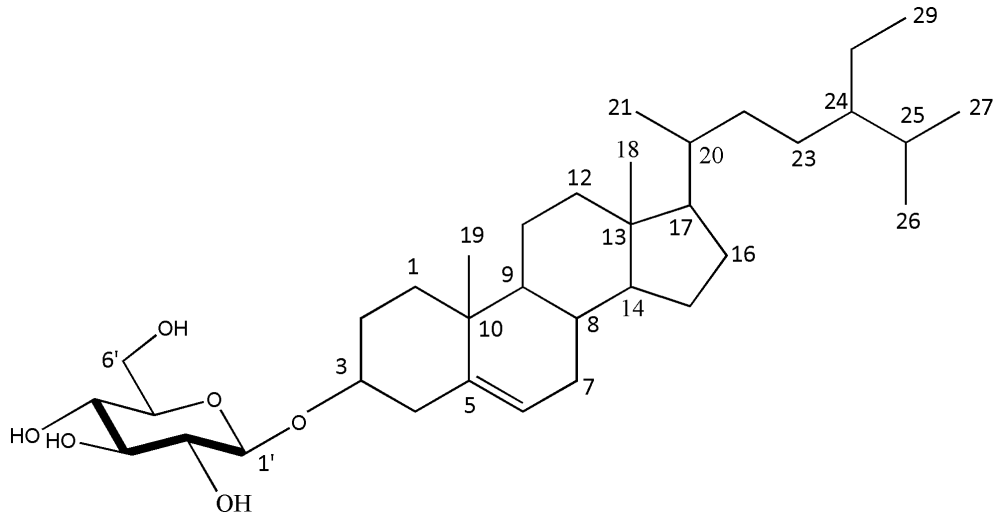
“†” Girişim nedeniyle hesaplanamamıştır.



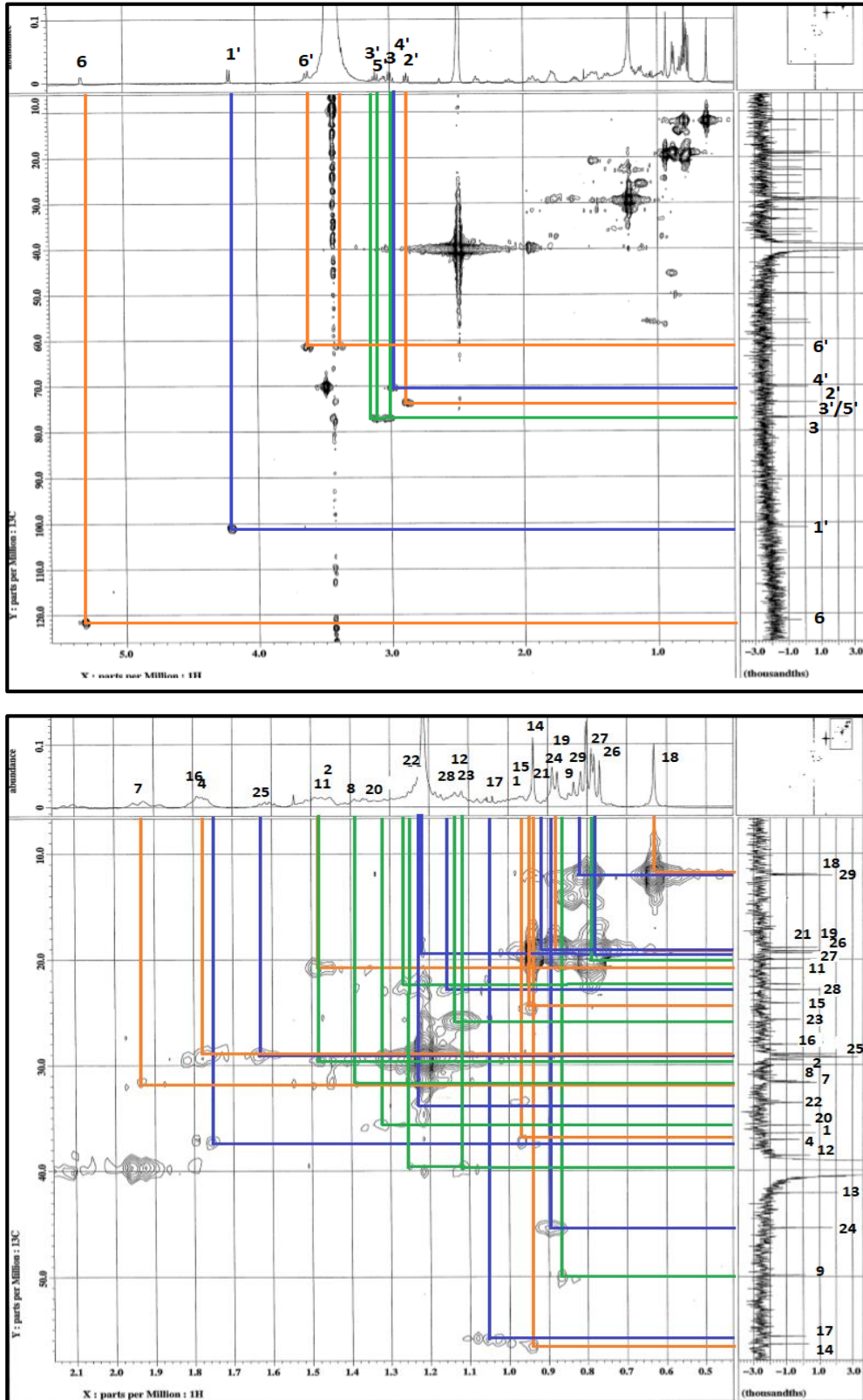
Şekil 4. 47. β -sitosterol-3-O- β -glukopiranozit' in ^1H NMR spektrumu (DMSO, ^1H : 500 MHz)



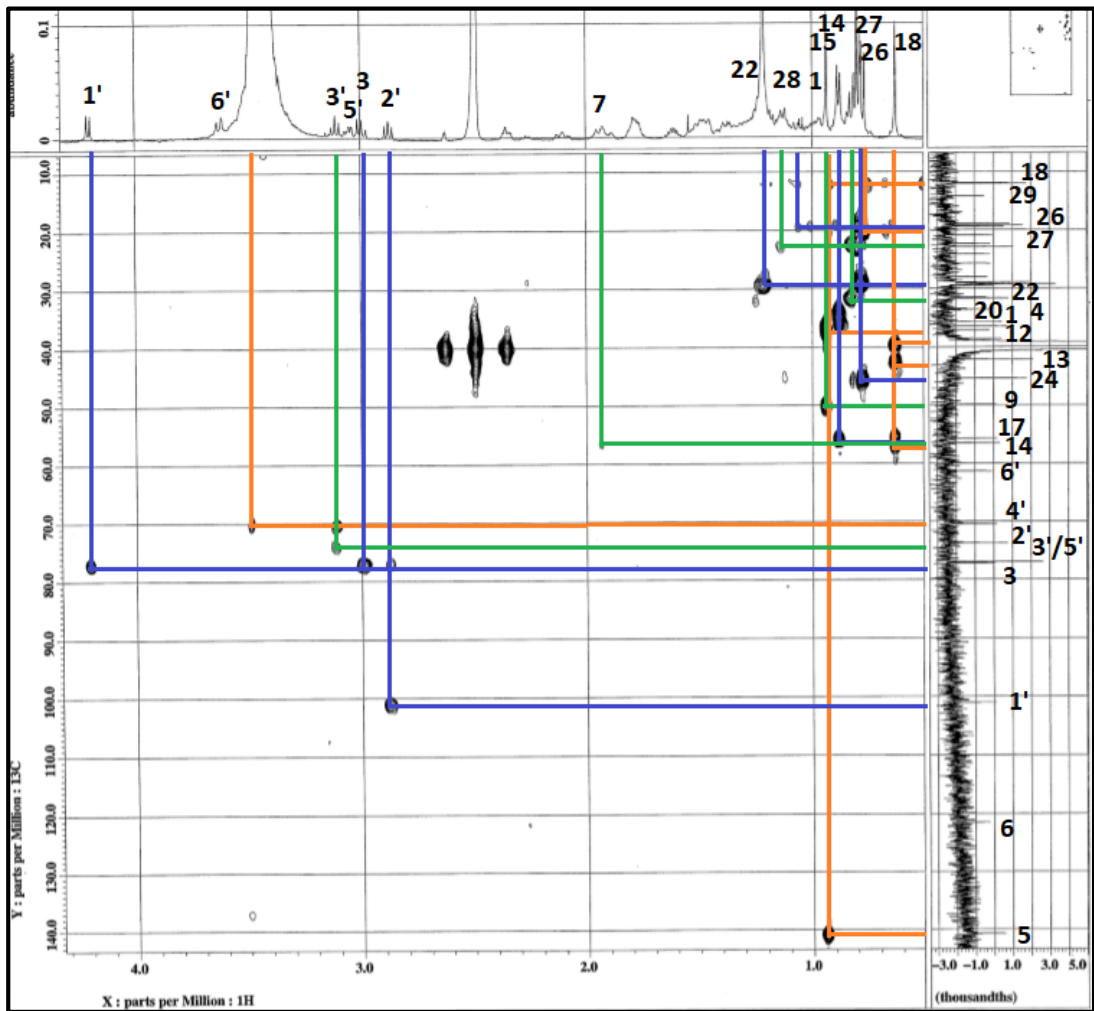
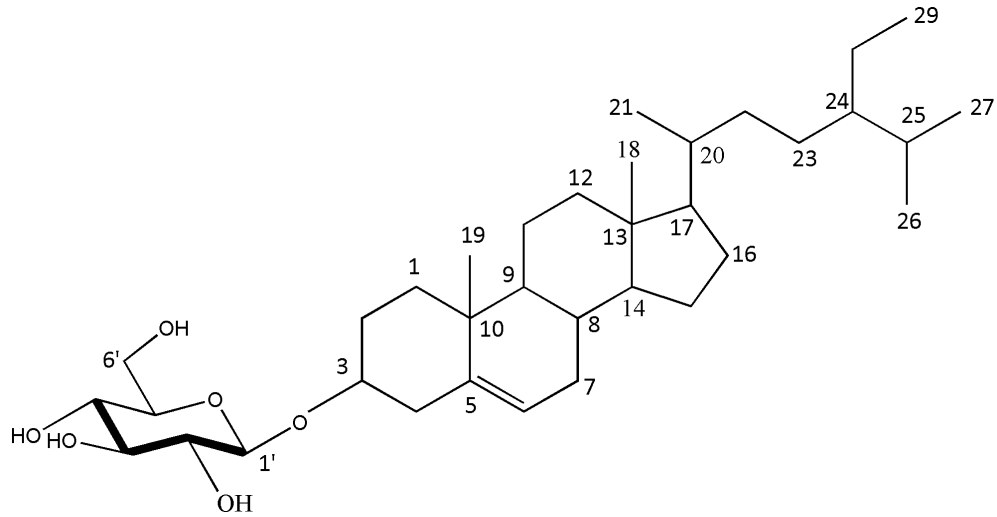
Şekil 4. 48. β -sitosterol-3-O- β -glukopiranozit' in ^{13}C NMR spektrumu (DMSO, ^{13}C : 125 MHz)



Şekil 4. 49. β -sitosterol-3-O- β -glukopiranozit' in 2D ^1H , ^1H homonükleer korelasyonlu spektrumu (COSY)



Şekil 4. 50. β -sitosterol-3-O- β -glukopiranozit' in asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (yakın mesafe) spektrumu (HMQC)



Şekil 4. 51. β -sitosterol-3-O- β -glukopiranozit' in asit'in 2D ^1H , ^{13}C heteronükleer korelasyonlu (uzak mesafe) spektrumu (HMBC)

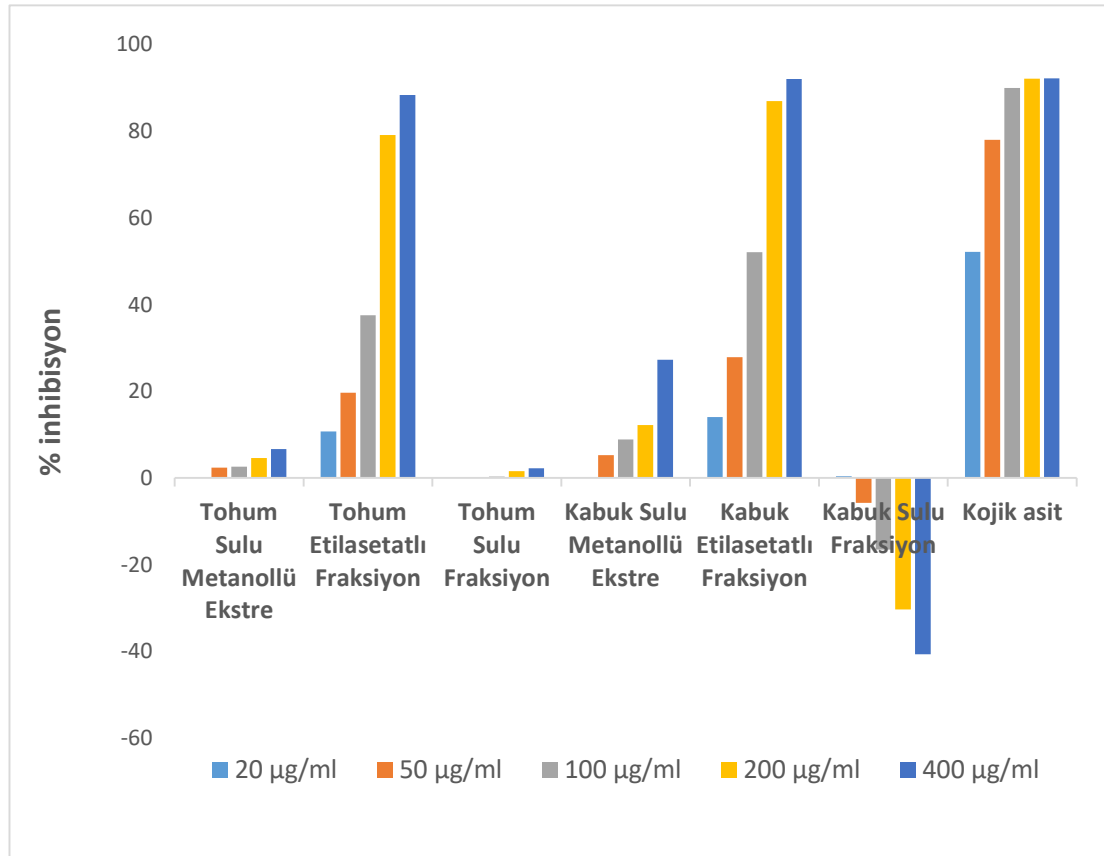
4.1.2. YBSK Çalışmalarına Ait Bulgular

Meyve kabuklarından (endokarp) izole edilen bileşiklerin tohum ekstresinde bulunup bulunmadığı aktivite için önem taşımaktadır. Bu amaçla Gereç ve Yöntem kısmında belirtilen koşullarda kabuktan izole edilen bileşikler, PM-1,PM-2,PM-5,PM-6,PM-7 ve PM-10 önce aynı konsantrasyonda ayrı ayrı, daha sonra her bir bileşik tohum ekstresi ile birlikte eşit miktarda alınarak tatbik edilmiştir. Retansiyon süreleri ve pik şiddetleri incelendiğinde elde edilen piklerin şiddet ve alıkonma sürelerinin farklı olduğu görülmüştür. Böylece izole edilen bileşiklerin tohum ekstresinde bulunmadığı sonucuna varılmıştır. Sonucun olumsuz çıkması nedeniyle kromatogramın konulmasına gerek duyulmamıştır.

4.2. Biyolojik Etki Çalışmalarına Ait Bulgular

4.2.1. Mantar Tirozinaz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstrelerin ve bu ekstrelerden elde edilen etilasetat ve sulu fraksiyonlar ile poliamit kolondan ön fraksiyonlama aşamasında toplanan ana fraksiyonların tirozinaz enzim inhibisyonu 5 farklı konsantrasyonda (20, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml) 3 kez tekrarlanarak test edilmiştir. Doğal bir bileşik olan kojik asit referans bileşik olarak kullanılmıştır.



Şekil 4. 52. *P. mahaleb* ekstrelerinin tirozinaz enzim inhibisyonu

Elde edilen sonuçlar *P. mahaleb* ekstralarının tirozinaz enzim inhibisyonu etkinliğinin konsantrasyonla paralel olarak arttığını göstermektedir (Şekil 4.52). Kabuk ve tohumdan elde edilen etilasetat fraksiyonları diğerlerine göre belirgin oranda yüksek aktivite göstermiştir. Bu fraksiyonlar 400 µg/ml konsantrasyonda tirozinaz enzimini sırasıyla % 92.1 ve % 88.4 oranında inhibe etmiş ve bu oranın aynı konsantrasyondaki standart bileşiğin yüzde inhibisyonuna (%92.22) çok yakın olduğu görülmüştür. Tohuma ait sulu fraksiyonda etkinin yok denecek kadar az olduğu bulunmuştur. Kabuk sulu fraksiyonda ise köre göre absorbans değerinin daha da arttığı, dolayısıyla enzimin inhibe olmak yerine aktive olduğu görülmüştür.

Tirozinaz enzim inhibisyonunun en yüksek bulunduğu kabuk etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının da aktivitesi araştırılmış, 20-400 µg/ml konsantrasyon aralığında inceleme yapılmıştır. Bütün fraksiyonların etkilerinin konsantrasyonla doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. 400 µg/ml konsantrasyonda en yüksek aktiviteyi Fr. D ve Fr. A göstermiştir (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. *P. mahaleb* kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon ana fraksiyonlarının mantar tirozinaz enzim inhibisyonları

Fraksiyonlar	Konsantrasyonlar(µg/ml)/ % İnhibisyon Değerleri				
	20	50	100	200	400
Fr. A	14.22	24.14	44.21	84.10	90.90
Fr. B	12.21	22.16	44.33	70.48	78.83
Fr. C	-	6.47	12.62	23.78	73.14
Fr. D	13.7	25.40	44.57	89.0	90.28
Fr. E	-	6.79	13.43	34.95	55.34

"-": inhibisyon görülmemiştir.

Ekstre ve fraksiyonlardan sonra saf maddelerin de enzim aktivitesi incelenmiştir. Miktarı yetersiz olan PM-11 ve PM-12 dışında tüm maddelerin tirozinaz enzim inhibisyonları 50-400 µg/ml konsantrasyon aralığında incelenerek IC₅₀ değerleri µM olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar; PM-1, PM-3, PM-6 ve PM-15 kodlu bileşiklerin standart bileşik olan kojik asitle karşılaştırıldığında oldukça yüksek etkiye sahip olduklarını göstermiştir (Tablo 4.13). Diğer bileşiklerde ise etki hiç gözlenmemiştir.

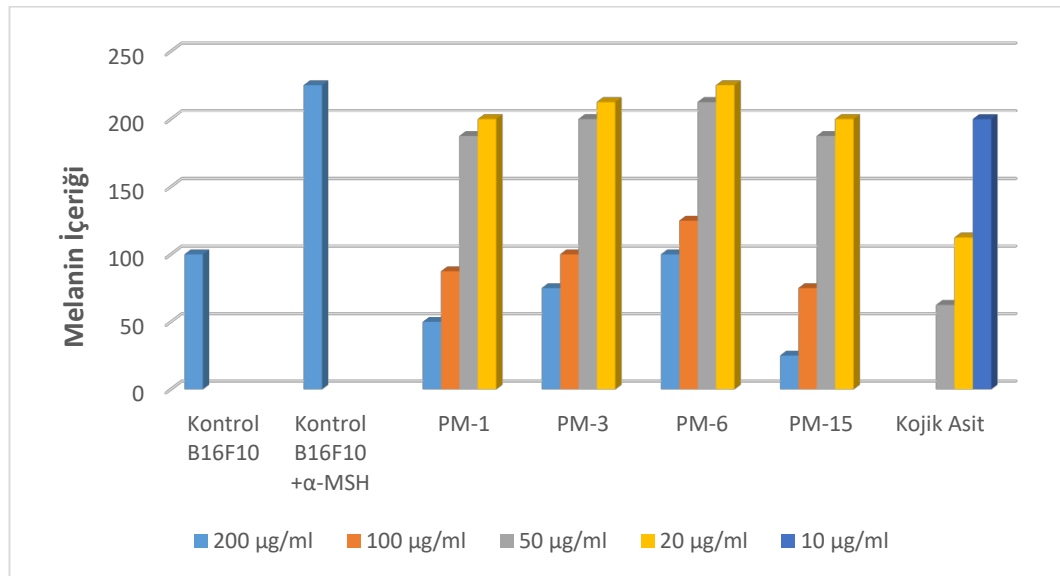
Tablo 4.13. *P. mahaleb* kabuklarından izole edilen saf bileşiklerin mantar tirozinaz enzim inhibisyonları

Saf Maddeler	Konsantrasyonlar(µg/ml)/ % Inhibisyon Değerleri				IC ₅₀ (µM)
	50	100	200	400	
PM-1	27.88	59.85	90.38	98.07	227.2
PM-2	-	-	-	-	
PM-3	22.83	57.45	86.78	95.91	311.9
PM-4	-	-	-	-	
PM-5	-	-	-	-	
PM-6	25.18	44.44	78.02	95.31	369.91
PM-7	-	-	-	-	
PM-10	-	-	-	-	
PM-15	40.22	63.11	89.77	98.22	191.18
Kojik asit					96.13

“-“: inhibisyon görülmemiştir.

4.2.2. Hücresel Melanin İçeriğinin Belirlenmesine Ait Bulgular

Mantar tirozinaz enzimine karşı inhibisyonları yüksek bulunan PM-1, PM-3, PM-6 ve PM-15 kodlu bileşiklerin B16F10 melanoma hücrelerindeki melanin inhibisyonları % olarak hesaplanmıştır. Hücreleri öldürmeyecek bir konsantrasyon aralığında çalışarak canlı hücrelerdeki melanin içeriğinin hesaplamak amaçlandığı için çalışmaya ilk önce bu dört saf bileşiğin B16F10 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi incelenerek başlanmıştır. 20-200 µg/ml konsantrasyonlarda araştırılan sitotoksisite deneylerinde bu aralıkta hiçbir sitotoksik etkinin görülmediği, canlılığın % 100 devam ettiği bulunmuş ve böylece 200 µg/ml konsantrasyonuna güvenle çıkılabileceği görülmüştür (Sitotoksisite çalışmalarına ait bulgular başlığı altında sonuçlar verilmiştir). Kontrol grubunu oluşturan hücreler [α -MSH (melanosit uyarıcı hormon) ile uyarılmış, inhibitör uygulanmamış] ile kıyaslanarak hesaplamalar yapılmıştır. Doğal bir bileşik olan kojik asit referans bileşik olarak kullanılmıştır. Tüm bileşiklerde etkinin konsantrasyonla doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. En yüksek etkiyi gösteren PM-15 kodlu bileşik 200 µg/ml konsantrasyonda α -MSH uygulanmış hücrelerde melanin içeriğini %88.9 inhibe etmiştir (Şekil 4.53).

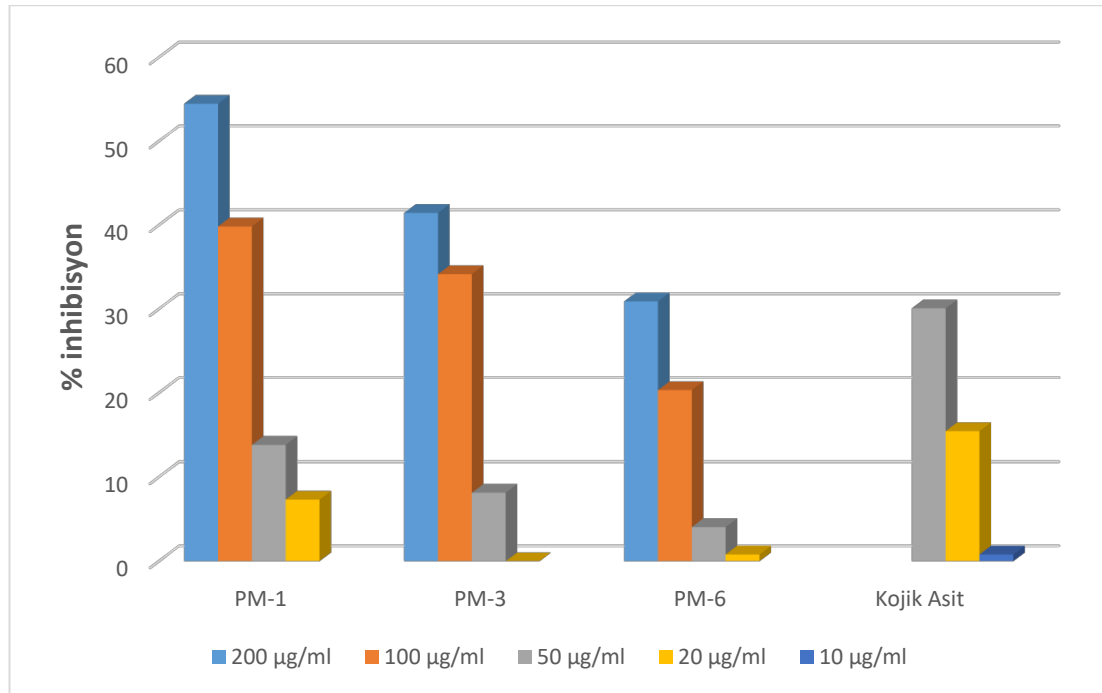


Şekil 4. 53. Saf bileşiklerin B16F10 hücrelerinde melanin içeriği değişiminin kontrol grubu ile kıyaslanması

4.2.3. Hücresel Tirozinaz Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular

Mantar tirozinaz enzimine karşı inhibisyonları yüksek bulunan PM-1, PM-3 ve PM-6 kodlu bileşiklerin 20-200 µg/ml konsantrasyonlarda B16F10 melanoma hücreleri üzerinde hücresel tirozinaz enzim inhibisyonları % olarak hesaplanmıştır. PM-15 kodlu bileşiğin miktarı yeterli olmadığı için aktivitesi incelenememiştir. Kontrol grubunu oluşturan hücreler (α -MSH ile uyarılmış, inhibitor uygulanmamış) ile kıyaslanarak hesaplamalar yapılmıştır. Doğal bir bileşik olan kojik asit referans bileşik olarak kullanılmıştır.

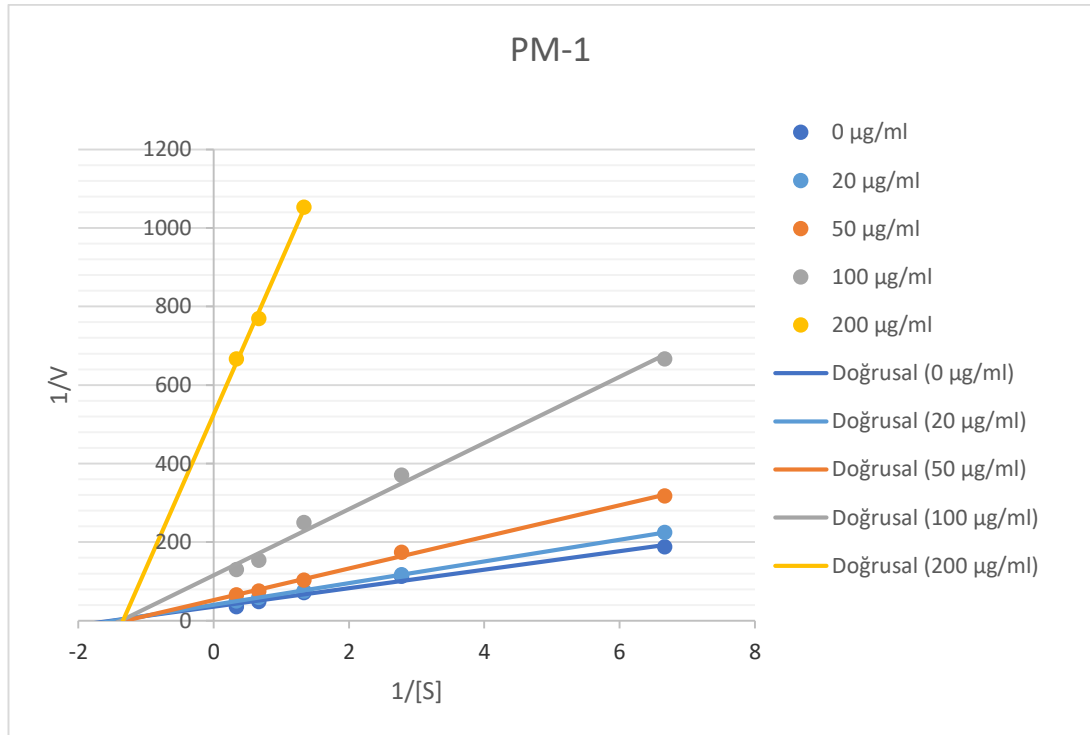
Sonuçlar, mantar tirozinaz enzim inhibisyonundan elde edilen sonuçlar ile paralel çıkmıştır. En yüksek etkiyi PM-1 göstermiş onu sırasıyla PM-3 ve PM-6 takip etmiştir (Şekil 4.54).



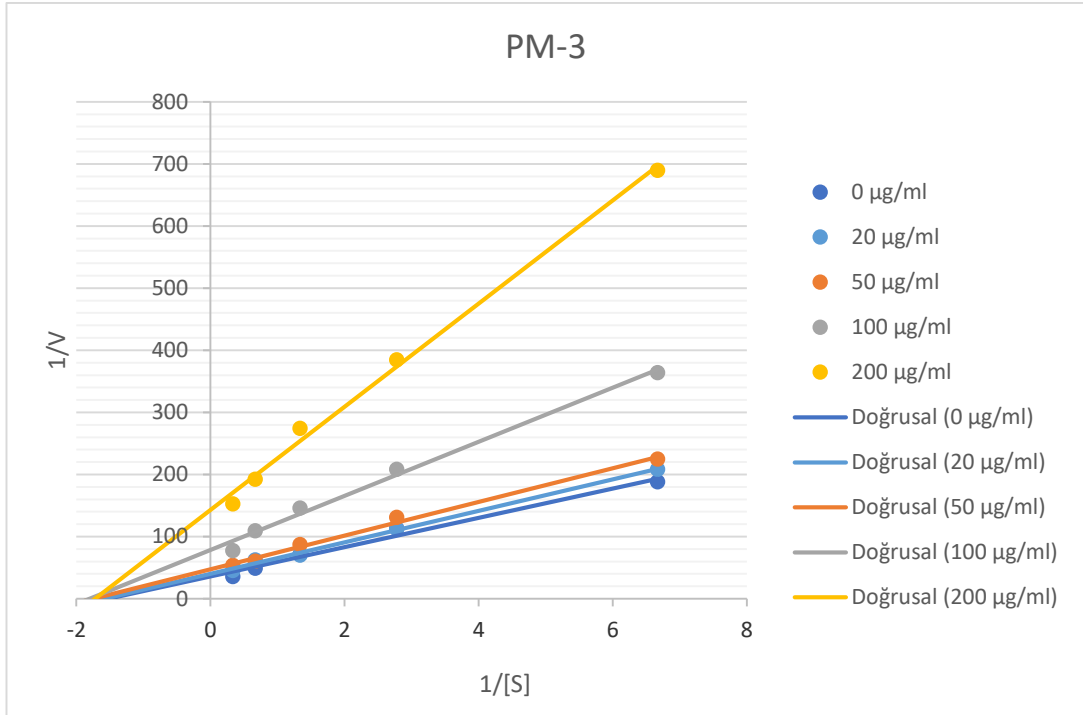
Şekil 4. 54. Saf bileşiklerin B16F10 hücreleri üzerinde hücresel tirozinaz enzim inhibisyonu

4.2.4. Tirozinaz Enzim Kinetiğine Ait Bulgular

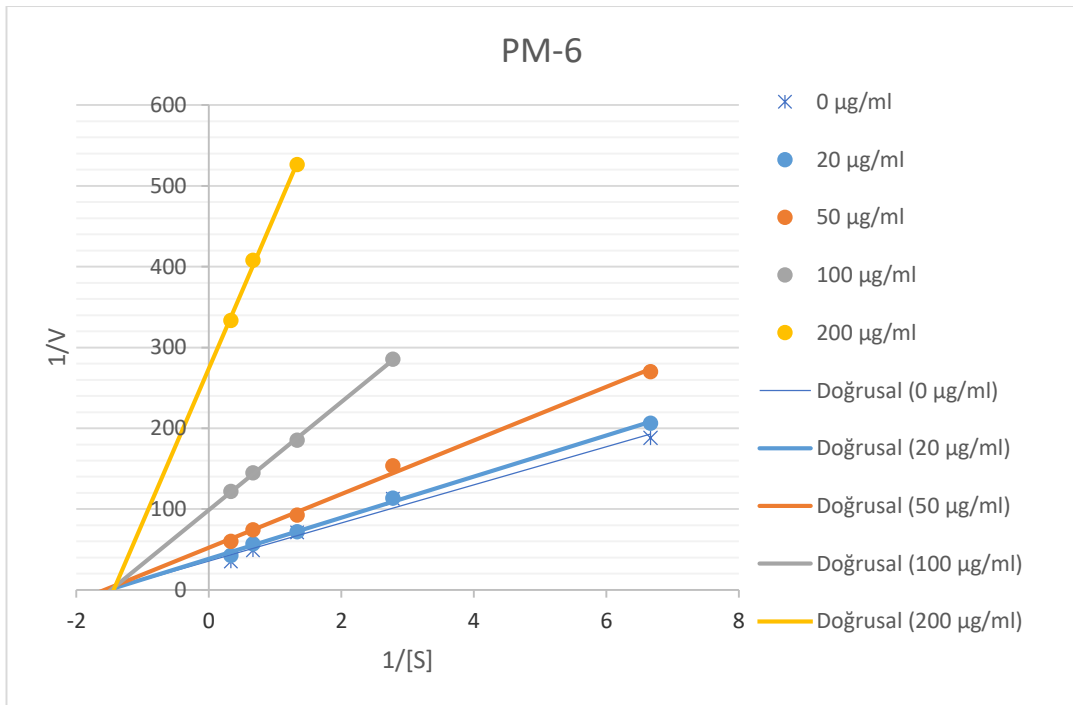
Sırasıyla yaptığımız mantar tirozinaz enzim inhibisyonu, B16F10 melanoma hücreleri üzerinde yapılan melanin ve hücresel tirozinaz enzim inhibisyonu deneylerinin hepsinde aktif bulunan sinnamik asit türevi yapısına sahip PM-1, PM-3, PM-6 ve PM-15 kodlu bileşiklerin enzim kinetiği incelenmiştir. Michaelis-Menten eşitliğinin her iki tarafı $1/v$ şeklinde yazılarak $y=mx+b$ şeklinde bir Lineweaver-Burk eğrisi elde edilmiştir. 0-200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarda hazırlanan inhibitör bileşiklerini içeren çözeltiler ve sadece değişik konsantrasyonlarda substratlar ile oluşturulan eğriler aynı grafikte gösterilmiş ve bu eğrilerin X ekseninde bir noktada kesiştikleri görülmüştür. Tüm bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda PM-1, PM-3, PM-6 ve PM-15 kodlu bileşiklerin dördünün de tirozinaz enzimini yarışmasız (nonkompetitif) bir şekilde inhibe ettiği bulunmuştur.



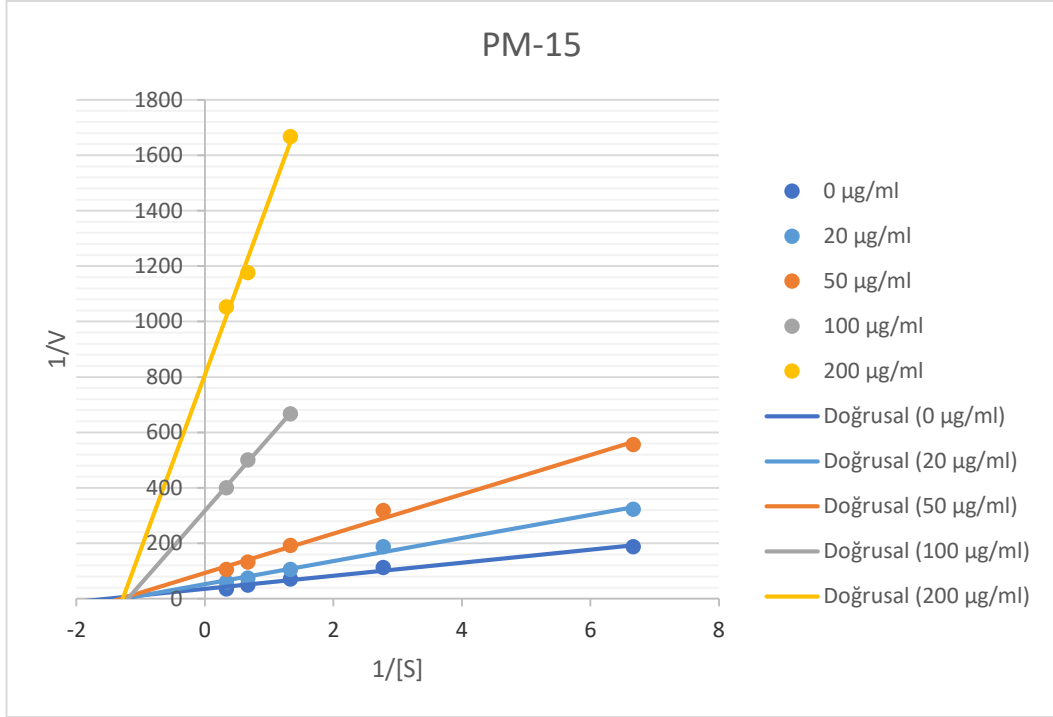
Şekil 4. 55. PM-1 kodlu bileşiğin Lineweaver-Burk eğrisi



Şekil 4. 56. PM-3 kodlu bileşiğin Lineweaver-Burk eğrisi



Şekil 4. 57. PM-6 kodlu bileşiğin Lineweaver-Burk eğrisi



Şekil. 4. 58. PM-15 kodlu bileşiğin Lineweaver-Burk eğrisi

Ardından her bir bileşik için Dixon plot grafiği çizilerek K_i sabitleri hesaplanmıştır. Bu yöntemde en az 3 sabit substrat konsantrasyonunda $1/V-[I]$ grafiği çizilerek kesim noktalarından K_i sabitleri hesaplanmıştır. K_i sabiti inhibitörün enzime olan ilgisini gösteren değerdir. İnhibitörün K_i değeri ne kadar küçük ise enzime olan ilgisi o kadar büyük olur ve enzimin katalitik aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi de o kadar fazla olur. IC_{50} değeri en düşük çıkan en aktif bileşik olan PM-15' in enzime olan ilgisinin (K_i) de en yüksek olduğu görülmektedir.

Ekstrelerdeki Eser Element (Bakır) Düzeyi Ölçümüne Ait Bulgular

Tirozinaz enziminin çekirdeğini oluşturan bakır elementinin enzim üzerindeki aktive edici rolünü araştırmak için tohum ve kabukdan elde edilen ekstre ve fraksiyonlarda bulunan eser element bakır düzeyi mg/kg ekstre olarak hesaplanmıştır. Bakır miktarının meyve kabuklarında tohumlara kıyasla belirgin miktarda fazla olduğu bulunmuştur. En yüksek bakır miktarına sahip kabuk sulu fraksiyonunda bu düzey 11.5 mg/kg ekstre olarak hesaplanmıştır. En düşük düzey ise 0.70 mg/kg ekstre olarak tohumdan elde edilen etilasetat fraksiyonunda bulunmuştur.

Tablo 4. 14. Meyve kabuğu ekstrelerinin Cu düzeyi ölçüm değerleri

	% 70 MeOH ekstresi	Etilasetat fraksiyonu	Sulu fraksiyon
Cu (mg/kg ekstre)	5.0	5.45	11.50

Tablo 4. 15. Tohum ekstrelerinin Cu düzeyi ölçüm değerleri

	% 70 MeOH ekstresi	Etilasetat fraksiyonu	Sulu fraksiyon
Cu (mg/kg ekstre)	4.41	0.70	4.62

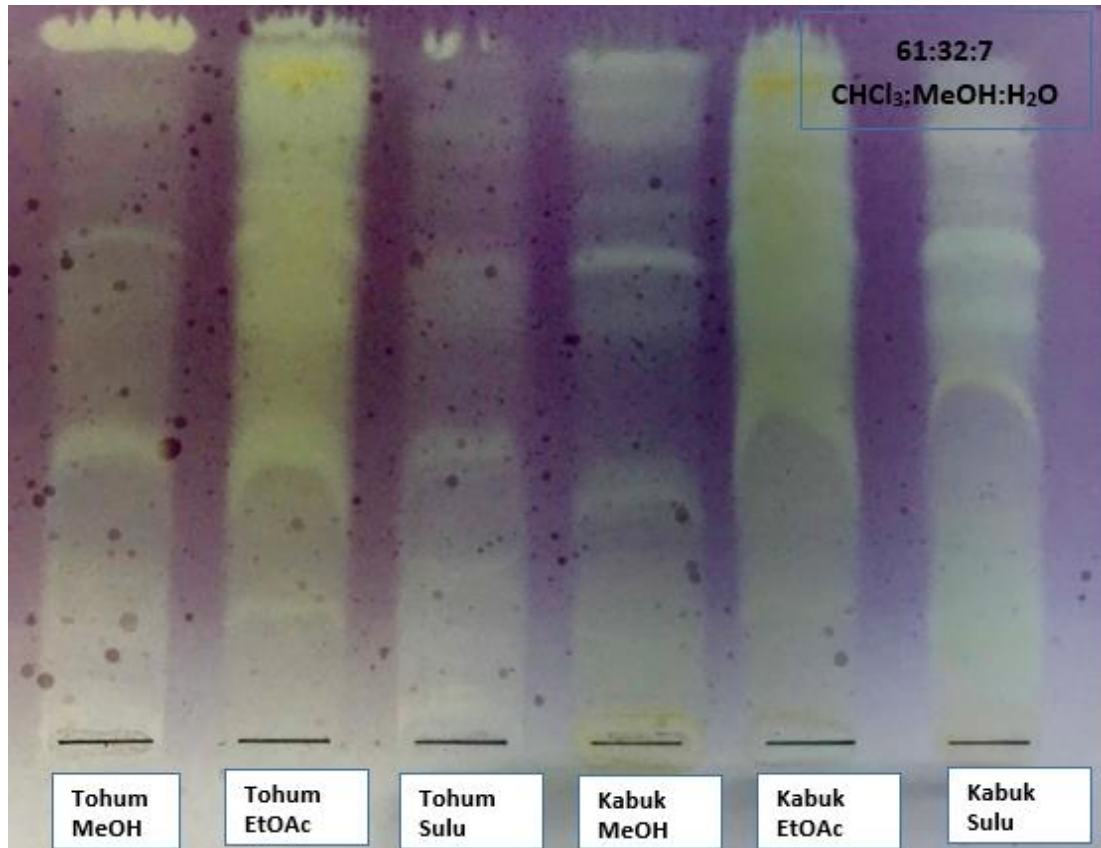
4.2.5. Antioksidan Etkinlik Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular

a) DPPH Radikal Süpürücü Etkinlik Tayini Bulguları

DPPH radikal süpürücü etkinlik tayini 2 farklı yöntem kullanılarak test edilmiştir.

- Biyootografik Yöntem ile DPPH Radikal Süpürücü Etki Tayinine Ait Bulgular

Tohum ve kabuktan elde edilen sulu metanollü ekstratlar ile bu ekstratın sıvı-sıvı partiyonu ile elde edilen etilasetatlı ve sulu ekstratların DPPH radikal süpürücü etkisine yönelik ön bilgi edinilmesi amacıyla bu yöntem kullanılmıştır. Kuruyan plağın üzerine hazırlanan DPPH çözeltisi pülverizatör yardımı ile tatbik edilmiştir. Kabuk ve tohum ekstratlarının her ikisinde de etilasetatlı ekstratlar ana ekstrat ve sulu ekstrate göre daha fazla radikal süpürücü etki göstermişler, bu nedenle mor zemin üzerinde belirgin sarı renkte görülmüşlerdir (Şekil 4.59).



Şekil 4. 59. *P. mahaleb* ekstrat ve fraksiyonlarının biyootografik yöntem ile DPPH radikal süpürücü etki tayini

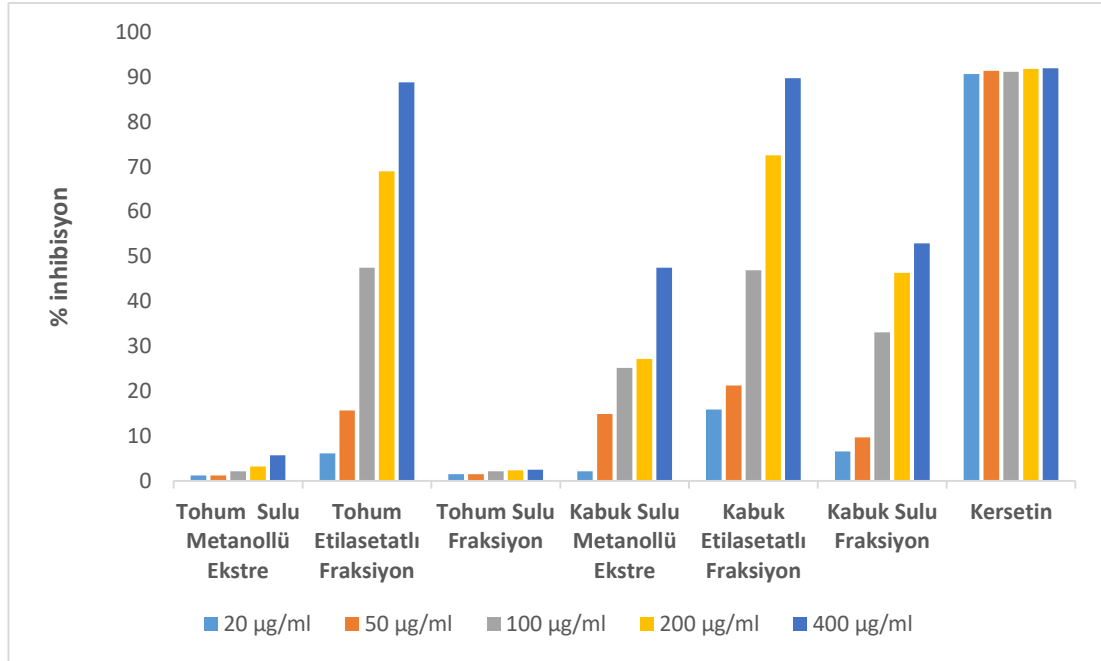
-Spektroskopik Yöntem ile DPPH Radikal Süpürücü Etki Tayini

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstrelerin ve bu ekstrelerden elde edilen etilasetat ve sulu fraksiyonlar ile poliamit kolondan ön fraksiyonlama aşamasında toplanan ana fraksiyonların DPPH radikal süpürücü etkileri 5 farklı konsantrasyonda (20, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml) 3 kez tekrarlanarak test edilmiştir. Doğal bir antioksidan olan kersetin referans bileşik olarak kullanılmıştır.

Elde edilen sonuçlar *P. mahaleb* ekstrelerinin DPPH radikaline karşı süpürücü etkinliğinin konsantrasyonla paralel olarak arttığını göstermektedir. Kabuk ve tohumdan elde edilen etilasetat fraksiyonları diğerlerine göre belirgin oranda yüksek aktivite göstermiştir (Tablo 4.16). Bu fraksiyonlar 400 µg/ml konsantrasyonda DPPH radikalini sırasıyla % 89.73 ve % 88.82 oranında süpürmüş ve bu oranın aynı konsantrasyondaki standart bileşiğin yüzde inhibisyonuna (% 91.96) çok yakın olduğu görülmüştür.

Tablo 4.16. *P. mahaleb* ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkileri

EKSTRELER	Konsantrasyonlar(µg/ml)/ % İnhibisyon Değerleri				
	20	50	100	200	400
Tohum					
% 70 MeOH ekstresi	1.20	1.20	2.11	3.16	5.72
Etil asetat fraksiyonu	6.10	15.71	47.52	69.98	88.82
Sulu fraksiyon	1.5	1.5	2.1	2.3	2.5
Kabuk					
% 70 MeOH ekstresi	2.14	14.90	25.16	27.26	47.53
Etil asetat fraksiyonu	15.91	21.22	46.94	72.55	89.73
Sulu fraksiyon	6.57	9.68	33.10	46.37	52.94
Kersetin	90.95	91.4	91.2	91.85	91.96



Şekil 4. 60. *P. mahaleb* ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkileri

P. mahaleb kabuklarından elde edilen etil asetatlı fraksiyonun poliamit kolon ana fraksiyonlarının da DPPH radikalini süpürücü etkileri incelenmiştir. Fraksiyonların da aynı şekilde konsantrasyona bağlı olarak etkinliklerinin arttığı görülmüştür. Bütün fraksiyonlarda belirgin antioksidan etki görülmüş, yüzde inhibisyonun 400 µg/ml konsantrasyonda % 74-91 arasında değiştiği bulunmuştur (Tablo 4.17).

Tablo 4. 17. *P. mahaleb* kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının dpph radikalini süpürücü etkileri

Fraksiyonlar	Konsantrasyonlar(µg/ml)/ % İnhibisyon Değerleri				
	20	50	100	200	400
Fr. A	12.6	36.2	38.67	55.35	74.02
Fr. B	32.6	40.57	63.6	84.45	91.47
Fr. C	39.9	49.48	76.68	88.34	91.56
Fr. D	40.2	49.63	76.87	90.23	91.75
Fr. E	32.22	32.25	47.1	75.16	88.62

a) Nitrik Oksit (NO) Radikalini Süpürücü Etkinlik Tayini Bulguları

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstrelerin ve bu ekstrelerden elde edilen etil asetat ve sulu fraksiyonlar ile poliamit kolondan ön fraksiyonlama aşamasında toplanan ana fraksiyonların NO radikalini süpürücü etkileri test edilmiştir. Numuneler 5 farklı konsantrasyonda çalışılmış, referans bileşik olarak doğal bir antioksidan olan kersetin kullanılmıştır (Tablo 4.18).

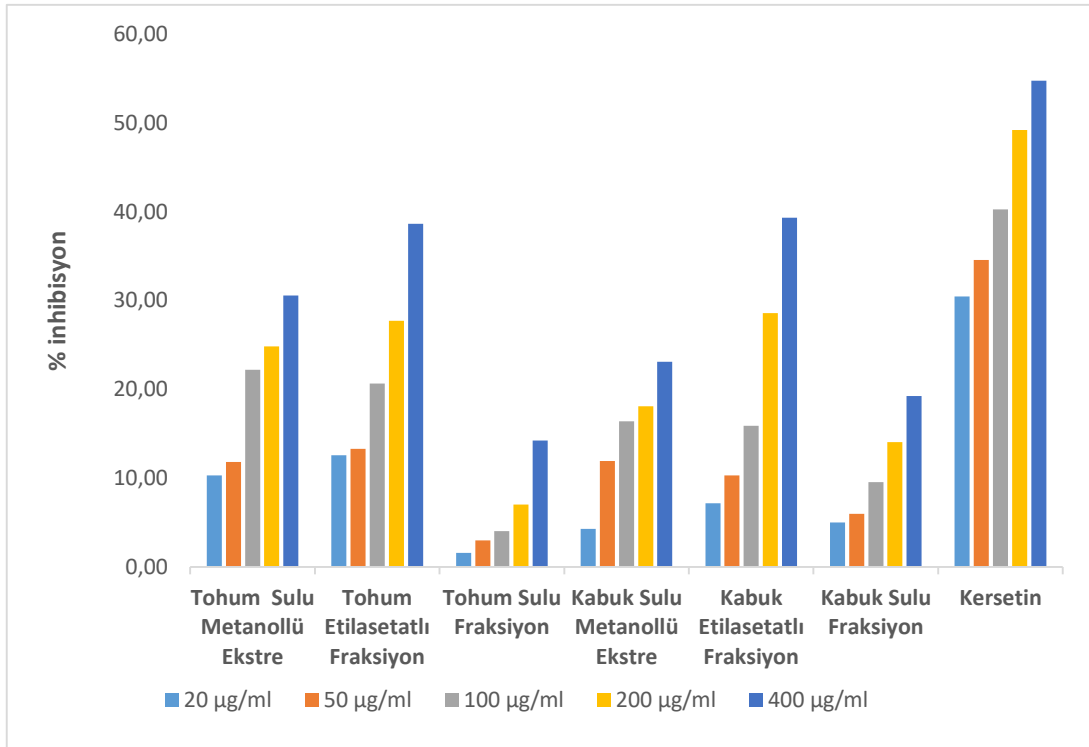
Tablo 4.18. *P. mahaleb* ekstrelerinin NO radikalini süpürücü etkileri

EKSTRELER	Konsantrasyonlar($\mu\text{g/ml}$)/ % İnhibisyon Değerleri				
	20	50	100	200	400
Tohum					
% 70 MeOH ekstresi	10.31	11.8	22.19	24.81	30.56
Etil asetat fraksiyonu	12.55	13.3	20.63	27.72	38.64
Sulu fraksiyon	1.57	2.99	4.03	7.02	14.22
Kabuk					
% 70 MeOH ekstresi	4.26	11.91	16.38	18.10	23.09
Etil asetat fraksiyonu	7.17	10.31	15.9	28.57	39.32
Sulu fraksiyon	5.01	5.97	9.53	14.04	19.22
Kersetin	30.44	34.55	40.26	49.18	54.76

Tablo 4.19. *P. mahaleb* kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının NO radikalini süpürücü etkileri

Fraksiyonlar	Konsantrasyonlar($\mu\text{g/ml}$)/ % İnhibisyon Değerleri				
	20	50	100	200	400
Fr. A	5.1	6.27	6.81	16.05	19.09
Fr. B	0.5	1.21	1.54	1.7	11.28
Fr. C	17.86	19.88	23.31	25.26	39.15
Fr. D	2.67	5.50	15.64	22.60	38.62
Fr. E	2.48	5.1	5.4	9.15	18.12

Hem tohum hem de kabuktan elde edilen etilasetatlı fraksiyonlar en yüksek aktivite gösterirken, tohumdan elde edilen sulu fraksiyon en düşük aktiviteyi göstermiştir. Poliamit kolon fraksiyonlarında ise en yüksek etki 400 µg/ml konsantrasyonda % 39.15 inhibisyon gösteren %50 metanol ile alınmış Fr. C ve % 38.62 inhibisyon gösteren % 75 metanol ile alınmış Fr. D' de görülmüştür.



Şekil 4. 61. *P. mahaleb* ekstrelerinin NO radikalini süpürücü etkileri

b) Süper Oksit (SO) Radikalini Süpürücü Etkinlik Tayini Bulguları

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstrelerin ve bu ekstrelerden elde edilen etil asetat ve sulu fraksiyonlar ile poliamit kolondan ön fraksiyonlama aşamasında toplanan ana fraksiyonların SO radikalini süpürücü etkileri test edilmiştir. Numuneler 5 farklı konsantrasyonda çalışılmış, referans bileşik olarak doğal bir antioksidan olan kersetin kullanılmıştır

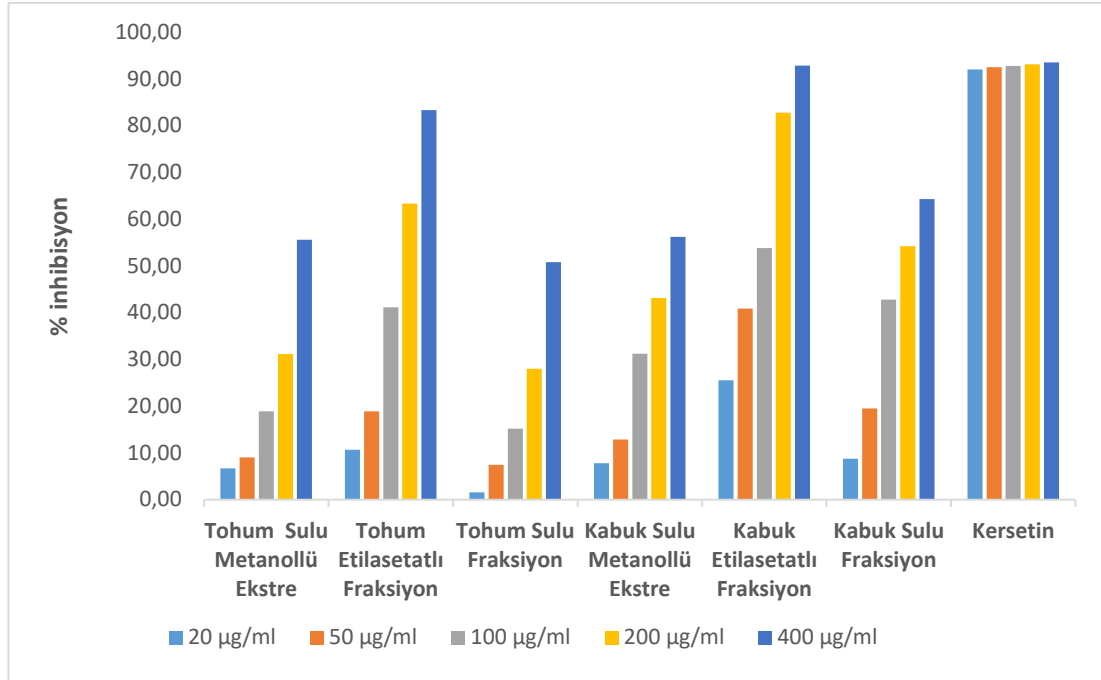
Tablo 4.20. *P. mahaleb* ekstralarının SO radikalini süpürücü etkileri

Ekstreler	Konsantrasyonlar($\mu\text{g/ml}$)/ % İnhibisyon Değerleri				
	20	50	100	200	400
Tohum					
% 70 MeOH ekstresi	6.6	9.66	18.88	31.11	55.56
Etil asetat fraksiyonu	10.6	18.89	41.11	63.34	83.33
Sulu fraksiyon	1.57	7.44	15.21	28	50.8
Kabuk					
% 70 MeOH ekstresi	7.8	12.83	31.24	43.12	56.24
Etil asetat fraksiyonu	25.55	40.89	53.78	82.77	92.84
Sulu fraksiyon	8.72	19.5	42.8	54.22	64.3
Kersetin	92	92.5	92.8	93.1	93.5

Tablo 4. 21. *P. mahaleb* kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının SO radikalini süpürücü etkileri

Fraksiyonlar	Konsantrasyonlar($\mu\text{g/ml}$)/ % İnhibisyon Değerleri				
	20	50	100	200	400
Fr. A	9.81	26.37	40.65	48.7	69.34
Fr. B	1.09	9.89	25.27	26.37	49.4
Fr. C	25.59	49.97	70.25	87.32	93.42
Fr. D	24.17	48.72	71.50	88.50	93.50
Fr. E	1.40	5.49	23.07	43.95	54.94

Tohum ve kabuktan elde edilen etilasetatlı fraksiyonlar en yüksek aktivite gösterirken, sulu fraksiyonlar en düşük aktiviteyi göstermiştir. Poliamit kolon fraksiyonlarında ise en yüksek etki 400 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda % 93.5 SO süpürücü etkinlik gösteren %75 metanolle alınmış Fr. D' de olduğu görülmüştür.



Şekil 4. 62. *P. mahaleb* ekstralarının SO radikalini süpürücü etkileri

d) ABTS Radikali Süpürücü Etkinlik Tayini

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstraların ve bu ekstralardan elde edilen etil asetat ve sulu fraksiyonlar ile poliamit kolondan ön fraksiyonlama aşamasında toplanan ana fraksiyonların ABTS radikalini süpürücü etkileri test edilmiştir. Numuneler 5 farklı konsantrasyonda çalışılmış, referans bileşik olarak troloks ve doğal bir antioksidan olan kersetin kullanılmıştır. Aktiviteler % inhibisyon ve standart olarak kullanılan Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit)'un eşdeğeri (TEAC) cinsinden ifade edilmiştir. TEAC değeri 1 g ekstradaki Troloks'a eşdeğer antioksidan özellik gösteren bileşiklerin mg cinsinden miktarı şeklinde verilmiştir. Test edilen ekstralar içinde *P. mahaleb* tohum ve kabuklarının etilasetat fraksiyonları ABTS radikali karşı konsantrasyona bağlı en yüksek etkiyi göstermiştir.

Tablo 4.22. *P. mahaleb* ekstralarının ABTS radikalini süpürücü etkileri

Ekstreler	Konsantrasyonlar($\mu\text{g/ml}$)/ % İnhibisyon Değerleri				
	20	50	100	200	400
Tohum					
% 70 MeOH ekstresi	11.15	13.1	13.49	17.3	30.4
Etilasetat fraksiyonu	49.62	50.73	61.59	69.02	85.66
Sulu fraksiyon	10.15	12.35	15.92	23.49	33.8
Kabuk					
% 70 MeOH ekstresi	15.01	20.4	32.19	53.07	83.09
Etilasetat fraksiyonu	45.46	48.74	55.44	70.61	90.06
Sulu fraksiyon	19.36	22.25	28.85	59.67	75.35
Kersetin	92.7	94.36	94.63	94.77	94.88
Troloks	75.98	93.67	94.22	94.22	94.36

Tablo 4.23. *P. mahaleb* kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının ABTS radikalini süpürücü etkileri

Fraksiyonlar	Konsantrasyonlar($\mu\text{g/ml}$)/ % İnhibisyon Değerleri				
	20	50	100	200	400
Fr. A	19.23	24,59	45.91	59,67	92,13
Fr. B	68.24	70.53	73.42	87.18	94.88
Fr. C	64.44	74.21	86.73	93.98	95.08
Fr. D	63.52	78.92	92.95	93.23	94.33
Fr. E	8.63	12.8	15.1	19.36	33.53

Poliamit kolondan %100 metanol ile alınan fraksiyonlar hariç diğer tüm fraksiyonların oldukça yüksek TEAC değerine ve ABTS radikali süpürücü etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Fr. D 466.68 mg/ g ekstre TEAC değeri ile en etkili fraksiyon olmuştur.

Tablo 4.24. Tohum ekstralarının TEAC değerleri

	% 70 MeOH ekstresi	Etilasetat fraksiyonu	Sulu fraksiyon
mg Troloks/g ekstre	43.90	196.52	51.61

Tablo 4.25. Kabuk ekstralarının TEAC değerleri

	% 70 MeOH ekstresi	Etilasetat fraksiyonu	Sulu fraksiyon
mg Troloks/g ekstre	103.23	177	92.64

Tablo 4.26. Poliamit kolon ana fraksiyonlarının TEAC değerleri

	Fr. A	Fr. B	Fr. C	Fr. D	Fr. E
mg Troloks/g ekstre	146.77	348.61	429.08	466.68	49.01

e) Bakır Redükleyici Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstraların ve bu ekstralardan elde edilen etilasetat ve sulu fraksiyonlar ile poliamit kolondan ön fraksiyonlama aşamasında toplanan ana fraksiyonların bakır redükleyici antioksidan etkileri test edilmiştir. Numuneler 5 farklı konsantrasyonda çalışılmış, referans bileşik olarak troloks ve doğal bir antioksidan olan kersetin kullanılmıştır. Aktiviteler standart olarak kullanılan Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit)'un eşdeğeri cinsinden ifade edilmiştir. CUPRAC değeri 1 g ekstradaki Troloks' a eşdeğer antioksidan özellik gösteren bileşiklerin mg cinsinden miktarı şeklinde verilmiştir.

Test edilen ekstralar içinde *P. mahaleb* tohum ve kabuklarının etilasetat fraksiyonları kuprik iyon indirgeme antioksidan kapasitesi konsantrasyona bağlı en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Standart olarak kullanılan ve doğal bir antioksidan olan kersetinin CUPRAC değeri de Troloks ile karşılaştırılmış, troloksa kıyasla yaklaşık 2.8 kat daha yüksek etki gösterdiği bulunmuştur (Tablo 4.27, Tablo 4.28).

Tablo 4. 27. Tohum ekstralarının CUPRAC değerleri

	% 70 MeOH ekstresi	Etilasetat fraksiyonu	Sulu fraksiyon	Kersetin
mg Troloks/g ekstre	69.56	257.76	22.98	2814

Tablo 4. 28. Kabuk ekstralarının CUPRAC değerleri

	% 70 MeOH ekstresi	Etilasetat fraksiyonu	Sulu fraksiyon	Kersetin
mg Troloks/g ekstre	69.56	306.83	86.33	2814

Poliamit kolondan %100 metanol ve %100 su ile alınan fraksiyonlar hariç diğer tüm fraksiyonların oldukça yüksek CUPRAC değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Fr. C 386.82 mg/ g ekstre CUPRAC değeri ile en etkili fraksiyon olmuştur (Tablo 4.29).

Tablo 4. 29. Poliamit kolon ana fraksiyonlarının CUPRAC değerleri

	Fr. A	Fr. B	Fr. C	Fr. D	Fr. E
mg Troloks/g ekstre	70.19	324.84	386.82	371.42	15.82

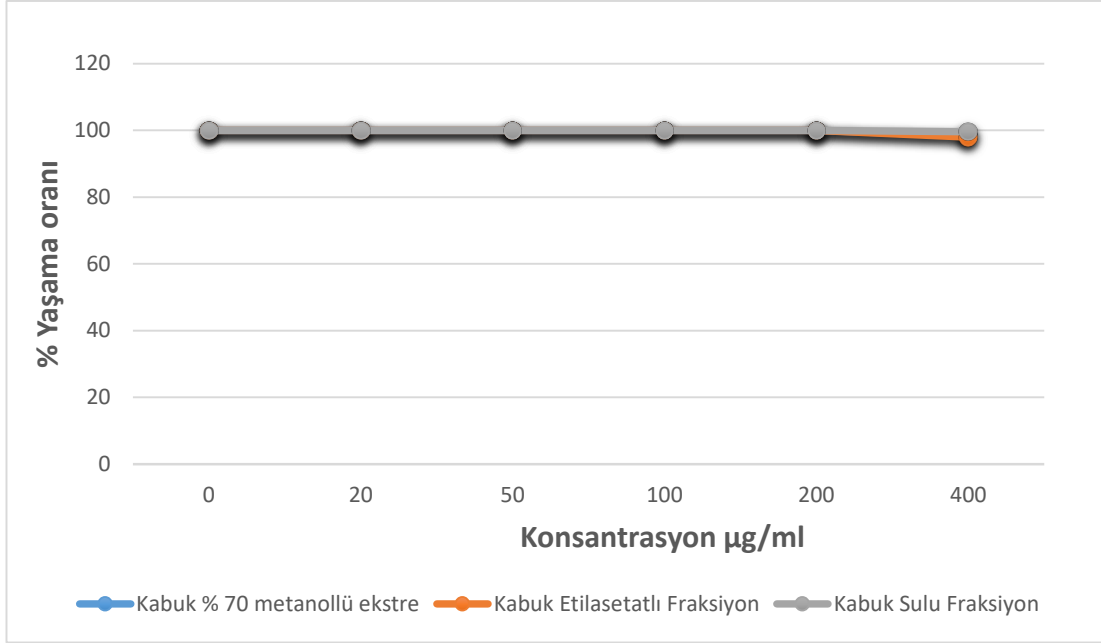
4.2.6. Sitotoksik Etki Çalışmalarına Ait Bulgular

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstrelerin ve bu ekstrelerden elde edilen etil asetat ve sulu fraksiyonlar ile poliamit kolon ana fraksiyonlarının L929 sağlıklı hücreleri ile B16F10, A2058, HeLa kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri MTT yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Bu amaçla ekstre ve fraksiyonlar 5 farklı konsantrasyonda test edilmiştir. Bu konsantrasyonlar ekstreler için 400, 200, 100, 50 ve 20 µg/ml, poliamit kolondan elde edilen ana fraksiyonlar için 200, 100, 50, 20, 10 µg/ml olarak belirlenmiştir. Sağlıklı ve kanserli hücrelerle ayrı ayrı yapılan aktivite çalışmalarlarıyla ekstre ve fraksiyonların hücreler üzerindeki seçicilikleri araştırılmıştır. Ayrıca sağlıklı hücreler üzerindeki sitotoksositeye bakılarak aktivite çalışmalarında güvenle kullanılabilir en yüksek konsantrasyon belirlenmiştir.

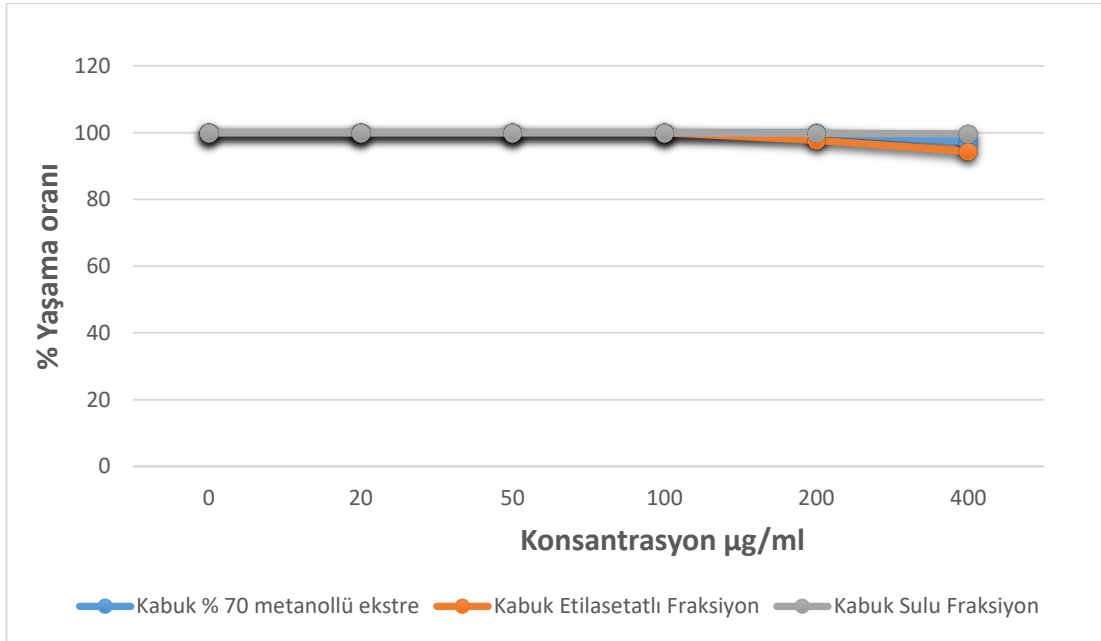
Karsinoma hücre serilerine karşı sitotoksik etkinin araştırıldığı çalışmalarda piyasada antikanser olarak kullanılışları bulunan etopozit ve sisplatin referans bileşik olarak kullanılmıştır.

a) L929 Hücrelerine Karşı Sitotoksik Etki Bulguları

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstrelerin ve bu ekstrelerden elde edilen etil asetat ve sulu fraksiyonlar ile poliamit kolondan ön fraksiyonlama aşamasında toplanan ana fraksiyonların L929 hücre serisine karşı sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Tohumdan elde edilen ana ekstre ve fraksiyonlarda 20-400 µg/ml konsantrasyon aralığında hiçbir sitotoksik etki görülmemiştir. Meyve kabuklarında ise sadece etil asetatlı fraksiyonun 400 µg/ml' deki konsantrasyonunda çok düşük bir inhibisyon (% 5.6) bulunmuştur.



Şekil 4. 63. *P. mahaleb* tohum ekstre ve ana fraksiyonlarının L929 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi

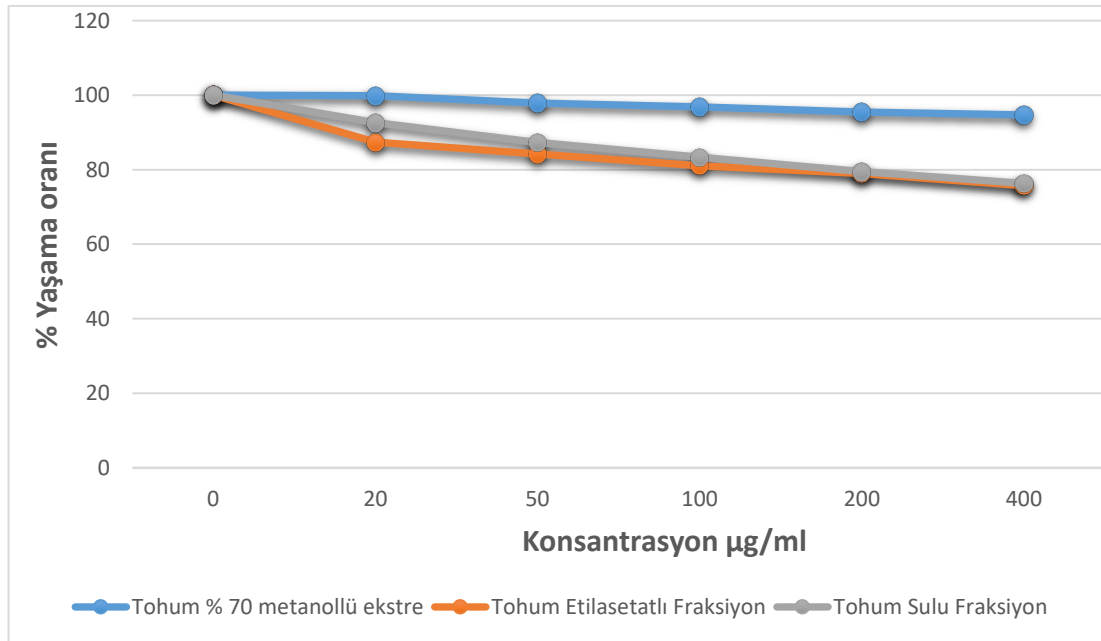


Şekil 4. 64. *P. mahaleb* kabuk ekstre ve ana fraksiyonlarının L929 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi

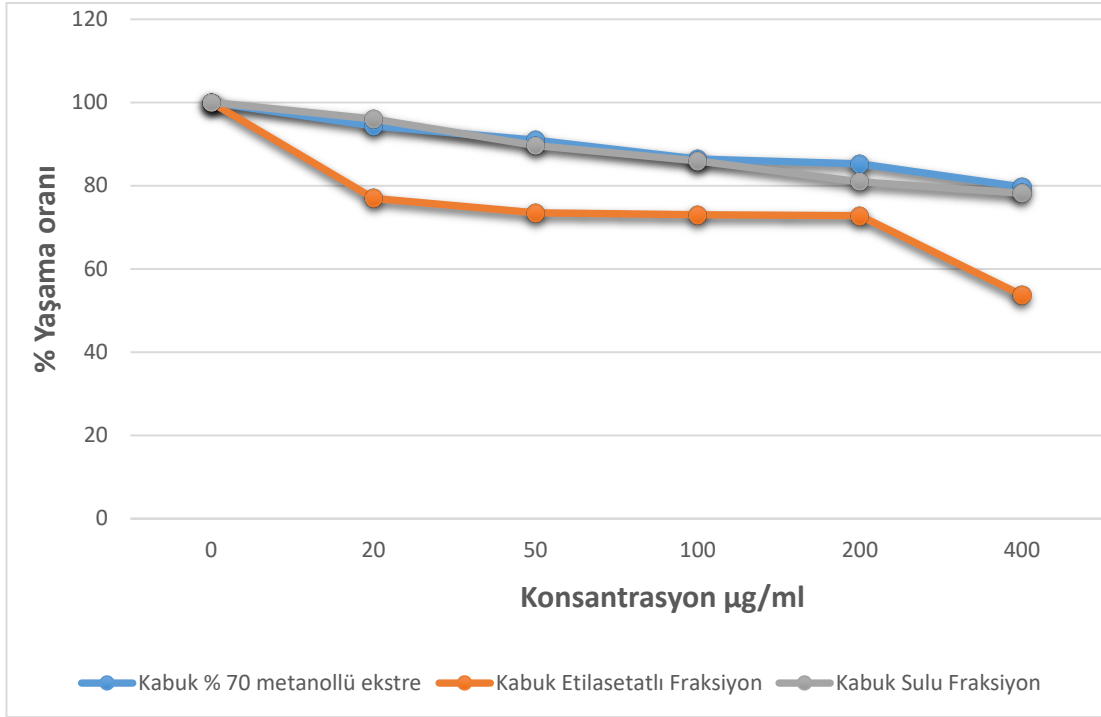
P. mahaleb etilasetatlı ana fraksiyonunun poliamit fraksiyonları (Fr. A-D) 10, 20, 50, 100 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarda araştırılmış, belirtilen aralıklarda hücre canlılığının % 100 olduğu bulunmuştur.

b) B16F10 Hücrelerine Karşı Sitotoksik Etki Bulguları

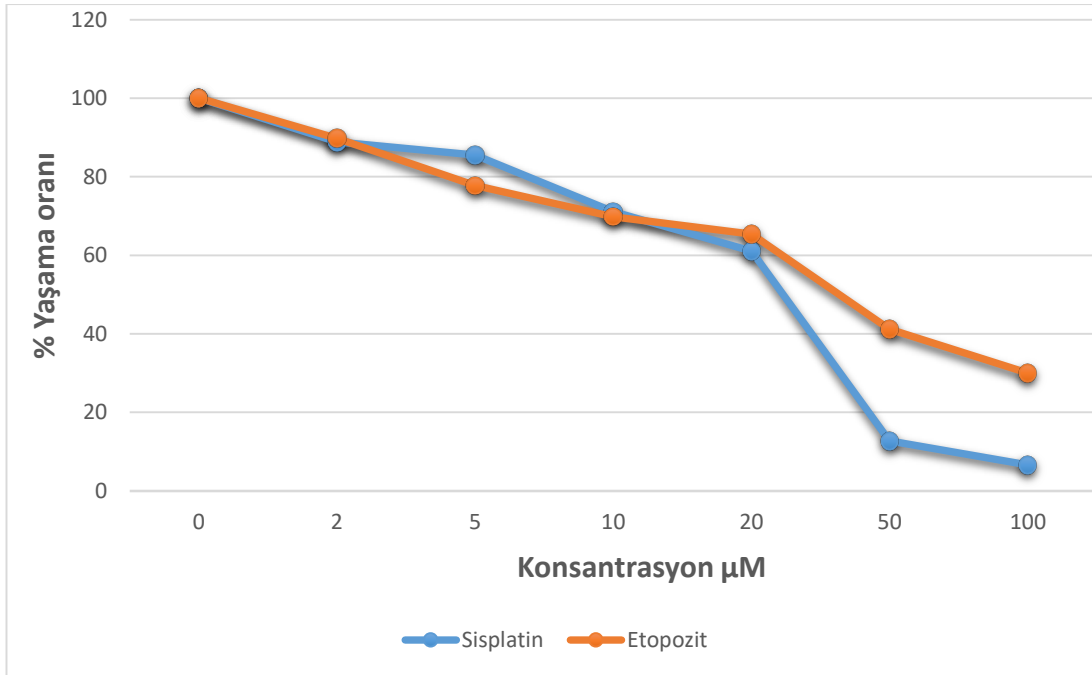
P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstrelerin, bu ekstrelerden elde edilen etil asetat ve sulu fraksiyonların, poliamit kolondan ön fraksiyonlama aşamasında toplanan ana fraksiyonların ve PM-1, PM-3, PM-6 ve PM-15 kodlu saf bileşiklerin B16F10 hücre serisine karşı sitotoksik etkileri araştırılmıştır. 20-400 µg/ml konsantrasyon aralığında tayin edilen sitotoksik aktivitenin kabuk ekstrelerinde tohum ekstrelerine kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Kabuk ve tohum ekstrelerinin her ikisinde de etil asetatlı fraksiyonların sitotoksik aktivitesi daha yüksek bulunmuş ve konsantrasyona bağlı olarak etkinin de doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. En yüksek etki meyve kabuklarından elde edilen etilasetatlı fraksiyonda 400 µg/ml konsantrasyonda % 46.32 olarak bulunmuştur.



Şekil 4. 65. *P. mahaleb* tohum ekstre ve ana fraksiyonlarının B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi



Şekil 4. 66. *P. mahaleb* kabuk ekstre ve ana fraksiyonlarının B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi



Şekil. 4. 67. Sisplatin ve etopozit' in B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi

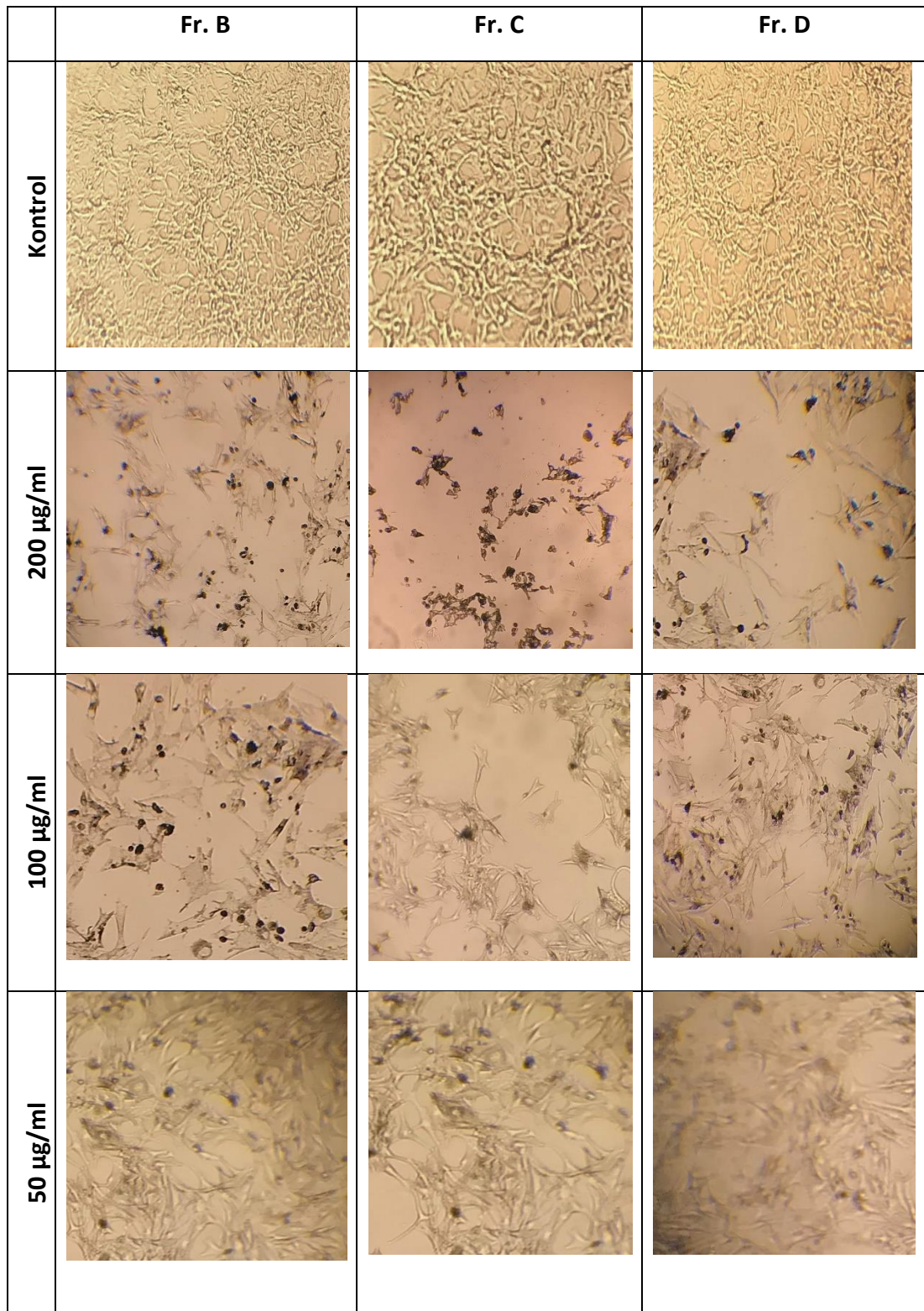
Sitotoksitenin en yüksek bulunduğu etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonları 10-200 µg/ml konsantrasyon aralığında araştırılmıştır. Bütün fraksiyonların etkilerinin konsantrasyonla doğru orantılı olarak değiştiği görülmüştür. 200 µg/ml konsantrasyonda Fr. A-D'nin %3.85 ile % 96.18 arasında değişen sitotoksik etki gösterdikleri bulunmuştur (Tablo 4.30).

Tablo 4. 30. *P. mahaleb* kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkileri

Fraksiyonlar	Konsantrasyonlar(µg/ml)/ % İnhibisyon Değerleri				
	10	20	50	100	200
Fr. A	-	-	-	-	3.85
Fr. B	5.7	10	11.25	36.87	78.75
Fr. C	18.24	21.25	25.2	50	96.18
Fr. D	11.24	15.37	25.68	42	73.12
Fr. E	-	-	-	5.4	53.43

"-": inhibisyon görülmemiştir.

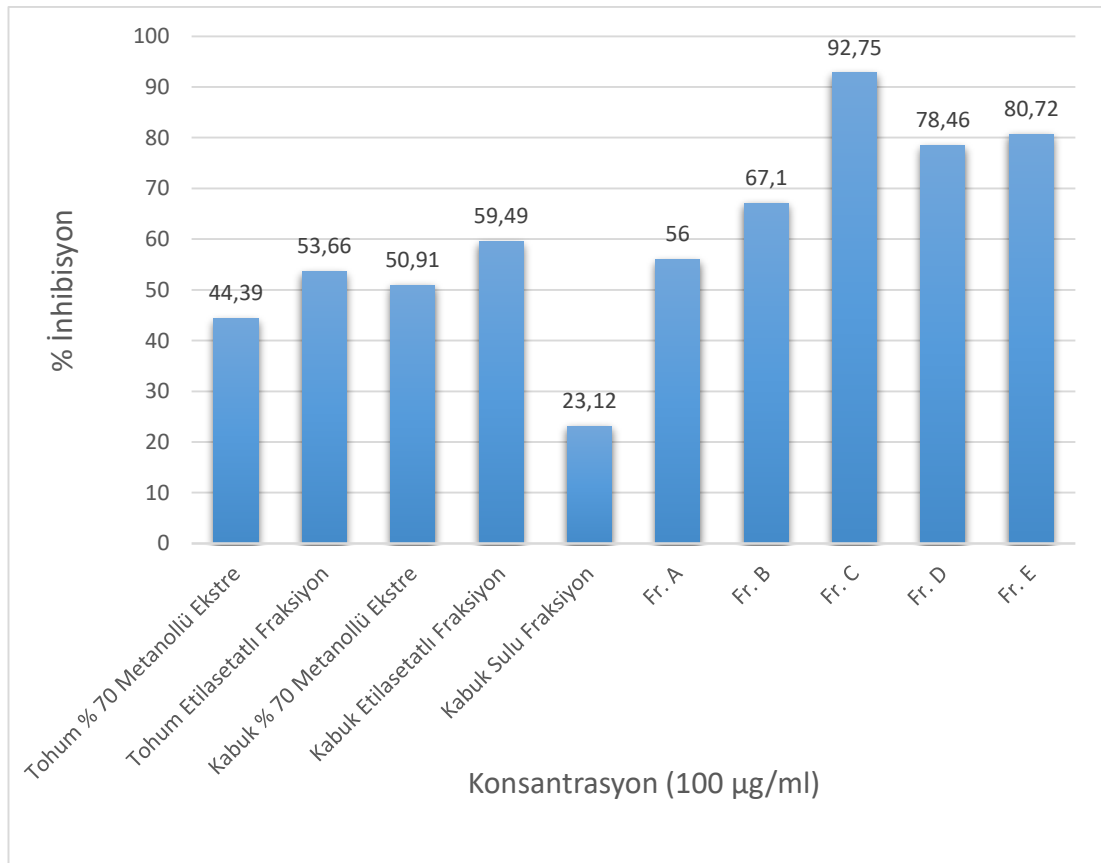
PM-1, PM-3, PM-6 ve PM-15 kodlu saf bileşiklerin 20-200 µg/ml konsantrasyon aralığında B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi incelenmiş, bu aralıkta herhangi bir sitotoksik etki görülmemiş hücre canlılığı % 100 olarak bulunmuştur.



Şekil 4. 68. Kabuk etilasetat poliamit ana fraksiyonları; Fr. B, Fr. C ve Fr. D' nin B16F10 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi

c) A2058 Hücrelerine Karşı Sitotoksik Etki Bulguları

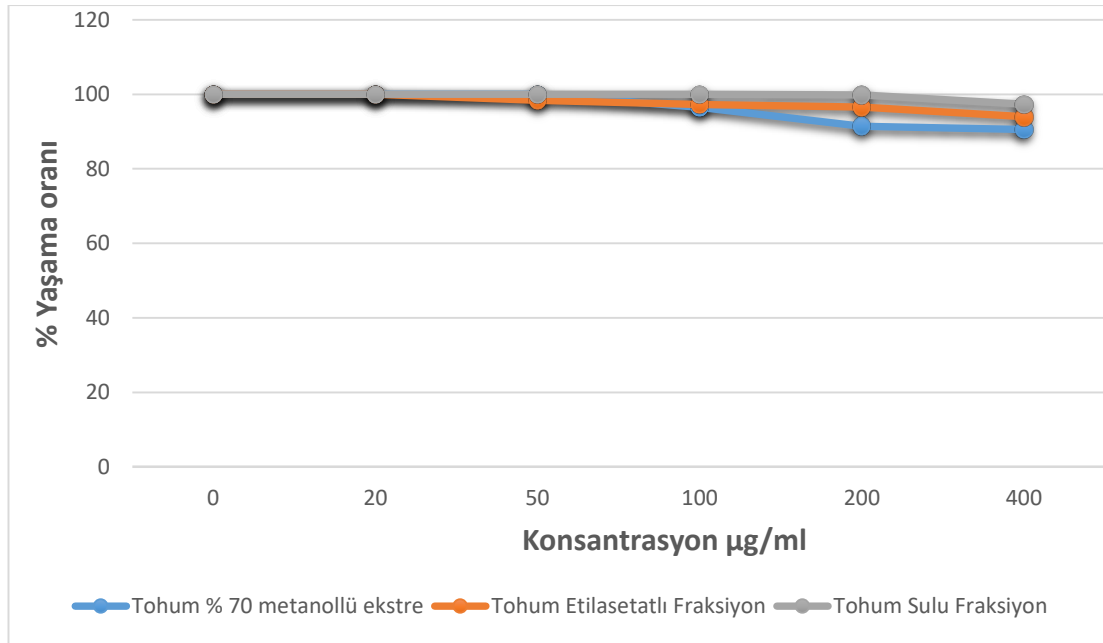
P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan % 70 metanollü ekstrelerin ve bu ekstrelerden elde edilen etil asetat ve sulu fraksiyonlar ile poliamit kolondan ön fraksiyonlama aşamasında toplanan ana fraksiyonların A2058 hücre serisine karşı sitotoksik etkileri araştırılmıştır. 100 µg/ml konsantrasyonda tayin edilen sitotoksik aktivitenin kabuk ekstrelerinde tohum ekstrelerine kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Kabuk ve tohum ekstrelerinin her ikisinde de etil asetatlı fraksiyonların sitotoksik aktivitesi daha yüksek olduğu bulunmuştur. Meyve kabuklarından elde edilen etil asetatlı fraksiyonun poliamit ana fraksiyonlarının aktivitesinin oldukça yüksek olduğu bulunmuş, en yüksek etkinin görüldüğü Fr-C'de inhibisyon % 92,75'ye ulaşmıştır (Şekil 4.69).



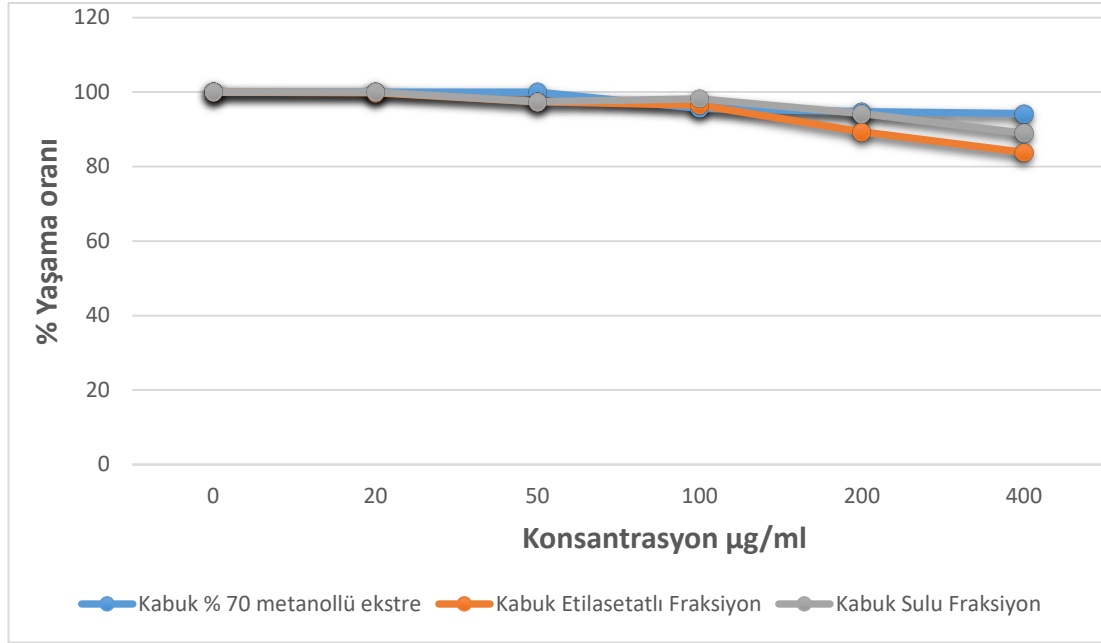
Şekil 4. 69. *P. mahaleb* ekstrelerinin ve etilasetat poliamit ana fraksiyonlarının A2058 hücrelerine karşı sitotoksik etkileri

d) HeLa Hücrelerine Karşı Sitotoksik Etki Bulguları

P. mahaleb tohum ve meyve kabuklarından (endokarp) hazırlanan sulu metanollü ekstrelerin ve bu ekstrelerden elde edilen etilasetatlı ve sulu fraksiyonların HeLa hücre serisine karşı sitotoksik etkisi 20-400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyon aralığında tayin edilmiş ve konsantrasyona bağlı olarak sitotoksik etki gösterdikleri belirlenmiştir. Belirgin bir sitotoksik etki görülmemekle birlikte kabuk ekstrelerindeki aktivitenin tohum ekstrelerinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Meyve kabuklarından elde edilen etilasetatlı fraksiyon 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda % 17 oranında inhibisyon göstermiştir.



Şekil 4. 70. *P. mahaleb* tohum ekstre ve ana fraksiyonlarının HeLa hücrelerine karşı sitotoksik etkisi



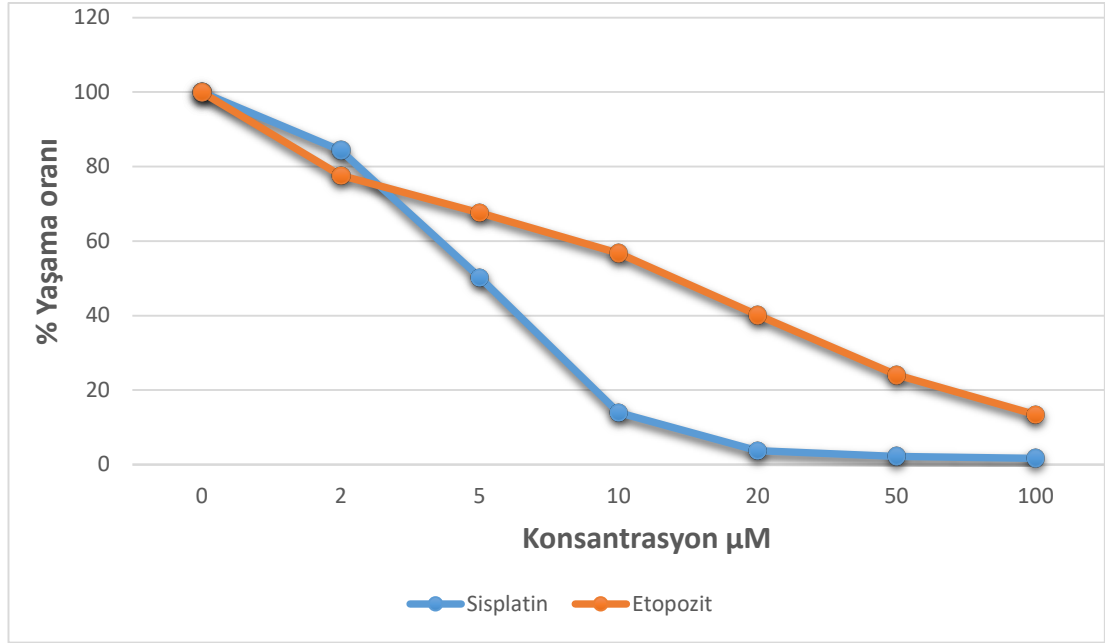
Şekil 4. 71. *P. mahaleb* meyve kabuğu sulu ekstre ve ana fraksiyonlarının HeLa hücrelerine karşı sitotoksik etkisi

Sitotoksitenin en yüksek bulunduğu etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonları 10-200 µg/ml konsantrasyon aralığında araştırılmıştır. Bütün fraksiyonların etkilerinin konsantrasyona bağlı olarak değiştiği görülmüştür. 200 µg/ml konsantrasyonda Fr. A-D'nin %21 ile % 44.81 arasında değişen sitotoksik etki gösterdikleri anlaşılmıştır (Tablo 4.31).

Tablo 4. 31. *P. mahaleb* kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonlarının HeLa hücrelerine karşı sitotoksik etkileri

Fraksiyonlar	Konsantrasyonlar(µg/ml)/ % İnhibisyon Değerleri				
	10	20	50	100	200
Fr. A	2.14	10.76	13.58	17.38	21.70
Fr. B	-	7.51	9.45	11.30	27.66
Fr. C	6.76	16.22	24.62	36.69	44.81
Fr. D	5.22	6.31	11.77	23.59	35.35

"-": inhibisyon görülmemiştir.



Şekil 4. 72. Sisplatin ve etopozit' in HeLa hücrelerine karşı sitotoksik etkisi

5. TARTIŞMA

Melanin bakteri, mantar, bitki ve hayvanlarda bulunan en yaygın pigmentlerden biridir. Sarıdan siyaha kadar değişen renkleri olan karmaşık bir yapıya sahip, heterojen polifenol benzeri biyopolimerlerdir. Cilt, saç ve göz renginin oluşmasından sorumlu olan bu pigment güneş ışınlarının zararlı etkileri ve reaktif oksijen türevlerinin (ROS) oluşturduğu oksidatif strese karşı cildin korunmasında da rol oynamaktadır. Melanogenez, melaninin üretiminden keratinozitelde birikmesine kadar geçen olayları kapsayan fizyolojik bir süreçtir. Bu süreçte meydana gelebilecek herhangi bir değişim estetik ve dermatolojik problemleri beraberinde getirecek çeşitli cilt problemlerinin oluşmasına sebep olmaktadır. Bu problemlerden biri olan hiperpigmentasyon (melazma, postinflamatuvar melanoderma, çil, lentigo, akne izleri ve yaşlılık lekeleri) melanin pigmentinin aşırı üretimi sonucu oluşmaktadır. Bunların yanısıra tarım ve gıda endüstrisinde de önemli bir yere sahip olan melaninin fazla üretimi sebze ve meyvenin görünümünü olumsuz yönde değiştirmekte ve besin değerlerinin azalmasına neden olmaktadır (2, 4, 5).

Birçok enzim melanogenezin düzenlenmesinde rol almasına rağmen, tirozinaz bunların içerisinde en kilit role sahiptir. Bu nedenle fazla melanin üretiminin inhibe edilmesinde en yaygın hedef, tirozinazın katalitik aktivitesinin doğrudan inhibisyonudur ve en sık kullanılan hipopigment ajanlar da tirozinaz inhibitörleridir.

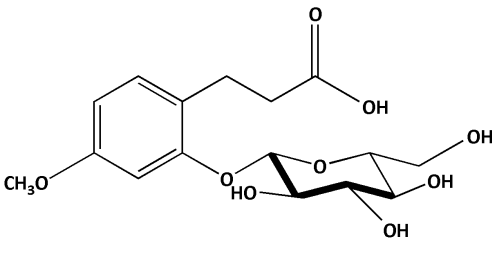
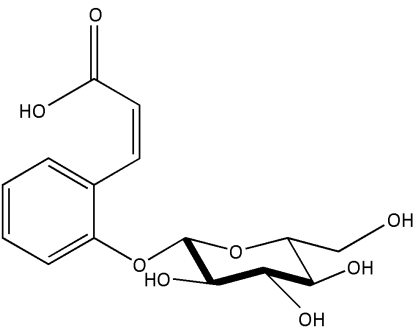
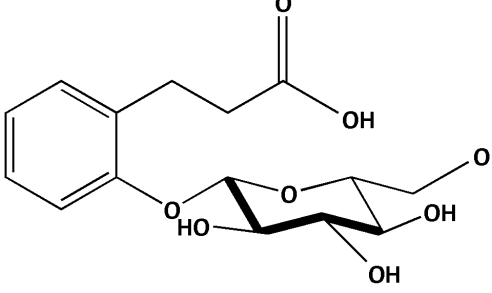
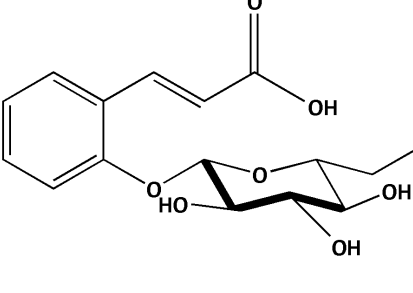
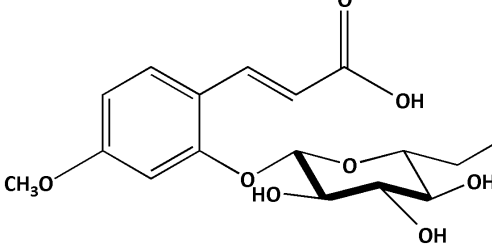
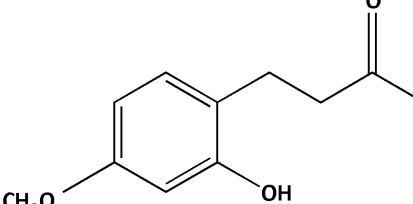
Tez bitkimizin de içinde bulunduğu *Prunus* türleri üzerinde yapılan literatür çalışmaları incelendiğinde, tirozinaz enzim inhibisyonunun araştırıldığı birçok ekstre ve bu ekstrelerden izole edilen saf maddenin olduğu görülmüş ve bu nedenle tohum ve meyve kabuklarından elde edilen ekstre, fraksiyon ve saf bileşiklerin antitirozinaz aktivitesi detaylı olarak incelenmiştir.

P. mahaleb bitkisinin halk arasında birçok amaçla kullanılmı bulunmaktadır. *P. mahaleb* üzerinde yapılan literatür çalışmaları incelendiğinde tohum ve meyve kabukları üzerinde çok az çalışmaya rastlanmış ve özellikle kabuklar üzerindeki fitokimyasal çalışmalar ve biyolojik etki çalışmalarının çok kısıtlı olduğu görülmüştür.

Buradan hareketle, meyve kabukları üzerinde fitokimyasal çalışmalar yürütülmüş, elde edilen ekstre, fraksiyon ve saf bileşiklerin antitirozinaz, antioksidan, ve sitotoksik etkileri incelenmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız *P. mahaleb* tohum ve kabukları Tokat- Niksar' da bir fabrikadan temin edilmiştir. %70 metanol ile ekstre edildikten sonra petrol eteri ve *n*-hekzan ile partisyon yapılarak klorofil ve apolar bileşikler uzaklaştırılmış, ardından etilasetatla partisyon yapılmıştır. Elde edilen ana ekstratlar ile etilasetatlı ve sulu fraksiyonların bir kısmı aktivite çalışmaları için ayrılmış, diğer kısmı ile fitokimyasal çalışmalara devam edilmiştir. Tez çalışmamız kapsamında izole edilen 15 bileşikten 11 tanesinin yapısı UV, NMR ve kütle spektroskopisi gibi spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılabilmektedir. Bu bileşiklerden 6 tanesi sinamik asit türevidir, 2 tanesi flavonol glikozit, 1 tanesi sitosterol glikozit, 1 tanesi triterpen ve 1 tanesi fenolik asit yapısındadır. Yapısı aydınlatılan bileşiklerin 7 tanesi sulu fraksiyondan; 2-*O*- β -glukopiranoziloksi-4-metoksi-hidrosinamik asit (**PM-1**), *cis*-melilotozit (**PM-2**), dihidromelilotozit (**PM-3**), *trans*-melilotozit (**PM-4**), kersetin-3-*O*-(2-*O*,6-*O*- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit) (**PM-5**), 2-*O*- β -glukoziloksi-4-metoksi *trans*-sinamik asit (**PM-6**), kemferol-3-*O*-(2-*O*,6-*O*- α -diramnopiranozil β -glukopiranozit) (**PM-7**), 4 tanesi ise etil asetatlı fraksiyondan; ursolik asit (**PM-10**), β -sitosterol 3-*O*- β -glukopiranozit (**PM-11**), gallik asit (**PM-12**), 2-hidroksi-4-metoksi hidrosinamik asit (**PM-15**) izole edilmiştir. PM-1 kodlu bileşik ayrıca etilasetatlı fraksiyondan da elde edilmiştir. Kalan 4 bileşiğin yapı aydınlatma çalışmaları devam etmektedir.

Tablo 5.1. *P. mahaleb* meyve kabuklarından elde edilen sinnamik asit türevi bileşikler

 <p>2-<i>O</i>-β-glukopiranoziloksi-4-metoksi- hidrosinamik asit (PM-1)</p>	 <p><i>cis</i>- melilotozid (PM-2)</p>
 <p>Dihidromelilotozid (PM-3)</p>	 <p><i>trans</i>- melilotozid (PM-4)</p>
 <p>2-<i>O</i>-β-glukoziloksi-4-metoksi <i>trans</i>- sinamik asit (PM-6)</p>	 <p>2-hidroksi-4-metoksi hidrosinamik asit (PM-15)</p>

Benzer yapıya sahip olan sinnamik asit türevi PM-1, PM-2, PM-3, PM-4, PM-6 ve PM-15 kodlu bileşikler beyaz renkli amorf birer katı olarak izole edilmişlerdir. Bileşiklerin hepsinin İTK analizlerinde revelatör (vanilin/H₂SO₄) püskürtülmeden önce UV 254 nm'de silika jel plağın floresansını engellediği görülmüştür. Püskürtme işleminden sonra plaklar 105°C' de 1-2 dakika ısıtıldığında PM-1, PM-2, PM-3, PM-4

ve PM-6 kodlu bileşikler önce değişik tonlarda pembe renk almış sonra renkleri koyulaşarak kararmaya başlamıştır. PM-15 kodlu bileşik ise oz ünitesi taşımadığı için belirgin pembe rengi kararmadan kalmıştır.

Benzer yapıya sahip olan PM-1, PM-3 ve PM-15 kodlu bileşiklerin ^1H NMR spektrumları incelendiğinde PM-1 ve PM-15 bileşiklerinin sırasıyla δ_{H} 6.51-7.05 [δ_{H} 6.51 (dd, $J=8.4/2.4$ Hz, H-5), δ_{H} 6.77 (d, $J=2.4$ Hz, H-3), δ_{H} 7.05 (d, $J=8.4$ Hz, H-6)] ve δ_{H} 6.30-6.95 [δ_{H} 6.30 (dd, $J=8.5/2$ Hz, H-5), δ_{H} 6.33 (d, $J=2$ Hz, H-3), δ_{H} 6.95 (d, $J=8.5$ Hz, H-6)] ppm'de ABX sistem şeklinde gözlenen 3 aromatik proton sinyali yapılarındaki trisüstitüe benzen halkasının varlığını ve yaklaşık δ_{H} 3.70 ppm' de 3H şiddetinde singlet olarak gözlenen sinyaller yapının metoksil grubu taşıdığını göstermiştir. HMBC spektrumlarında metoksil grubuna ait proton ile C-4 karbon atomu arasında gözlenen uzak mesafeli korelasyon ve karbon sinyalindeki kayma metoksil grubunun bağlantı noktasının her iki bileşikte de aynı olduğunu göstermiştir. PM-3 kodlu bileşikte ise aromatik bölgede bulunan 4 metin proton sinyali [δ_{H} 6.91 (m, H-5), 7.13 (s, H-3), 7.14 (dd, $J= 1.75/7.45$ Hz, H-6), 7.15 (d, $J= 7.45$ Hz, H-4) yapıda bir disüstitüe benzen halkası olduğunu kanıtlamıştır. Her 3 bileşikte de δ_{H} 2.53-2.56 ve δ_{H} 2.87-2.95 ppm'de 2H şiddetindeki protonlar benzen halkasına bağlı yan zincirin olduğunu işaret etmektedir. Belirtilen tüm protanlara ait δ_{C} değerleri HMQC spektrumlarından tespit edilip tüm değerler karbonile ait δ_{C} 178-178.9 ile birlikte düşünüldüğünde bileşiklerin temel yapısının fenil propanoik asit olduğu görülmüştür. PM-1 ve PM-3 kodlu bileşiklerde PM-15' ten farklı olarak H ve ^{13}C NMR spektrumlarında görülen anomerik proton ve karbon sinyalleri yapıda bir oz olabileceğini göstermiş, anomerik protonun kenetlenme sabiti $J= 7-8.6$ Hz diğer oz sinyalleri ile birlikte değerlendirildiğinde ozun β -glukoz olduğu belirlenmiştir. COSY spektrumunda bu protonların birbirleri ile olan korelasyonları ve HMQC spektrumunda oz protonlarına karşılık gelen karbon rezonanslarının kesin olarak tespit edilmesi sonucu ozun β -glukoz olduğu kesin olarak kanıtlanmıştır. HMBC spektrumunda glukozların anomerik protonu ile aglikonların C-2 karbon atomu arasında gözlenen uzak mesafeli korelasyon, glukozların C-2 üzerinden bağlı olduğunu göstermiştir. PM-15 kodlu bileşikte ise δ_{C} 157.2 ppm' de görülen karbon sinyalinin

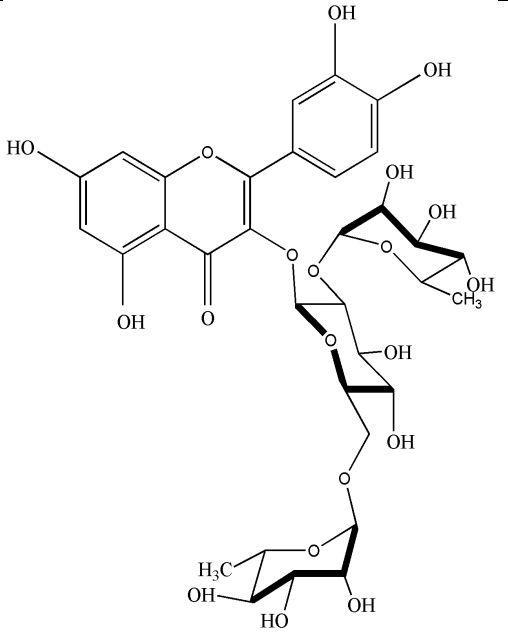
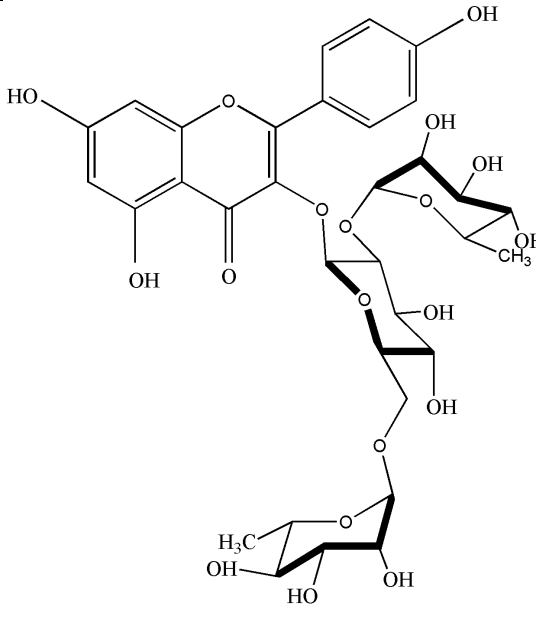
düşük alana kaymış olması ve katerner oluşu, yapıya bağlı bir oz ünitesinin olmaması da göz önünde bulundurulduğunda bu karbona bir hidroksilin bağlı olduğunu göstermiştir.

PM-2 ve PM-4 kodlu bileşiklerin ^1H NMR spektrumları incelendiğinde PM-3 bileşiğinden farklı olarak sırasıyla δ_{H} 6.76 (2H, d, $J= 12.5$ Hz, H-7), 6.05 (2H, d, $J= 12.5$ Hz, H-8) ve 7.97 (2H, d, $J= 16.05$ Hz, H-7), 6.51 (2H, d, $J= 16.05$ Hz, H-8)' de 2 olefinik proton sinyali α , β - doymamış karbon zincirinin olduğunu işaret etmektedir. Bu iki bileşiğe ait olefinik protonların kenetlenme sabiti değerleri hesaplandığında PM-2' nin ($J= 12.5$) *cis*, PM-4'ün ise ($J= 16.05$ Hz) *trans* izomeri olduğu görülmüştür.

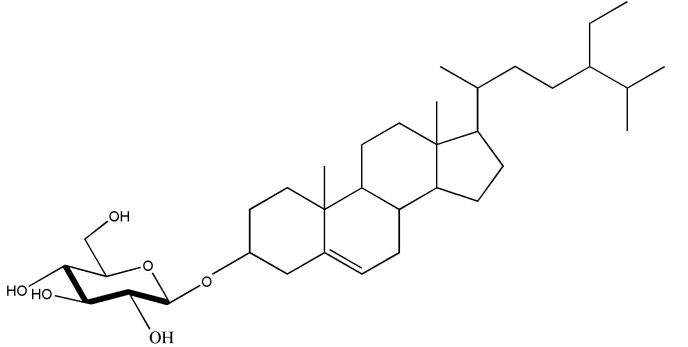
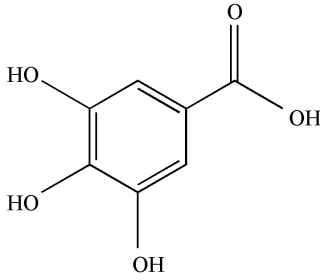
PM-6 kodlu bileşiğin yapısının PM-1 ile çok benzer olduğu görülmektedir. Aynı şekilde ^1H NMR spektrumları incelendiğinde PM-1 bileşiğinden farklı olarak δ_{H} 8.02 (2H,d, $J= 16.0$ Hz, H-7), 6.4 (2H, d, $J= 16.0$ Hz, H-8)' de gözlenen 2 olefinik proton sinyali α , β - doymamış karbon zincirinin olduğunu göstermiştir. Olefinik protonların kenetlenme sabiti değeri ($J= 16.0$ Hz) *trans* izomer için karakteristiktir.

Elde edilen sinnamik asit türevi bileşiklerin isimleri ve yapıları Tablo 5.1' de verilmiştir.

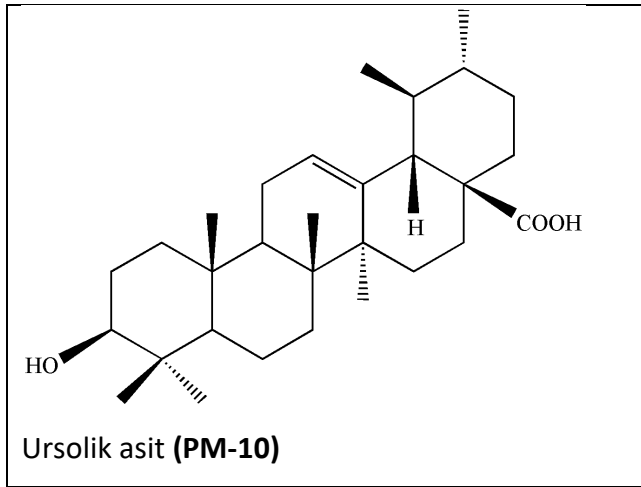
Tablo 5.2. *P. mahaleb* meyve kabuklarından elde edilen flavonol glikozitleri

 <p>Kersetin-3-O-(2-O,6-O-α-diramnopiranozil β-glukopiranozit) (PM-5)</p>	 <p>Kemferol-3-O-(2-O,6-O-α-diramnopiranozil β-glukopiranozit) (PM-7)</p>
--	---

Tablo 5.3. *P. mahaleb* meyve kabuklarından elde edilen sitosterol glikoziti ve fenolik asit

 <p>β-sitosterol 3-O-β-glukopiranozit (PM-11)</p>	 <p>Gallik asit (PM-12)</p>
--	---

Tablo 5. 4. *P. mahaleb* meyve kabuklarından elde edilen triterpen yapısındaki bileşik



PM-1, PM-2 ve **PM-6** kodlu maddeler *Prunus* cinsi ve cinsin ait olduğu Rosaceae familyası için ilk kez tarafımızdan izole edilmiştir.

PM-3 kodlu bileşiğin *P. mahaleb'* deki varlığı daha önce yapılan bir HPLC çalışması ile analiz edilmiştir (74). Bu yayın dışında bu bileşiğin *Prunus* cinsinden izolasyonuna dair başka bir bilgiye rastlanmamıştır. Dolayısıyla bileşiğin *Prunus* cinsinden izolasyonu ve ileri spektroskopik yöntemlerle analizi tarafımızdan ilk kez yapılmıştır.

PM-4 kodlu bileşik, yapılan literatür taramalarında daha önce *P. mahaleb'* de YBSK ile analiz edilmiş, *P. padus'* dan ise izole edildiği bildirilmiştir (74, 375)

PM-5 ve **PM-7** kodlu bileşiklerin *P. mume'* deki varlığı YBSK ile analiz edilmiştir (45). Bu yayın dışında bu bileşiklerin *Prunus* cinsinden izolasyonuna dair başka bir bilgiye rastlanmamıştır. Bileşiklerin *Prunus* cinsinden ve cinsin ait olduğu familyadan izolasyonu ve ileri spektroskopik yöntemlerle analizi tarafımızdan yapılan ilk kayıttır.

PM-10 kodlu bileşiğin yapılan literatür taramalarında daha önce birçok *Prunus* türünde (*P. amygdalus*, *P. avium*, *P. cerasoides*, *P. cerasifera*, *P. davidiana*, , *P. dulcis*, *P. mume*, *P. persica*, *P. spinosa*, *P. serrulata var. spontanea*, *P. serotina*) tespit edildiği bildirilmiş ancak *P. mahaleb'* den izolasyonuna dair herhangi bir kayıt bulunamamıştır

(47, 81, 124, 129, 131, 133, 134, 136). Çalışmamız bileşiğin *P. mahaleb'* den izolasyonu için ilk kayıttır.

PM-11 kodlu bileşiğin yapılan literatür taramalarında daha önce *P. mahaleb* dahil birçok *Prunus* türünde (*P. africana*, *P. amygdalus*, *P. cerasifera*, *P. dulcis*, *P. davidiana*, *P. mume*, *P. persica*, *P. tucumanensis*, *P. zippeliana*) tespit edildiği bildirilmiştir (67, 125, 128, 129, 381).

PM-12 kodlu bileşiğin yapılan literatür taramalarında daha önce *P. mahaleb* de dahil birçok *Prunus* türünde (*P. amygdalus*, *P. cerasifera*, *P. domestica*, *P. dulcis*, *P. padus*, *P. persica* var. *platycarpa*, *P. spinosa*) tespit edildiği bildirilmiştir (28, 33, 80, 111, 112).

PM-15 kodlu bileşik ilk kez 1922 yılında sentezlenmiş ancak izolasyonuna dair herhangi bir kayda rastlanmamıştır (382). Bileşik çalışmamız ile doğadan ilk kez izole edilmiştir.

Meyve kabuklarından (endokarp) elde edilen **PM-1**, **PM-2**, **PM-5**, **PM-6**, **PM-7** ve **PM-10** kodlu bileşikler standart olarak kullanılarak bu bileşiklerin tohumdaki varlığı HPLC ile analiz edilmiştir. Önce aynı konsantrasyonda ayrı ayrı, daha sonra her bir bileşik tohum ekstresi ile birlikte eşit miktarda alınarak tatbik edilmiştir. Retansiyon süreleri ve pik şiddetleri incelendiğinde elde edilen piklerin alıkonma süresi ve şiddetlerinde değişiklik olmadığı görülmüş, böylece tohum ekstresinde, incelenen bu bileşiklerin bulunmadığı sonucuna varılmıştır.

Fitokimyasal çalışmalar sonrasında aktivite çalışmalarına geçilmiştir. *P. mahaleb* meyve kabuklarından elde edilen bileşikler incelendiğinde bu bileşiklerin büyük kısmını sinamik asit türevi bileşiklerin oluşturduğu görülmüştür. Birçok literatürde bu tip bileşiklerin tirozinaz inhibisyon aktivitesi yüksek, kozmetik potansiyele sahip bileşikler olduğu bildirilmektedir (383-386). Böylece *Prunus* türlerinin kozmetik potansiyellerinin yanı sıra izole ettiğimiz bileşiklerin yapısı da *P. mahaleb'* in tirozinaz enzimi üzerine yüksek etki göstereceğini pekiştirmiştir.

Mantar tirozinaz enzimi inhibisyon tayini için *P. mahaleb* tohum ve meyve kabuklarından hazırlanan % 70 metanollü ekstrelerin ve bu ekstrelerden elde edilen etil asetat ve sulu fraksiyonların 20-400 µg/ml aralığında 5 farklı konsantrasyonda etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar *P. mahaleb* ekstrelerinin tirozinaz enzim inhibisyonu etkinliğinin konsantrasyonla doğru orantılı olarak arttığını göstermektedir. Tohum ve meyve kabuğundan elde edilen etilasetat fraksiyonları diğerlerine göre belirgin oranda yüksek aktivite göstermiştir. Bu fraksiyonlar 400 µg/ml konsantrasyonda tirozinaz enzimini sırasıyla % 88.4 ve % 92.1 oranında inhibe etmiş ve bu oranın aynı konsantrasyondaki standart bileşiğin yüzde inhibisyonuna (%92.22) çok yakın olduğu görülmüştür. Tohuma ait sulu fraksiyonda etkinin yok denecek kadar az olduğu bulunmuştur. Kabuk sulu fraksiyonda ise negatif kontrole göre absorbans değerinin daha da arttığı görülmüştür. Aktivitenin yüksek bulunduğu etilasetatlı fraksiyonun poliamit ana fraksiyonlarının aktivitesinin de incelenmesine karar verilmiş ve 20-400 µg/ml aralığında 5 farklı konsantrasyonda etki incelenmiştir. En yüksek aktivitenin sırasıyla Fr. D ve A'da olduğu bulunmuştur.

Tablo 5. 5. Poliamit kolon ana fraksiyonlarının tirozinaz enzim inhibisyonu IC₅₀ değerleri

	Fr. A	Fr. B	Fr. C	Fr. D	Fr. E
IC ₅₀ (µg/ml)	114.9±1.01	142.39±1.05	298.12±1.95	109.66±1.35	348.21± 1.47

Ekstre ve fraksiyonlardan sonra saf maddelerin enzim inhibisyon aktivitesi incelenmiştir. Miktarı yetersiz olan PM-11 ve PM-12 dışında tüm maddelerin tirozinaz enzim inhibisyonları 50-400 µg/ml konsantrasyon aralığında incelenerek IC₅₀ değerleri µM olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar PM-1, PM-3, PM-6 ve PM-15 kodlu bileşiklerin standart bileşik olan kojik asitle karşılaştırıldığında oldukça yüksek etkiye sahip olduklarını göstermiştir. İncelenen diğer bileşiklerde ise hiçbir enzim inhibisyonu gözlenmemiştir.

Tablo 5. 6. Saf bileşiklerin tirozinaz enzim inhibisyonu IC₅₀ değerleri

	PM-1	PM-3	PM-6	PM-15	Kojik asit
IC₅₀ (µM)	227.2±0.92	311.9±0.95	369.9±1.3	191.18±0.76	96.13±1.05

Mantar tirozinaz enzim inhibisyonu üzerine etkili bulunan PM-1, PM-3, PM-6 ve PM-15 kodlu saf bileşiklerin hücre kültürü çalışmaları ile antitirozinaz etkinliği incelenmeye devam edilmiştir. Bu amaçla B16F10 fare melanoma hücreleri üzerinde hücremelanin ve hücremelanin tirozinaz enzim inhibisyonu incelenmiştir. Çalışmada kullanılacak konsantrasyon aralığını belirlemek için çalışmaya ilk önce saf bileşiklerin B16F10 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi incelenerek başlanmıştır. MTT yöntemi kullanılarak yapılan sitotoksikite deneylerinde 20-200 µg/ml konsantrasyon aralığında hiçbir sitotoksik etkinin görülmediği hücre canlılığının %100 devam ettiği görülmüştür. Sonuçlar göz önünde bulundurularak bu konsantrasyon aralığında çalışmaya karar verilmiştir.

Antitirozinaz etkiyi incelemek için yapılan hücre kültürü çalışmalarının sonuçları mantar tirozinaz enzim inhibisyon değerleri ile paralel çıkmış, en yüksek etki PM-15’ te görülmüş bu bileşiği sırasıyla PM-1, PM-3 ve PM-6 takip etmiştir.

Tablo 5.7. Saf bileşiklerin hücremelanin antitirozinaz etkileri

Saf Bileşikler	Konsantrasyonlar(µg/ml)/ % İnhibisyon Değerleri					
	Hücremelanin İnhibisyonu			Hücremelanin Tirozinaz Enzim İnhibisyonu		
	50	100	200	50	100	200
PM-1	16.67±0.42	61.11±0,56	77.8±2.53	13.82±1.8	39.84±0.96	54,47±0.91
PM-3	11.11±0.88	55.67±1.32	66.67±0.56	8.13±1.21	34.15±1.25	41.46±1.82
PM-6	5.56±0.72	44.45±0.98	55.56±2.10	4.06±1.32	20.33±1,45	30.9±1.65
PM-15	16.67±0.87	66.67±1,54	88.89±1.90	*	*	*

*: Madde miktarı yetersiz olduğu için etki incelenememiştir.

Önce mantar tirozinaz enzimine karşı etkisi incelenen ardından hücremelanin ve tirozinaz enzim inhibisyonu ile etkinliklerinin varlığı doğrulanan, PM-1, PM-3, PM-6 ve PM-15 kodlu bileşiklerin enzim kinetiği incelenmesi çalışmalarına geçilmiştir. Enzim kinetiği analizinin amacı kimyasal reaksiyonun nasıl ve hangi hızla oluştuğunu anlamaktır. Böylece substratların ürüne dönüşünde izlenen yol ve hız belirlenmiş olacaktır.

Enzim aktivitesi inhibisyonu enzimlerin katalitik etkilerinin bazı kimyasal bileşiklerle durdurulması veya sınırlandırılması demektir. 3 çeşit enzim inhibisyonu vardır:

- Yarışmalı inhibisyon (kompetitif)
- Yarışmasız inhibisyon (nonkompetitif)
- Bağımlı inhibisyon (unkompetitif)

Yarışmalı inhibisyon; inhibitör sadece serbest enzime bağlanır ve substrat ile yarışır; substrat konsantrasyonunu artırmak inhibitör etkisini engeller.

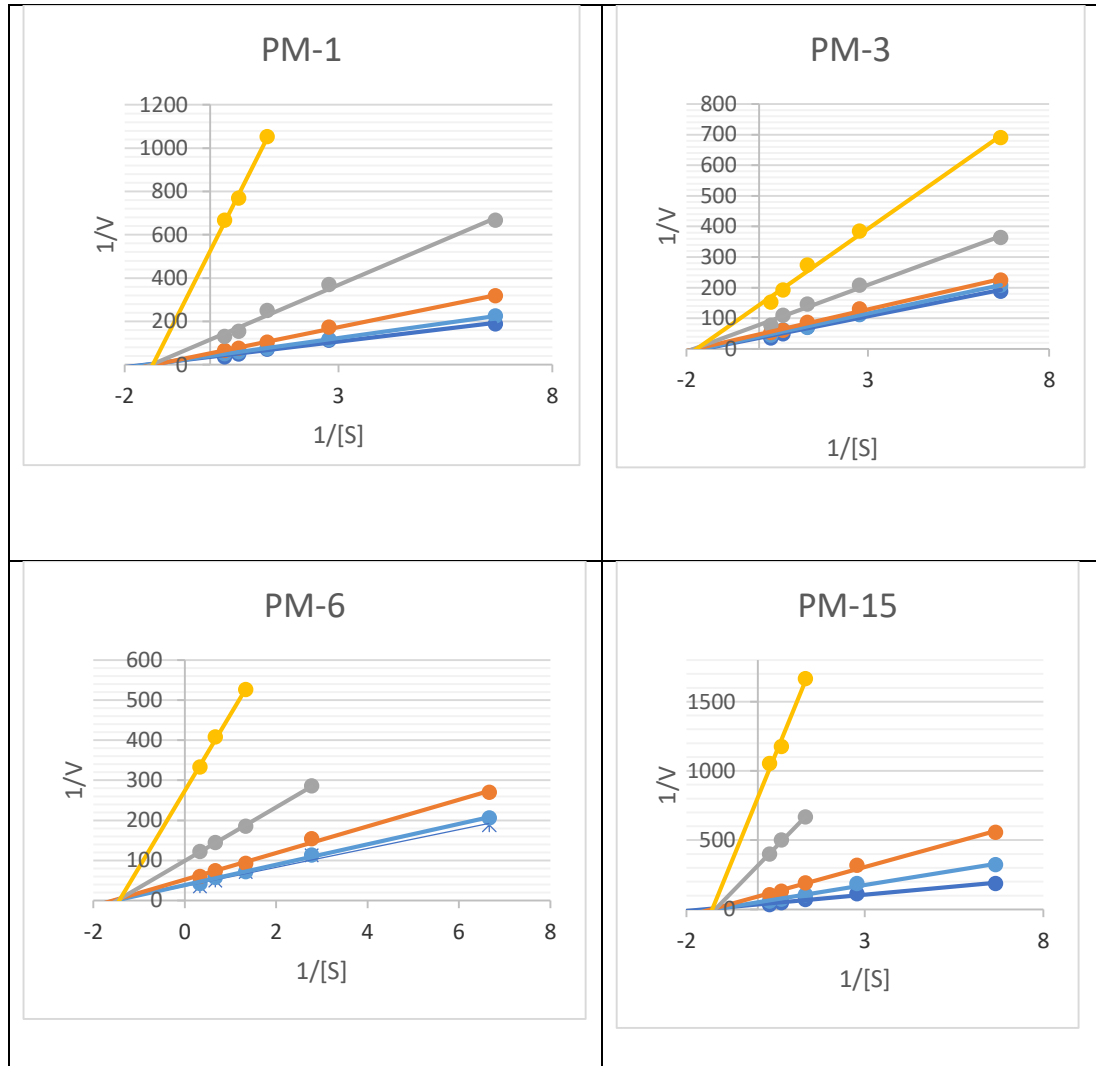
Yarışmasız inhibisyon; inhibitör serbest enzime ya da enzim-substrat kompleksine bağlanabilir substrat konsantrasyonunu artırmak inhibitör etkisini değiştirmez.

Bağımlı inhibisyon; inhibitör sadece enzim-substrat kompleksine bağlanır. Substrat konsantrasyonunu artırmak inhibitör etkisini artırır.

Michaelis-Menten eşitliğinin her iki tarafı $1/v$ şeklinde yazılarak $y=mx+b$ şeklinde bir Lineweaver-Burk eğrisi elde edilmiştir. İncelediğimiz saf bileşiklerin her bir farklı konsantrasyonu için çizilen bu eğriler üzerinde hesaplamalar yapıldığında V_{max} (maksimum hız) değeri azalırken K_m (hız sabiti) değerinin değişmediği görülmüştür. 20-200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarda hazırlanan inhibitör bileşikler ve hiç inhibitör kullanılmadan sadece değişik konsantrasyonlarda substratlar ile oluşturulan eğriler aynı grafikte gösterilmiş ve bu eğrilerin X ekseninde bir noktada kesiştikleri görülmüştür.

Tüm bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda PM-1, PM-3, PM-6 ve PM-15 kodlu bileşiklerin dördünün de tirozinaz enzimini yarışmasız (nonkompetitif) bir şekilde inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Yani bileşiklerimiz serbest enzime ya da enzim-substrat kompleksine bağlanarak inhibisyonu göstermekte ve bu nedenle substrat konsantrasyonunu artırmak inhibitör etkisini değiştirmemektedir.

Tablo 5. 8. Aktif bileşiklerin Lineweaver-Burk eğrileri



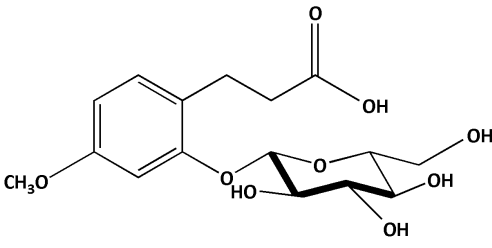
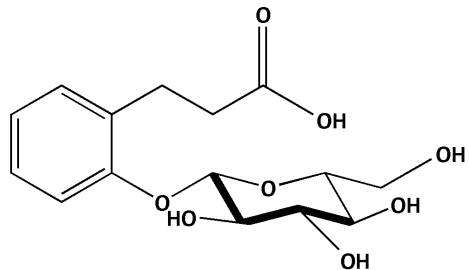
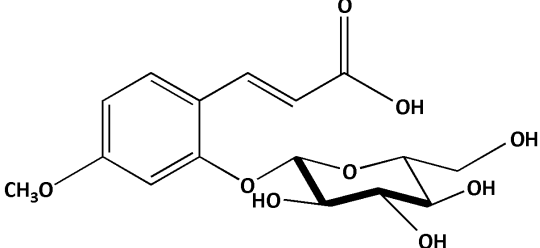
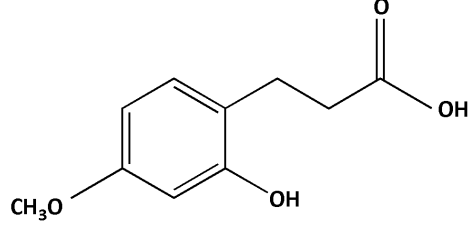
Ardından her bir bileşik için Dixon plot grafiği çizilerek K_i sabitleri hesaplanmıştır. Bu yöntemde en az 3 sabit substrat konsantrasyonunda $1/V-[I]$ grafiği çizilerek kesim noktalarından K_i sabitleri hesaplanmıştır. K_i sabiti inhibitörün enzime olan ilgisini gösteren değerdir. İnhibitörün K_i değeri ne kadar küçük ise enzime olan

ilgisi o kadar büyük olur ve enzimin katalitik aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi de o kadar fazla olur. IC₅₀ değeri en düşük çıkan en aktif bileşik olan PM-15' in enzime olan ilgisinin (K_i) de en yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

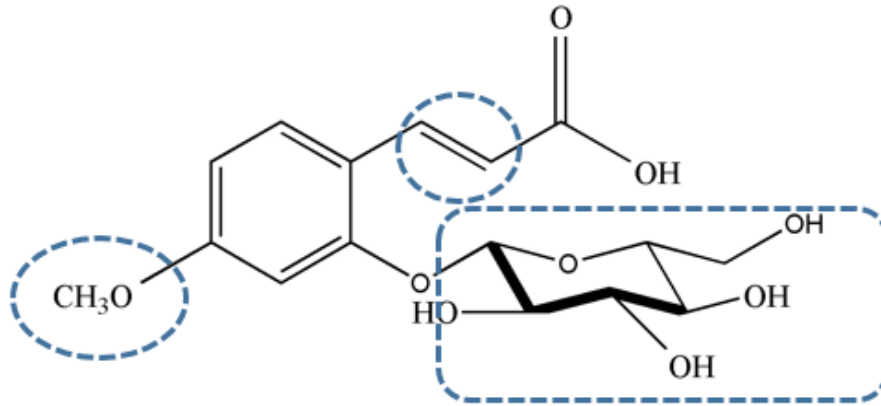
Tablo 5. 9. Saf bileşiklerin enzim kinetiği sonuçları

Bileşikler	IC ₅₀ (μM)	K _i Değeri (μM)	İnhibisyon Tipi
PM-1	227.2	72.79	Yarışmasız
PM-3	311.9	169.32	Yarışmasız
PM-6	369.9	109.89	Yarışmasız
PM-15	191.18	48.76	Yarışmasız

Tablo 5. 10. Etkili bulunan sinnamik asit türevi bileşikler

 <p>2-O-β-glukopiranoziloksi-4-metoksi-hidrosinamik asit (PM-1)</p>	 <p>Dihidromelilotozit (PM-3)</p>
 <p>2-O-β-glukoziloksi-4-metoksi <i>trans</i>-sinamik asit (PM-6)</p>	 <p>2-hidroksi-4-metoksi hidrosinamik asit (PM-15)</p>

İzole edilen bileşiklerden kimyasal yapıları birbirine benzeyen sinamik asit türevi bileşiklerin tirozinaz enzim inhibisyonu yapı- aktivite ilişkisi kurularak incelenmiştir.



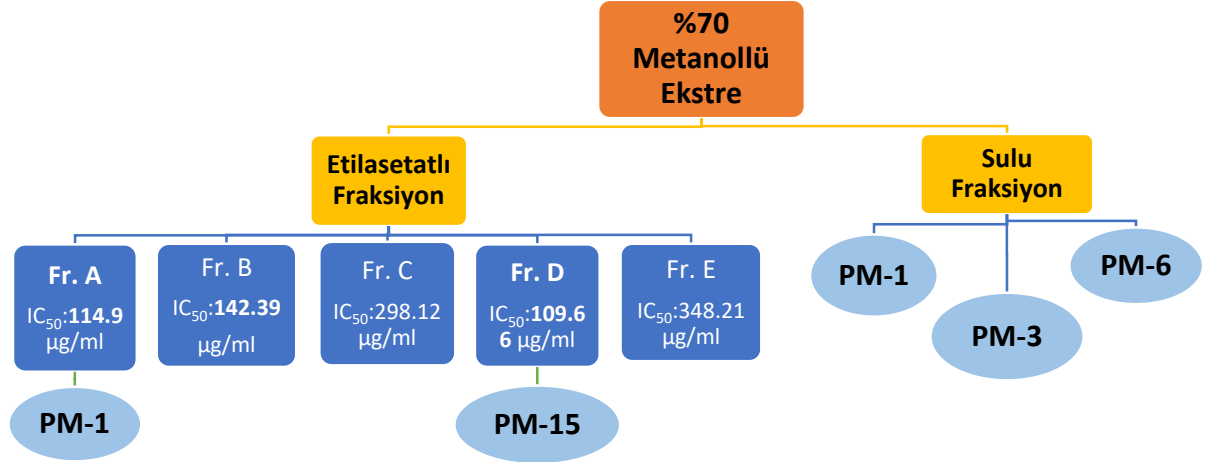
- Para konumundan bağlı metoksil sübstitüsüyonu aktivitenin artmasına sebep olmaktadır. PM-1 ve PM-3 bileşikleri incelendiğinde, PM-1 kodlu bileşiğe bağlı olan metoksil grubu etkinin PM-3'ten daha fazla olmasına sebep olmuştur.
- 7-8 numaralı karbonlar arasındaki çifte bağ *cis-trans* fark etmeksizin tek başına aktiviteyi yok etmektedir. PM-2, PM-3 ve PM-4 bileşikleri karşılaştırıldığında *cis* ve *trans* olefinik protonların olduğu PM-2 ve PM-4'de hiç etki bulunmazken, çifte bağın olmadığı PM-3 bileşiğinin aktivitesi yüksek bulunmuştur. Ancak PM-6 bileşiğinde olduğu gibi olefinik protonlarla birlikte para konumundaki metoksil sübstitüsüyonu aktiviteyi artırmaktadır.
- Orto konumundan bağlı olan oz yerine hidroksil grubunun oluşu aktiviteyi artırmaktadır. PM-1 ve PM-15 bileşikleri karşılaştırıldığında orto konumundan glukoz bağlı olan PM-1 bileşiğinin aktivitesinin daha düşük olduğu görülmektedir.

Aktif bulunan saf bileşiklerin izole edildiği fraksiyonlar incelendiğinde;

PM-15' in etkili bulunan etilasetatlı fraksiyonun en aktif poliamit kolon fraksiyonundan,

PM- 1' in sulu ekstre ve etil asetatlı fraksiyonun ikinci aktif poliamit fraksiyonu olan Fr. A 'dan,

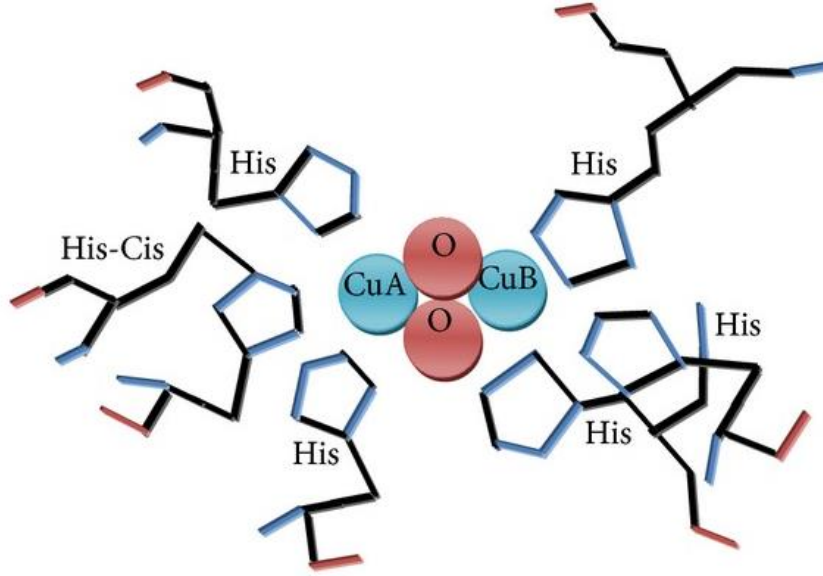
PM-3 ve PM-6'nın ise sulu fraksiyondan izole edildiği görülmektedir.



Şekil 5. 1. Aktif olan saf maddelerin izolasyon şeması

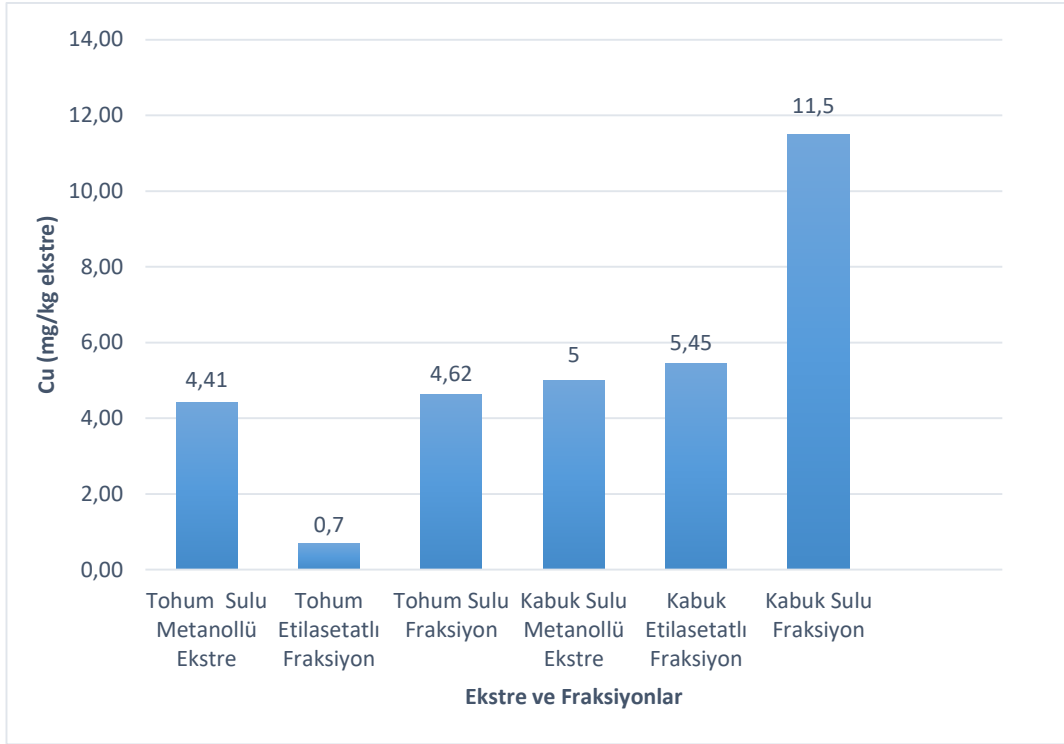
PM-1 kodlu bileşik sulu fraksiyonda bulunan major bileşiklerden biridir ve çalışmamız sırasında yüksek miktarda elde edilmiştir. Etil asetatla fraksiyonlama sırasında, heterozit yapısında olan ve sulu fraksiyonda bulunan PM-1 kodlu bileşiğin bir kısmı da etilasetatlı fraksiyona geçmiştir. Poliamit kolonla yapılan ana fraksiyonlama sırasında elüe edilen ilk fraksiyonlar çok polar olduğu için, heterozit yapısındaki bu bileşik % 100 su ile alınan Fr. A'dan tekrar izole edilmiştir.

Aktivitesi yüksek olan PM-1 ve PM-15 kodlu bileşikler yine en aktif olan etilasetatın aktif ana fraksiyonlarından elde edilmiştir. Ancak PM-1, PM-3 ve PM-6 kodlu bileşiklerin izole edildiği sulu fraksiyon, tirozinaz enzimi üzerine herhangi bir inhibisyon etki göstermemiş hatta enzimin aktivitesini daha da arttırmıştır. Beklemediğimiz bu durumun cevabını bulmak için tirozinaz enzim aktivitesini artıracak faktörleri göz önünde bulundurarak ekstrelerde bulunan bakır miktarının analiz edilmesi istenmiştir. Tirozinaz enziminin yapısı incelendiğinde, çift çekirdekli bakır kümeleri içerdiği görülmektedir. Enzimin aktif bölgesindeki bakır atomları altı adet histidin ile çevrelenmiş moleküler oksijen ile etkileşim halindedir (6, 387). Dolayısıyla bakır, enzim aktivitesinin artmasına sebep olmaktadır.



Şekil 5. 2. Tirozinaz enziminin yapısı

Tohum ve meyve kabuklarının sulu metanollü ekstresi, etilasetatlı fraksiyonu ve sulu fraksiyonunun bakır analizi sonucuna göre ekstrelerdeki eser element bakır düzeylerinin kabuk ve tohumda yüksek oranda bulunduğu görülmüş, ancak bu oranın meyve kabuklarının sulu fraksiyonunda diğerlerine göre belirgin miktarda fazla olduğu bulunmuştur. Yapılan farklı çalışmalar, yenilebilir yabancı bitkilerin Cu konsantrasyonlarının 0.05-4.70 mg/kg, bazı kültür sebzelerinde ise 0.10-0.20 mg/kg arasında değiştiğini göstermektedir (388). Buradan hareketle fazla miktarda bakır elementi içeren meyve kabuklarının sulu ekstresinin, bakır çekirdeği taşıyan tirozinaz enzimini aktive ederek etkiyi artırdığı sonucuna varılabilir. Böylece saf maddelerin tek başına aktivitesinin yüksek olmasının sebebi bununla açıklanabilir.



Şekil 5. 3. Tohum ve meyve kabuğu ekstre ve fraksiyonlarının Cu düzeyi ölçüm değerleri

Antitirozinaz etkinlik çalışmalarından sonra ekstre ve fraksiyonların antioksidan etkinliği test edilmiştir. Vücudumuzun en dış bölgesini oluşturan cildimiz, gün içerisinde UV radyasyon, bazı ilaçlar ve kimyasal maddeler, sigara dumanı ve ozon gibi oksidasyona neden olan birçok etmene maruz kalmaktadır. Reaktif oksijen türevleri (ROS) (süperoksit radikalleri, hidroksil radikalleri, nitrik oksit) tarafından başlatılan hücre içi ve hücre dışı oksidatif stres yaşlanma ve atipik pigmentasyona sebep olmaktadır. UV, hücrelerde ROS oluşumunu arttırdığından, cilt yaşlanması genellikle UV maruziyeti ile ilgili olarak tartışılmaktadır. Dolayısıyla antioksidanlar cildin foto ve diğer etmenlerden kaynaklanan yaşlanma ile ilgili semptomlarını önlemede önemli rol oynamaktadır (12, 13). Bu bilgiler ışığında *P. mahaleb* tohum ve meyve kabuğu ekstreleri ile kabuk etilasetat ekstresinin poliamit ana fraksiyonlarının antioksidan etkinliği 5 farklı yöntemle incelenmiştir. DPPH, NO ve SO radikal süpürücü etkinlikleri kıyaslandığında meyve kabuklarından elde edilen ekstre ve ana fraksiyonların aktivitesinin tohumla kıyaslandığında daha yüksek olduğu görülmüştür. Tohum ve meyve kabuklarının her ikisinde de en yüksek etki etilasetatlı

fraksiyonlarda bulunmuştur. En aktif olan meyve kabuklarının etilasetatlı fraksiyonunun poliamit ana fraksiyonlarından Fr. C ve Fr. D'nin aktivitesi oldukça yüksek çıkmıştır. TEAC ve CUPRAC antioksidan tayin yöntemlerinde sonuçlar troloks ekivelan cinsinden hesaplanmıştır. Yine en yüksek mg Troloks/g ekstre değeri etilasetatlı fraksiyonlarda ve poliamit kolon ana fraksiyonlarından % 50 metanol ile alınan Fr. C ve % 75 metanol ile alınan Fr. D' de görülmüştür. Fr. C'den izole edilen ursolik asit ve Fr. D' den elde edilen gallik asit antioksidan etkinliklerinin yüksek olduğu bilinen bileşiklerdir. Hatta gallik asit birçok antioksidan etki çalışmasında referans bileşik olarak kullanılmaktadır (389, 390). Dolayısıyla bu fraksiyonlardaki etkinin yüksek çıkmasının sebebi bu şekilde açıklanabilir.

Tablo 5. 11. *P. mahaleb* tohum ve meyve kabuklarından elde edilen ekstre ve fraksiyonlara ait tüm antioksidan etki sonuçları

	IC ₅₀ (µg/ml)			mg Troloks/g ekstre	
	DPPH	NO	SO	TEAC	CUPRAC
Tohum % 70 MeOH ekstresi	-	1095.27 ±0.95	354.41 ±0.98	43.90 ±0.85	65.56 ±0.89
Tohum Etilasetat fraksiyonu	99.64 ±1.27	587.35 ±1.85	139.99 ±1.70	196.52 ±1.45	257.76 ±1.2
Tohum Sulu fraksiyon	-	>1000	391.44 ±1.88	51.61 ±1.25	22.98 ±1.3
Kabuk % 70 MeOH ekstresi	483.27 ±1.87	>1000	313.36 ±0.90	103.23 ±1.1	69.56 ±1.2
Kabuk Etilasetat fraksiyonu	98.69 ±1.25	529.15 ±1.10	84.09 ±2.10	177.00 ±0.95	306.83 ±0.90
Kabuk Sulu fraksiyon	315.56 ±1.65	1371.00 ±1.89	178.42 ±1.75	92.64 ±0.84	86.33 ±0.89
Kersetin	12.57 ±0,30	275.99 ±0.62	<15.00		2814 ±0.20

Tablo 5. 12. *P. mahaleb* kabuklarından elde edilen etilasetatlı fraksiyonun poliamit ana fraksiyonlarına ait tüm antioksidan etki sonuçları

	IC ₅₀ (µg/ml)			mg Troloks/g ekstre	
	DPPH	NO	SO	TEAC	CUPRAC
Fr. A	180.79 ±1.20	>1000	246.40 ±1.70	146.77 ±0.87	70.19 ±1.90
Fr. B	70.78 ±0.90	>1000	400.56 ±1.35	348.61 ±0.90	324.84 ±1.40
Fr. C	45.24 ±0.89	949.23 ±1.10	55.43 ±1.05	429.08 ±1.30	386.82 ±1.85
Fr. D	44.75 ±0.96	674.09 ±1.21	67.84 ±0.95	466.68 ±0.95	371.42 ±1.35
Fr. E	111.29 ±1.20	609.22 ±1.35	325.43 ±1.08	49.01 ±1.80	15.82 ±1.34
Kersetin	12.57 ±0.30	275.99 ±0.62	<15.0		2814 ±0.20

Tüm antioksidan sonuçları tirozinaz enzim inhibisyonu sonuçları ile karşılaştırılarak incelendiğinde;

P. mahaleb meyve kabuğunun etilasetatlı fraksiyonu her iki aktivitede de etkili bulunmuştur. Aktif bileşiklerin izole edildiği sulu fraksiyon (PM-1, PM-3, PM-6), poliamit kolonun ana fraksiyonu Fr. A (PM-1) ve Fr. D (PM-15)' nin antioksidan etkinliklerinin de yüksek oluşu bileşiklerin hiperpigmentasyonda kullanma potansiyellerini daha da artırmıştır.

En çok kullanımı olan cilt beyazlatıcı etkisi yüksek bileşiklerin bir çok toksik yan etkileri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle etkili ancak toksik etkileri olmayan ekstre ve saf bileşikler elde etmeyi hedefleyerek başladığımız tez çalışmamıza sitotoksosite çalışmaları ile devam edilmiştir. Güvenle kullanılacak maksimum konsantrasyonu belirlemek amacıyla sağlıklı hücreler üzerinde sitotoksosite deneyleri yapılmıştır. Bu deneyde L929 sağlıklı fare fibroblast hücreleri kullanılmıştır. Bu hücreleri seçme amacımızı şu şekilde açıklayabiliriz: İnsan vücudunun dış yüzeyini oluşturarak, UV, radyasyon, toksin ve bakterilere karşı koruyucu bir bariyer görevi gören derimizin

birbirine bağımlı iki tabakası epidermis ve dermistir. Bu tabakalar keratinosit, melanosit ve fibroblast gibi birçok hücreden meydana gelmektedir. Fibroblastlar cilde güç ve esneklik kazandırmaktadır. Topikal olarak cilde uygulanacak tirozinaz inhibitörü maddeler cildin tabakalarıyla dolayısıyla fibroblastlarla direk etkileşim içinde olacağından toksik konsantrasyon fibroblastların canlılığının azalmasına hatta yok olmasına sebep olacaktır. Bunların yanı sıra yeniden yapılandırılmış insan derisi ile aşılana immün toleranslı farelerde yapılan bir çalışma, insan fibroblastlarının *in vivo* melanosit pigmentasyonunu azaltma işlevi gördüğünü de belirtmektedir (391). Dolayısıyla fibroblastların zarar görmemesi hem sitotoksikite çalışmaları için iyi bir ölçüt olacak hem de hücrelerin kendisi de pigmentasyonun azalmasında rol aldığı için canlılıkları devam ettirilerek daha iyi sonuçlar alınabilecektir. MTT yöntemi kullanılarak yapılan sitotoksikite tayininde ekstre ve alt fraksiyonlar için 400 µg/ml, poliamit fraksiyonları için 200 µg/ml konsantrasyona güvenle çıkılabileceği bulunmuştur.

Antitirozinaz etki ile melanoma hücrelerine karşı sitotoksik etki arasındaki bağlantıyı belirlemek için B16F10 fare melanoma hücreleri ve A2058 insan metastatik melanoma hücreleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca melanoma dışında HeLa servikal kanser hücreleri üzerinde etki çalışmaları yapılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Meyve kabuklarından elde edilen etilasetat fraksiyonu B16F10 fare melanoma hücrelerine karşı 400 µg/ml konsantrasyonda % 46.32 oranında sitotoksik etki göstermiştir. Sitotoksikitesi en yüksek bulunan fraksiyonunun poliamit kolon fraksiyonları 10-200 µg/ml konsantrasyon aralığında araştırılmıştır. 200 µg/ml konsantrasyonda Fr. A-D'nin %3.85 ile % 96.18 arasında değişen sitotoksik etki gösterdikleri bulunmuştur. En yüksek etkiye sahip % 50 metanol ile alınan Fr. C, 200 µg/ml' de % 96.18 sitotoksik etki (IC₅₀ 101.5 µg/ml) göstermiştir.

Meyve kabuklarından elde edilen etilasetat fraksiyonu A2058 melanoma hücrelerine karşı 100 µg/ml konsantrasyonda % 59.49 sitotoksik etki göstermiştir. Bu fraksiyonunun poliamit ana fraksiyonlarının da aktivitesinin oldukça yüksek olduğu bulunmuş ve en yüksek etkinin görüldüğü Fr. C'de inhibisyonun % 92,75'e ulaşmıştır.

Ekstre ve fraksiyonların hücre seçiciliklerini incelemek için melanoma dışında farklı bir kanser hücre serisi üzerinde araştırılma yapılmak istenmiş ve bu amaçla HeLa servikal kanser hücreleri kullanılmıştır. Meyve kabuklarından elde edilen etilasetatlı fraksiyon 400 µg/ml konsantrasyonda % 17 sitotoksik etki göstermiştir. 200 µg/ml konsantrasyonda, poliamit kolondan elde edilen Fr. A-D'nin %21 ile % 44.81 arasında değişen sitotoksik etki gösterdikleri bulunmuştur.

Tüm sitotoksikite sonuçları değerlendirildiğinde, sitotoksik aktivitenin kabuk ekstrelerinde tohum ekstrelerine kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Kabuk ve tohum ekstrelerinin her ikisinde de etilasetatlı fraksiyonların sitotoksik aktivitesi daha yüksek bulunmuş ve konsantrasyona bağlı olarak etkinin de doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. Ekstre ve fraksiyonların sağlıklı hücreler üzerindeki sitotoksik etkisinin çok yüksek konsantrasyonlara çıkılmadığı takdirde oldukça düşük olduğu, kanser hücrelerinde ise fare ve insan melanoma hücrelerine karşı etki yüksek bulunurken HeLa hücrelerinde sitotoksik etkinin çok düşük olduğu bulunmuştur. Buradan hareketle ekstre ve fraksiyonların melanoma hücrelerine karşı seçici sitotoksik etki gösterdiği sonucuna varılabilir. Poliamit ana fraksiyonlarından %50 metanol ile alınan Fr. C melanoma hücrelerine karşı en yüksek etkiyi gösteren fraksiyon olmuştur. Bu fraksiyondan elde edilen ursolik asit üzerine yapılan bilimsel çalışmalara bakıldığında bu bileşiğin özellikle melanoma hücreleri üzerine güçlü sitotoksik etki gösterdiği görülmektedir (392, 393). Dolayısıyla bu fraksiyonda görülen sitotoksik etkinin ursolik asitten kaynaklandığını düşünebiliriz.

Antitirozinaz etkinliği en yüksek bulunan kabuktan elde edilen etilasetatlı fraksiyonun sitotoksik etkinliği de diğer ana ekstre ve fraksiyonlara göre fazla bulunmuştur. Poliamit ana fraksiyonlarında tirozinaz enzim inhibisyonu en yüksek bulunan % 100 su ile alınan Fr. A ve % 25 su ile alınan Fr. D iken, B16F10 melanoma hücrelerine karşı sitotoksik etkinin en fazla görüldüğü fraksiyon Fr. C bulunmuş ve bu fraksiyonu Fr. B ve Fr. D takip etmiştir. Fr. C' nin antioksidan etkinliğinin de çok yüksek olduğu göz önünde bulundurulduğunda sitotoksik etki ile antioksidan etkinlik arasında bağlantı kurulabileceği görülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dünya çapında cilt beyazlatma uygulamalarına olan taleplerin nedenleri araştırıldığında iki nedenin ön plana çıktığı dikkat çekmektedir. Bunlardan birincisi bireylerde dış/iç faktörler nedeniyle melanin pigmentinin deri ve saç köklerinde sentezi ve dağılımı ile oluşan pigmentasyona yönelik, ikincisinin ise çoğunlukla Asya ve Afrika`da bireylerin normal koyu renkli derilerinin rengini açmalarına yöneliktir. Cilt beyazlatmada kullanılan bileşiklerin türü, kullanım şekli veya suistimali ile ortaya çıkan tıbbi veya kozmetik istenmeyen yan etkilerin rapor edildiği çok sayıda çalışmanın da var olduğu görülmektedir (394, 395).

En yaygın olarak kullanılan cilt beyazlatıcı bileşikler kullanım sırasına göre kojik asit, askorbik asit, arbutin, laktik asit, glikolik asit, aloesin, salisilik asit, alfa lipoik asit ve nikotinamittir. Ancak bu bileşiklerin birçok yan etkisinin olduğu kanıtlanmış ve bu nedenle birçoğu 1223/2009 tarihli AB Kozmetik Yönetmeliği tarafından yasaklanmıştır. Bizim de tezimizdeki antitirozinaz çalışmalarında referans bileşik olarak kullandığımız kojik asit, tirozinaz inhibitörlerinin aktivitesini belirlemek amacıyla sıklıkla kullanılan bir referans maddedir. Birçok kozmetik preparatın içinde yer almakta ve besinlerdeki enzimatik kararmayı önlemek için yiyeceklerin içine konulmaktadır. Tirozinaz inhibitör aktivitesi oldukça yüksek olmasına rağmen kızarıklık, ciltte hassasiyet ve kontakt egzema gibi yan etkileri bulunmakta hatta yüksek dozlarda kansere bile sebep olmaktadır (396). Ayrıca deney hayvanları ile yapılan çalışmalar kojik asitin karaciğer ve tiroit kanserini indüklediğini de göstermektedir. Tüm bu istenmeyen yan etkilerinden dolayı Tüketici Güvenliği Bilimsel Kurulu yayınladığı bildiride kozmetik ürünlerdeki kojik asit miktarının % 1'i geçmemesi gerektiği konusunda uyarıda bulunmaktadır (397, 398).

Mevcut kullanımı olan doğal ya da sentetik bileşiklerin toksik yan etkileri göz önünde bulundurulduğunda yeni tirozinaz inhibitörlerine olan ihtiyacın arttığı görülmektedir. Toksik yan etkileri olmayan, sentez maliyetlerinin olmadığı doğal kaynaklı ekstre ve bileşikler bu ihtiyaca en iyi cevap verecek olan seçeneklerdir.

Tez çalışmamız sonucunda gıda endüstrisinde oldukça fazla kullanımı olan ve yabancı ülkelere ihraç edildiği için ülke ekonomisine de katkı sağlayan *P. mahaleb* L. tohum ve meyve kabukları (endokarp) hem biyolojik etki hem de kimyasal bileşimleri açısından ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Fitokimyasal çalışmalar sonucunda 15 saf bileşik elde edilmiş ve bu bileşiklerden 1 tanesi yeni olmak üzere 11 bileşiğin yapıları ileri analiz yöntemleri ile aydınlatılmıştır.

İzole edilen bileşiklerin çoğunu oluşturan sinamik asit türevi bileşiklerin aktivitesi ve *Prunus* türleri üzerinde yapılan çalışmalardan yola çıkarak elde edilen ekstrelerin, fraksiyonların ve saf bileşiklerin mantar tirozinaz enzim inhibisyonu incelenmiş aktivitesi yüksek bulunan saf bileşikler üzerinde hücrel melanin inhibisyonu ve hücrel tirozinaz enzim inhibisyonu deneyleri yapılmıştır. Saf maddelerin enzim kinetiği incelenerek inhibisyon tipi ve hızı aydınlatılmış ve K_i değerleri hesaplanarak enzime olan ilgileri bağlanma katsayısı olarak ifade edilmiştir. Saf bileşiklere ait sonuçlar yorumlanarak yapı- etki ilişkileri ortaya konmuştur.

Serbest radikallerin birçok hastalığın sebebini oluşturduğu bilinmektedir. Tıbbi ve kozmetik amaçla kullanılan tirozinaz inhibitörleri için de antioksidan etki istenen bir durumdur. Bu nedenle ekstre ve fraksiyonların antioksidan aktiviteleri incelenmiş ve elde edilen saf bileşiklerin tirozinaz enzim inhibisyonunun yanında yüksek antioksidan aktivite ile de dikkat çektiği görülmüştür.

Piyasada cilt beyazlatıcı olarak kullanılan bir çok bileşiğin toksik yan etkileri olduğunu göz önünde bulundurarak sağlıklı fibroblast hücreleri üzerinde sitotoksik aktivite incelemesi yapılmış ve antitirozinaz etkinin %100 olduğu konsantrasyonlarda sağlıklı hücrelere karşı toksik etki gözlenmemiştir. Böylece güvenle kullanılacak konsantrasyon aralığı belirlenmiştir. Numuneler, melanositlerin kontrolsüz çoğalması sonucu oluşan bir kanser türü olan 2 farklı melanoma hücresi üzerinde test edilmiş, fraksiyonların oldukça etkili olduğu bulunmuştur. Farklı bir kanser hücre serisine karşı da etki incelenerek ekstre ve fraksiyonların kanser hücrelerine karşı seçicilikleri test edilmiştir.

Tez çalışmamız sırasında *P. mahaleb* kabuklarından elde edilen ekstre ve sinnamik asit türevi saf bileşikler üzerinde tirozinaz enzim inhibisyonu aktivitesi ilk kez tez çalışmamız ile gerçekleştirilmiştir. Sağlıklı hücreler üzerinde toksik etki göstermeyen, antioksidan aktivitesi yüksek fraksiyon ve bileşikler yeni cilt beyazlatıcı kozmetik ajanlar olarak kullanılmak üzere yüksek potansiyellere sahiptirler. Bileşikler içerisinde antitirozinaz etkinliği en yüksek bulunan ve tez çalışmamız ile doğadan ilk kez izole edilen PM-15 bileşiğinin, enzime olan yüksek bağlanma gücü de değerlendirildiğinde çok iyi bir cilt beyazlatıcı aday olabileceği görülmektedir.

Tez çalışmamız sırasında elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde stabilite çalışmaları yapılarak elde edilen maddeler ve/veya fraksiyonlardan en uygun formda preparatların hazırlanması uygun olacaktır. Yapılacak ileri çalışmalar ile yüksek etkili cilt beyazlatıcı özelliği sahip bileşikleri içeren *Prunus mahaleb* L. meyve kabukları (endokarp) kozmetik endüstrisi için önemli potansiyel kaynak olacak, halen ciddi anlamda kullanılmayan mahlep kabukları tohumlardan sonra ekonomik olarak değer kazanacaktır.

KAYNAKLAR

1. Franklin LM, Mitchell AE. Review of the Sensory and Chemical Characteristics of Almond (*Prunus dulcis*) Flavor. J Agric Food Chem. 2019;67(10):2743-53.
2. Pillaiyar T, Manickam M, Namasivayam V. Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. J Enzyme Inhib Med Chem. 2017;32(1):403-25.
3. Chang T-S. Natural melanogenesis inhibitors acting through the down-regulation of tyrosinase activity. Materials. 2012;5:1661-85.
4. Prota G. Progress in the chemistry of melanins and related metabolites. Med Res Rev. 1988;8(4):525-56.
5. Lee C-H, Wu S-B, Hong C-H, Yu H-S, Wei Y-H. Molecular mechanisms of UV-induced apoptosis and its effects on skin residential cells: the implication in UV-based phototherapy. Int J Mol Sci. 2013;14:6414-35.
6. Burton SG. Biocatalysis with polyphenol oxidase: a review. Catal Today. 1994;22(3):459-87.
7. Fujimoto N, Onodera H, Mitsumori K, Tamura T, Maruyama S, Ito A. Changes in thyroid function during development of thyroid hyperplasia induced by kojic acid in F344 rats. Carcinogenesis. 1999;20(8):1567-71.
8. Baytop T. Türkiye' de Bitkilerle Tedavi: Nobel Tıp Kitapevi; 1999.
9. Özçelik B, Koca U, Kaya DA, Şekeroğlu N. Evaluation of the in vitro bioactivities of mahaleb cherry (*Prunus mahaleb* L.). Romanian Biotechnological Letters. 2012;17(6):7863-72.
10. Mariod AA, Ibrahim RM, Ismail M, Ismail N. Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. Food Chemistry. 2010;118(1):120-7.
11. B Özçelik UK, DA Kaya, N Şekeroğlu. Evaluation of the in vitro bioactivities of mahaleb cherry (*Prunus mahaleb* L.). Romanian Biotechnological Letters. 2012;17(6).
12. Masaki H. Role of antioxidants in the skin: Anti-aging effects. J Dermatol Sci. 2010;58(2):85-90.
13. Kohen R. Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress - new approaches for their evaluation. Biomed Pharmacother. 1999;53(4):181-92.
14. Davis PH. Rosaceae. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. 4. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1972. p. 8-19.

15. Rashid F, Ahmed R, Mahmood A, Ahmad Z, Bibi N, Kazmi SU. Flavonoid glycosides from *Prunus armeniaca* and the antibacterial activity of a crude extract. Arch Pharmacol Res. 2007;30(8):932-7.
16. Sang S, Lapsley K, Jeong W-S, Lachance PA, Ho C-T, Rosen RT. Antioxidative Phenolic Compounds Isolated from Almond Skins (*Prunus amygdalus* Batsch). J Agric Food Chem. 2002;50(8):2459-63.
17. Olszewska MA, Kwapisz A. Metabolite profiling and antioxidant activity of *Prunus padus* L. flowers and leaves. Nat Prod Res. 2011;25(12):1115-31.
18. Mokrani A, Krisa S, Cluzet S, Da Costa G, Temsamani H, Renouf E, et al. Phenolic contents and bioactive potential of peach fruit extracts. Food Chem. 2016;202:212-20.
19. Marchelak A, Owczarek A, Rutkowska M, Michel P, Kolodziejczyk-Czepas J, Nowak P, et al. New insights into antioxidant activity of *Prunus spinosa* flowers: Extracts, model polyphenols and their phenolic metabolites in plasma towards multiple in vivo-relevant oxidants. Phytochem Lett. 2019;30:288-95.
20. Sakar MK, Kolodziej H. Flavonoid glycosides from the flowers of *Prunus spinosa*. Fitoterapia. 1993;64(2):180-1.
21. Olszewska M. Flavonoids from *Prunus serotina* Ehrh. Acta Pol Pharm. 2005;62(2):127-33.
22. Yan X-T, Li W, Sun Y-N, Yang S-Y, Lee S-H, Chen J-B, et al. Identification and biological evaluation of flavonoids from the fruits of *Prunus mume*. Bioorg Med Chem Lett. 2014;24(5):1397-402.
23. Zhang Q, Zhang L, Shang L, Shao C, Wu Y. Studies on the chemical constituents of flowers of *Prunus mume*. Zhongyaocai. 2008;31(11):1666-8.
24. Nakamura S, Fujimoto K, Matsumoto T, Nakashima S, Ohta T, Ogawa K, et al. Acylated sucroses and acylated quinic acids analogs from the flower buds of *Prunus mume* and their inhibitory effect on melanogenesis. Phytochemistry. 2013;92:128-36.
25. Bottone A, Montoro P, Masullo M, Pizza C, Piacente S. Metabolomics and antioxidant activity of the leaves of *Prunus dulcis* Mill. (Italian cvs. Toritto and Avola). J Pharm Biomed Anal. 2018;158:54-65.
26. Villanua Marti MP, Conde Arias-Camison E, Cadahia Fernandez E, Garcia Vallejo MC. Polyphenolic compounds of dried apricots (*Prunus armeniaca* L.). An Bromatol. 1992;44(1):71-6.
27. Bose M, Karande AA, Kamra M, Bhattacharya S, Mullick R, Das S, et al. Identification of a flavonoid isolated from plum (*Prunus domestica*) as a potent inhibitor of Hepatitis C virus entry. Sci Rep. 2017;7(1):3965.

28. Celik F, Gundogdu M, Alp S, Muradoglu F, Ercisli S, Gecer MK, et al. Determination of phenolic compounds, antioxidant capacity and organic acids contents of *Prunus domestica* L., *Prunus cerasifera* Ehrh. and *Prunus spinosa* L. fruits by HPLC. *Acta Chromatogr.* 2017;29(4):507-10.
29. Wei Q, Ji X-y, Long X-s, Li Q-r, Yin H. Chemical constituents extracted from leaves of *Prunus cerasifera* Ehrh. cv. *Atropurpurea* Jacq. and their antioxidant activities *in vitro*. *Linchuan Huaxue Yu Gongye.* 2015;35(5):116-22.
30. Abid S, Khajuria A, Parvaiz Q, Sidiq T, Bhatia A, Singh S, et al. Immunomodulatory studies of a bioactive fraction from the fruit of *Prunus cerasus* in BALB/c mice. *Int Immunopharmacol.* 2012;12(4):626-34.
31. Han J-T, Lee S-Y, Kim K-N, Baek N-I. Rutin, an antioxidant compound isolated from the fruit of *Prunus memu*. *Han'guk Nonghwa Hakhoechi.* 2001;44(1):35-7.
32. Baltas N, Pakyildiz S, Can Z, Dincer B, Kolayli S. Biochemical properties of partially purified polyphenol oxidase and phenolic compounds of *Prunus spinosa* L. subsp. *dasyphylla* as measured by HPLC-UV. *Int J Food Prop.* 2017;20(sup2):1377-91.
33. Gultekin-Ozguven M, Davarci F, Pasli AA, Demir N, Ozcelik B. Determination of phenolic compounds by ultra high liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Applications in nuts. *LWT--Food Sci Technol.* 2015;64(1):42-9.
34. Li Q, Chang X-X, Wang H, Brennan CS, Guo X-B. Phytochemicals Accumulation in Sanhua Plum (*Prunus salicina* L.) during Fruit Development and Their Potential Use as Antioxidants. *J Agric Food Chem.* 2019;67(9):2459-66.
35. Choi JS, Woo WS, Young HS, Park JH. Phytochemical study on *Prunus davidiana*. *Arch Pharmacol Res.* 1990;13(4):374-8.
36. Kim SK, Kim HJ, Choi SE, Park KH, Choi HK, Lee MW. Anti-oxidative and inhibitory activities on nitric oxide (NO) and prostaglandin E2 (COX-2) production of flavonoids from seeds of *Prunus tomentosa* Thunberg. *Arch Pharmacol Res.* 2008;31(4):424-8.
37. Backheet EY, Farag SF, Ahmed AS, Sayed HM. Flavonoids and cyanogenic glycosides from the leaves and stem bark of *Prunus persica* (L.) Batsch (Meet Ghamr) peach local cultivar in Assiut region. *Bull Pharm Sci, Assiut Univ.* 2003;26(1):55-66.
38. Akkol EK, Kirmizibekmez H, Kucukboyaci N, Goren AC, Yesilada E. Isolation of active constituents from cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) leaves through bioassay-guided procedures. *J Ethnopharmacol.* 2012;139(2):527-32.
39. Olszewska M, Wolbis M. Further flavonoids from the flowers of *Prunus spinosa* L. *Acta Pol Pharm.* 2002;59(2):133-7.

40. Dziadek K, Kopec A, Tabaszewska M. Potential of sweet cherry (*Prunus avium* L.) by-products: bioactive compounds and antioxidant activity of leaves and petioles. *Eur Food Res Technol*. 2019;245(3):763-72.
41. Takagi S, Yamaki M, Masuda K, Kubota M, Minami J. Studies on the purgative drugs. III. On the constituents of the flowers of *Prunus persica* Batsch. *Yakugaku Zasshi*. 1977;97(1):109-11.
42. Parmar VS, Vardhan A, Nagarajan GR, Jain R. Dihydroflavonols from *Prunus domestica*. *Phytochemistry*. 1992;31(6):2185-6.
43. Henning W, Herrmann K. Flavonol tetraglycosides from the leaves of *Prunus cerasus* and *P. avium*. *Phytochemistry*. 1980;19(12):2727-9.
44. Hasegawa M. Flavonoids of various *Prunus* species. IX. Two new flavonoid glycosides from the wood of *Prunus mume*. *Shokubutsugaku Zasshi*. 1969;82(970):148-54.
45. Zhang X, Lin Z, Fang J, Liu M, Niu Y, Chen S, et al. An on-line high-performance liquid chromatography-diode-array detector-electrospray ionization-ion-trap-time-of-flight-mass spectrometry-total antioxidant capacity detection system applying two antioxidant methods for activity evaluation of the edible flowers from *Prunus mume*. *J Chromatogr A*. 2015;1414:88-102.
46. Raturi R, Sati SC, Badoni PP, Singh H, Sati MD. Chemical constituents of *Prunus persica* stem bark. *J Sci Res (Rajshahi, Bangladesh)*. 2012;4(3):769-74.
47. Thapliyal RP, Bahuguna RP. Constituents of *Prunus cerasoides*. *Fitoterapia*. 1993;64(5):473.
48. Nowicka P, Wojdylo A. Content of bioactive compounds in the peach kernels and their antioxidant, anti-hyperglycemic, anti-aging properties. *Eur Food Res Technol*. 2019;245(5):1123-36.
49. Li C, Jiang Z-t, Li R. Identification of chemical constituents of flavonoids in leaves of *Prunus pseudocerasus* L. by HPLC-MS-MS. *Shipin Kexue (Beijing, China)*. 2013;34(16):226-30.
50. Mahmood A, Fatima I, Kosar S, Ahmed R, Malik A. Structural determination of prunusins A and B, new C-alkylated flavonoids from *Prunus domestica*, by 1D and 2D NMR spectroscopy. *Magn Reson Chem*. 2010;48(2):151-4.
51. Baek SC, Park MH, Ryu HW, Lee JP, Kang M-G, Park D, et al. Rhamnocitrin isolated from *Prunus padus* var. *seoulensis*: A potent and selective reversible inhibitor monoamine oxidase A. *Bioorg Chem*. 2019;83:317-25.
52. Choi JS, Yokozawa T, Oura H. Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*. *J Nat Prod*. 1991;54(1):218-24.

53. Nagarajan GR, Parmar VS. Chemical examination of the heartwood of *Prunus domestica*. *Planta Med.* 1977;31(2):146-50.
54. Jangwan JS, Bahuguna RP. Puddumin-B, a new flavanone glycoside from *Prunus cerasoides*. *Int J Crude Drug Res.* 1989;27(4):223-6.
55. Shrivastava SP. A flavanone glycoside from *Prunus cerasoides*. *Phytochemistry.* 1982;21(6):1464-5.
56. Radi M, Mahrouz M, Jaouad A, Amiot MJ. Characterization and identification of some phenolic compounds in apricot fruit (*Prunus armeniaca* L.). *Sci Aliments.* 2004;24(2):173-84.
57. Jung HA, Ali MY, Bhakta HK, Min B-S, Choi JS. Prunin is a highly potent flavonoid from *Prunus davidiana* stems that inhibits protein tyrosine phosphatase 1B and stimulates glucose uptake in insulin-resistant HepG2 cells. *Arch Pharmacol Res.* 2017;40(1):37-48.
58. Pacheco H, Brachet AM. Flavonic heterosides of the wood of *Prunus mahaleb*. *Compt rend.* 1960;250:1106-7.
59. Murata K, Takahashi K, Nakamura H, Itoh K, Matsuda H. Search for skin-whitening agent from *Prunus* plants and the molecular targets in melanogenesis pathway of active compounds. *Nat Prod Commun.* 2014;9(2):185-8.
60. Yamauchi Y, Okuyama T, Ishii T, Okumura T, Ikeya Y, Nishizawa M. Sakuranetin downregulates inducible nitric oxide synthase expression by affecting interleukin-1 receptor and CCAAT/enhancer-binding protein β . *J Nat Med.* 2019;73(2):353-68.
61. Rawat MSM, Pant G, Kukreti R, Sakakibara J, Nagatsu A. A persicogenin 3'-glucoside from the stem bark of *Prunus amygdalus*. *Phytochemistry.* 1995;38(6):1519-20.
62. Yoshinari K, Shimazaki N, Sashida Y, Mimaki Y. Flavanone xyloside and lignans from *Prunus jamasakura* bark. *Phytochemistry.* 1990;29(5):1675-8.
63. Jung HA, Chung HY, Kang SS, Hyun SK, Kang HS, Choi JS. A phenolic glucoside isolated from *Prunus serrulata* var. *spontanea* and its peroxynitrite scavenging activity. *Arch Pharmacol Res.* 2005;28(10):1127-30.
64. Plouvier V. Some constituents in the barks of *Prunus mahaleb*. *Compt rend.* 1960;250:594-6.
65. Yang G, Ham I, Choi H-Y. Anti-inflammatory effect of prunetin via the suppression of NF- κ B pathway. *Food Chem Toxicol.* 2013;58:124-32.

66. Khalid SA, Gellert M, Szendrei K, Duddeck H. Prunetin 5-*O*- β -D-glucopyranoside, an isoflavone from the peduncle of *Prunus avium* and *P. cerasus*. *Phytochemistry*. 1989;28(5):1560-1.
67. Bach SM, Perotti ME, Merep AP, Marcial GE, Grau A, Attarian R, et al. Chemical constituents, anti-inflammatory and antioxidant activities of bark extracts from *Prunus tucumanensis* Lillo. *Nat Prod Res*. 2013;27(10):916-9.
68. Gerardi C, Tommasi N, Albano C, Blando F, Rescio L, Pinthus E, et al. *Prunus mahaleb* L. fruit extracts: a novel source for natural food pigments. *Eur Food Res Technol*. 2015;241(5):683-95.
69. Chang H, Lan Y, Zhou J, He H, Gao H, Feng C. Isolation and identification of anthocyanins in the fruits of *Prunus humilis* Bunge. *Shipin Kexue (Beijing, China)*. 2011;32(9):59-63.
70. Wang Y, Chen X, Zhang Y, Chen X. Antioxidant activities and major anthocyanins of myrobalan plum (*Prunus cerasifera* Ehrh.). *J Food Sci*. 2012;77(4):C388-C93.
71. Dziadek K, Kopec A, Czaplicki S. The petioles and leaves of sweet cherry (*Prunus avium* L.) as a potential source of natural bioactive compounds. *Eur Food Res Technol*. 2018;244(8):1415-26.
72. Abe Y, Iwase Y. Anthocyanin in *Prunus lannesiana* flowers. *Nihon Daigaku Bunrigakubu Kenkyu Nempo*. 1976;25:1-7.
73. Ramos T, Macheix JJ. Phenols of blackthorn (*Prunus spinosa* L.) fruit. *Plant Med Phytother*. 1990;24(1):14-20.
74. Ieri F, Pinelli P, Romani A. Simultaneous determination of anthocyanins, coumarins and phenolic acids in fruits, kernels and liqueur of *Prunus mahaleb* L. *Food Chem*. 2012;135(4):2157-62.
75. Hayaloglu AA, Demir N. Phenolic Compounds, Volatiles, and Sensory Characteristics of Twelve Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Cultivars Grown in Turkey. *J Food Sci*. 2016;81(1):C7-C18.
76. Gonzalez AG, Irizar AC, Ravelo AG, Fernandez Fernandez M. Type A proanthocyanidins from *Prunus spinosa*. *Phytochemistry*. 1992;31(4):1432-4.
77. Bilia AR, Morelli I, Hamburger M, Hostettmann K. Flavans and A-type proanthocyanidins from *Prunus prostrata*. *Phytochemistry*. 1996;43(4):887-92.
78. Rawat MSM, Prasad D, Joshi RK, Pant G. Proanthocyanidins from *Prunus armeniaca* roots. *Phytochemistry*. 1998;50(2):321-4.
79. Xie L, Roto AV, Bolling BW. Characterization of ellagitannins, gallotannins, and bound proanthocyanidins from California almond (*Prunus dulcis*) varieties. *J Agric Food Chem*. 2012;60(49):12151-6.

80. Donno D, Mellano MG, De Biaggi M, Riondato I, Rakotoniaina EN, Beccaro GL. New findings in *Prunus padus* L. fruits as a source of natural compounds: characterization of metabolite profiles and preliminary evaluation of antioxidant activity. *Molecules*. 2018;23(4):725/1-/18.
81. Sang S, Lapsley K, Rosen RT, Ho C-T. New Prenylated Benzoic Acid and Other Constituents from Almond Hulls (*Prunus amygdalus* Batsch). *J Agric Food Chem*. 2002;50(3):607-9.
82. Qureshi MN, Numonov S, Abudurexiti A, Aisa HA. Phytochemical investigations and evaluation of antidiabetic potential of *Prunus dulcis* nuts. *LWT--Food Sci Technol*. 2016;66:311-7.
83. Stojanovic BT, Mitic SS, Stojanovic GS, Mitic MN, Kostic DA, Paunovic DD, et al. Phenolic profile and antioxidant activity of pulp and peel from peach and nectarine fruits. *Not Bot Horti Agrobot Cluj-Napoca*. 2016;44(1):175-82.
84. Bilia AR, Cecchini C, Marsili A, Morelli I, Mele S. Coumarins and other constituents of *Prunus prostrata*. *J Nat Prod*. 1993;56(12):2142-8.
85. El-Dakhakhny M. Isolation of herniarin and a new β -D-glucoside of 7-methoxycoumaric acid from the seeds (kernels) of *Prunus mahaleb*. III. *Planta Med*. 1964;12(2):181-7.
86. Jeong JT, Moon J-H, Park K-H, Shin CS. Isolation and characterization of a new compound from *Prunus mume* fruit that inhibits cancer cells. *J Agric Food Chem*. 2006;54(6):2123-8.
87. Kayano S-i, Kikuzaki H, Ikami T, Suzuki T, Mitani T, Nakatani N. A new bipyrrole and some phenolic constituents in prunes (*Prunus domestica* L.) and their oxygen radical absorbance capacity (ORAC). *Biosci, Biotechnol, Biochem*. 2004;68(4):942-4.
88. Kayano S-i, Kikuzaki H, Yamada NF, Aoki A, Kasamatsu K, Yamasaki Y, et al. Antioxidant properties of prunes (*Prunus domestica* L.) and their constituents. *BioFactors*. 2004;21(1-4):309-13.
89. Xu Q, Xie H, Yoshikawa M. Chemical constituents from the seeds of *Prunus domestica* L. *Redai Yaredai Zhiwu Xuebao*. 2012;20(3):299-302.
90. Al-Said MS, Hifnawy MS. Dihydrocoumarin and certain other coumarins from *Prunus mahaleb* seeds. *J Nat Prod*. 1986;49(4):721.
91. El-Dakhakhny M. Some coumarin constituents of *Prunus mahaleb* fruit kernels. V. *J Pharm Sci*. 1970;59(4):551-3.
92. Nakatani N, Kayano S-i, Kikuzaki H, Sumino K, Katagiri K, Mitani T. Identification, Quantitative Determination, and Antioxidative Activities of Chlorogenic Acid Isomers in Prune (*Prunus domestica* L.). *J Agric Food Chem*. 2000;48(11):5512-6.

93. Mitani T, Ota K, Inaba N, Kishida K, Koyama HA. Antimicrobial activity of the phenolic compounds of *Prunus mume* against Enterobacteria. *Biol Pharm Bull.* 2018;41(2):208-12.
94. Meschini S, Pellegrini E, Condello M, Occhionero G, Delfine S, Condello G, et al. Cytotoxic and apoptotic activities of *Prunus spinosa* trigono ecotype extract on human cancer cells. *Molecules.* 2017;22(9):1578/1-/16.
95. Jin Q, Lee C, Lee JW, Lee IS, Lee MK, Jeon WK, et al. Chemical constituents from the fruits of *Prunus mume*. *Nat Prod Sci.* 2012;18(3):200-3.
96. Noshita T, Sakaguchi A, Funayama S. Isolation of ethyl caffeate from the petals of *Prunus yedoensis*. *J Nat Med.* 2006;60(3):266-7.
97. Aliyazicioglu R, Yildiz O, Sahin H, Eyupoglu OE, Ozkan MT, Karaoglu SA, et al. Phenolic Components and Antioxidant Activity of *Prunus spinosa* from Gumushane, Turkey. *Chem Nat Compd.* 2015;51(2):346-9.
98. Ina H, Yamada K, Miyazaki T. Isolation of benzyl glucoside and chlorogenic acids from the fruits of *Prunus mume*. *Nat Med (Tokyo).* 1999;53(2):109.
99. Saidani F, Gimenez R, Aubert C, Chalot G, Betran JA, Gogorcena Y. Phenolic, sugar and acid profiles and the antioxidant composition in the peel and pulp of peach fruits. *J Food Compos Anal.* 2017;62:126-33.
100. Loizzo MR, Pacetti D, Lucci P, Nunez O, Menichini F, Frega NG, et al. *Prunus persica* var. *platycarpa* (Tabacchiera Peach): Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Pulp, Peel and Seed Ethanolic Extracts. *Plant Foods Hum Nutr (N Y, NY, U S).* 2015;70(3):331-7.
101. Purohit MC, Rawat MSM, Pant G, Nautiyal AK, Sakakibara J, Kaiya T. A methyl ester of melilotoside from the sapwood of *Prunus cornuta*. *Phytochemistry.* 1993;32(2):431-2.
102. Yusakawa K, Dimitrijevic SM, Evans FJ, Kawabata S, Takido M. Inhibitory effect of Pruni Cortex extract and its component, octacosyl ferulate, on tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Phytother Res.* 1998;12(4):261-5.
103. Shimazaki N, Mimaki Y, Sashida Y. Prunasin and acetylated phenylpropanoic acid sucrose esters, bitter principles from the fruits of *Prunus jamasakura* and *P. maximowiczii*. *Phytochemistry.* 1991;30(5):1475-80.
104. Chandra S, Sastry MS. Chemical constituents from *Prunus persica* leaves. *Fitoterapia.* 1990;61(4):379.
105. Li X-n, Chen Y-y, Zhou J-t, Wang Y-f, Jiang M-m. Chemical constituents of the fruits of *Prunus cerasifera*. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa.* 2015;27(8):1362-4.

106. Kono R, Nomura S, Okuno Y, Nakamura M, Maeno A, Kagiya T, et al. 3,4-dihydroxybenzaldehyde derived from *Prunus mume* seed inhibits oxidative stress and enhances estradiol secretion in human ovarian granulosa tumor cells. *Acta Histochem Cytochem*. 2014;47(3):103-12, 10 pp.
107. Prasad D. A new aromatic glycoside from the roots of *Prunus armeniaca*. *Fitoterapia*. 1999;70(3):266-8.
108. Schleich S, Papaioannou M, Baniahmad A, Matusch R. Activity-guided isolation of an antiandrogenic compound of *Pygeum africanum*. *Planta Med*. 2006;72(6):547-51.
109. Raturi R, Sati SC, Singh H, Sati MD, Bahuguna P, Badoni PP. Chemical examination and anti inflammatory activity of *Prunus persica* steam bark. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2011;3(Suppl.5):315-7.
110. Dhingra N, Kar A, Sharma R, Bhasin S. *In-vitro* antioxidative potential of different fractions from *Prunus dulcis* seeds: Vis a vis antiproliferative and antibacterial activities of active compounds. *S Afr J Bot*. 2017;108:184-92.
111. Bidel LPR, Meyer S, Goulas Y, Cadot Y, Cerovic ZG. Responses of epidermal phenolic compounds to light acclimation: *In vivo* qualitative and quantitative assessment using chlorophyll fluorescence excitation spectra in leaves of three woody species. *J Photochem Photobiol, B*. 2007;88(2-3):163-79.
112. Loizzo MR, Pacetti D, Lucci P, Nunez O, Menichini F, Frega NG, et al. *Prunus persica* var. *platycarpa* (Tabacchiera Peach): Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Pulp, Peel and Seed Ethanolic Extracts. *Plant Foods Hum Nutr*. 2015;70(3):331-7.
113. Kim GJ, Choi HG, Kim JH, Kim SH, Kim JA, Lee SH. Anti-allergic inflammatory effects of cyanogenic and phenolic glycosides from the seed of *Prunus persica*. *Nat Prod Commun*. 2013;8(12):1739-40.
114. Zhao W, Huang X-X, Yu L-H, Liu Q-B, Li L-Z, Sun Q, et al. Tomensides A-D, new antiproliferative phenylpropanoid sucrose esters from *Prunus tomentosa* leaves. *Bioorg Med Chem Lett*. 2014;24(11):2459-62.
115. Fujimoto K, Nakamura S, Matsumoto T, Ohta T, Ogawa K, Tamura H, et al. Medicinal flowers. XXXVIII. structures of acylated sucroses and inhibitory effects of constituents on aldose reductase from the flower buds of *Prunus mume*. *Chem Pharm Bull*. 2013;61(4):445-51.
116. Fujimoto K, Nakamura S, Matsumoto T, Ohta T, Yoshikawa M, Ogawa K, et al. Structures of acylated sucroses from the flower buds of *Prunus mume*. *J Nat Med*. 2014;68(3):481-7.

117. Matsuda H, Morikawa T, Ishiwada T, Managi H, Kagawa M, Higashi Y, et al. Medicinal flowers. VIII. Radical scavenging constituents from the flowers of *Prunus mume*: Structure of prunose III. *Chem Pharm Bull.* 2003;51(4):440-3.
118. Liu Q-B, Huang X-X, Bai M, Chang X-B, Yan X-J, Zhu T, et al. Antioxidant and anti-inflammatory active dihydrobenzofuran neolignans from the seeds of *Prunus tomentosa*. *J Agric Food Chem.* 2014;62(31):7796-803.
119. Liu Q-B, Huang X-X, Yan X-J, Bai M, Yu L-H, Hu C, et al. Neolignans from the seeds of *Prunus tomentosa* (Rosaceae) and their chemotaxonomic interest. *Biochem Syst Ecol.* 2014;55:236-40.
120. Liu Q-B, Huang X-X, Bai M, Chang X-B, Yan X-J, Zhu T, et al. Antioxidant and Anti-inflammatory Active Dihydrobenzofuran Neolignans from the Seeds of *Prunus tomentosa*. *J Agric Food Chem.* 2014;62(31):7796-803.
121. Miyazawa M, Utsunomiya H, Inada K-I, Yamada T, Okuno Y, Tanaka H, et al. Inhibition of *Helicobacter pylori* motility by (+)-Syringaresinol from unripe Japanese apricot. *Biol Pharm Bull.* 2006;29(1):172-3.
122. Kitajima J, Tanaka Y. Constituents of *Prunus zippeliana* leaves and branches. *Chem Pharm Bull.* 1993;41(11):2007-9.
123. D'Agostino M, Ramundo E. Phytochemical study on *Prunus cocomilia*. *Fitoterapia.* 1989;60(5):478.
124. Wolbis M, Olszewska M, Wesolowski WJ. Triterpenes and sterols in the flowers and leaves of *Prunus spinosa* L. (Rosaceae). *Acta Pol Pharm.* 2001;58(6):459-62.
125. Schwarzmaier U. Prunasin, daucosterin, and sitosterol from the bitter seeds of *Prunus amygdalus*. *Phytochemistry.* 1972;11(7):2358.
126. Kosar S, Fatima I, Mahmood A, Ahmed R, Malik A, Talib S, et al. Purunusides A-C, alpha-glucosidase inhibitory homoisoflavone glucosides from *Prunus domestica*. *Arch Pharm Res.* 2009;32(12):1705-10.
127. Elmastas M, Genc N, Demirtas I, Aksit H, Aboul-Enien HY. Isolation and Identification of Functional Components in Seed of Cherry Laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and Investigation of Their Antioxidant Capacity. *J Biol Act Prod Nat.* 2013;3(2):115-20.
128. Et-Dakhkhny M, Fayez MBE. Steroid constituents of *Prunus mahaleb* fruit kernels. II. *Planta Med.* 1962;10:455-8.
129. Yan X-T, Lee S-H, Li W, Jang H-D, Kim Y-H. Terpenes and sterols from the fruits of *Prunus mume* and their inhibitory effects on osteoclast differentiation by suppressing tartrate-resistant acid phosphatase activity. *Arch Pharmacol Res.* 2015;38(2):186-92.

130. Maiyo F, Moodley R, Singh M. Phytochemistry, cytotoxicity and apoptosis studies of β -sitosterol-3-*O*-glucoside and β -amyrin from *Prunus africana*. *Afr J Tradit, Complementary Altern Med*. 2016;13(4):105-12.
131. Amico V, Barresi V, Condorelli D, Spatafora C, Tringali C. Antiproliferative Terpenoids from Almond Hulls (*Prunus dulcis*): Identification and Structure-Activity Relationships. *J Agric Food Chem*. 2006;54(3):810-4.
132. Yan X-T, Lee S-H, Li W, Jang H-D, Kim Y-H. Terpenes and sterols from the fruits of *Prunus mume* and their inhibitory effects on osteoclast differentiation by suppressing tartrate-resistant acid phosphatase activity. *Arch Pharm Res*. 2015;38(2):186-92.
133. Jung HA, Chung HY, Jung JH, Choi JS. A new pentacyclic triterpenoid glucoside from *Prunus serrulata* var. *spontanea*. *Chem Pharm Bull*. 2004;52(1):157-9.
134. Lee M-J, Kim J-H, Cha B-J, Seo K-H, Baek N-I, Lee Y-H. Triterpenoids from the fruits of *Prunus davidiana*. *J Appl Biol Chem*. 2016;59(2):155-8.
135. Biessels HWA, Van der Kerk-Van Hoof AC, Kettenes-Van den Bosch JJ, Salemink CA. Constituents of *Prunus* species. I. Triterpenes of *Prunus serotina* and *P. lusitanica*. *Phytochemistry*. 1974;13(1):203-7.
136. Berni R, Hoque MZ, Legay S, Cai G, Siddiqui KS, Hausman J-F, et al. Tuscan varieties of sweet cherry are rich sources of ursolic and oleanolic acid: protein modeling coupled to targeted gene expression and metabolite analyses. *Molecules*. 2019;24(8):1590.
137. Ali L, Shaheen F. Isolation and structure elucidation of a new triterpenoid from *Prunus cerasoides* D. Don. *Rec Nat Prod*. 2013;7(2):80-5.
138. Lin BB, Lin YS. Anti-protozoa activity of ursolic acid isolated from leaves of *Prunus persica* (L.) Batsch. *Chem Express*. 1992;7(4):285-8.
139. Luna-Vazquez FJ, Ibarra-Alvarado C, Rojas-Molina A, Romo-Mancillas A, Lopez-Vallejo FH, Solis-Gutierrez M, et al. Role of nitric oxide and hydrogen sulfide in the vasodilator effect of ursolic acid and uvaol from black cherry *Prunus serotina* fruits. *Molecules*. 2016;21(1):78/1-16.
140. Sang S, Cheng X, Fu H-Y, Shieh D-E, Bai N, Lapsley K, et al. New type sesquiterpene lactone from almond hulls (*Prunus amygdalus* Batsch). *Tetrahedron Lett*. 2002;43(14):2547-9.
141. Kayano S-i, Kikuzaki H, Hashimoto S, Kasamatsu K, Ikami T, Nakatani N. Glucosyl terpenates from the dried fruits of *Prunus domestica* L. *Phytochem Lett*. 2014;8:132-6.
142. Fukuda T, Ito H, Mukainaka T, Tokuda H, Nishino H, Yoshida T. Anti-tumor promoting effect of glycosides from *Prunus persica* seeds. *Biol Pharm Bull*. 2003;26(2):271-3.

143. Santamour FS, Jr. Amygdalin in *Prunus leaves*. *Phytochemistry*. 1998;47(8):1537-8.
144. Kumarasamy Y, Cox PJ, Jaspars M, Nahar L, Sarker SD. Cyanogenic glycosids from *Prunus spinosa* (Rosaceae). *Biochem Syst Ecol*. 2003;31(9):1063-5.
145. Rho J-R, Jun C-S, Ha Y-A, Yoo M-J, Cui M-X, Baek H-S, et al. Isolation and characterization of a new alkaloid from the seed of *Prunus persica* L. and its anti-inflammatory activity. *Bull Korean Chem Soc*. 2007;28(8):1289-93.
146. Jang AJ, Benza RL, Passineau MJ, Jang AJ, Nyunoya T, Lee J-H, et al. A Novel Compound, "FA-1" Isolated from *Prunus mume*, Protects Human Bronchial Epithelial Cells and Keratinocytes from Cigarette Smoke Extract-Induced Damage. *Sci Rep*. 2018;8(1):11504.
147. Rudzinska M, Gornas P, Raczky M, Soliven A. Sterols and squalene in apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernel oils: the variety as a key factor. *Nat Prod Res*. 2017;31(1):84-8.
148. Shelly A, Shikha M, Narayan SR. Chemical investigation of fatty acid, phenolic content in arachis hypogaea, anacardium occidentale, prunus dulcis, *Prunus armeniaca* and comparison of their antibacterial activity with amoxicillin. *World J Pharm Res*. 2015;4(11):1609-22.
149. Mericli F, Becer E, Kabadayi H, Hanoglu A, Yigit Hanoglu D, Ozkum Yavuz D, et al. Fatty acid composition and anticancer activity in colon carcinoma cell lines of *Prunus dulcis* seed oil. *Pharm Biol (Abingdon, U K)*. 2017;55(1):1239-48.
150. Sbihi HM, Nehdi IA, Al-Resayes SI. Characterization of White Mahlab (*Prunus mahaleb* L.) seed oil: A rich source of α -eleostearic acid. *J Food Sci*. 2014;79(5):C795-C801.
151. Alma MH, Karaogul E, Ertas M, Altuntas E, Karaman S, Diraz E. Chemical composition of seed oil from Turkish *Prunus mahaleb* L. *Anal Chem Lett*. 2012;2(3):182-5.
152. Matthaus B, Oezcan MM. Fatty acid, tocopherol and squalene contents of Rosaceae seed oils. *Bot Stud*. 2014;55(1):1-6.
153. Mead HM, El-Shafiey SN, Sabry HM. Chemical constituents and ovicidal effects of mahlab, *Prunus mahaleb* L. kernels oil on cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) eggs. *J Plant Prot Res*. 2016;56(3):279-90.
154. Ekinici MS, Guru M. Extraction of oil and β -sitosterol from peach (*Prunus persica*) seeds using supercritical carbon dioxide. *J Supercrit Fluids*. 2014;92:319-23.
155. Abd-Allah WE, Elsayed WM, Abdelshafeek KA. Antioxidant activity of chemical constituents from *Prunus avium* seeds. *Pharm Lett*. 2016;8(17):19-25.

156. Hass MA, Nowak DM, Leonova E, Levin RM, Longhurst PA. Identification of components of *Prunus africana* extract that inhibit lipid peroxidation. *Phytomedicine*. 1999;6(5):379-88.
157. Korlesky NM, Stolp LJ, Kodali DR, Goldschmidt R, Byrdwell WC. Extraction and Characterization of Montmorency Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Pit Oil. *J Am Oil Chem Soc*. 2016;93(7):995-1005.
158. Keser S, Demir E, Yilmaz O. Some bioactive compounds and antioxidant activities of the bitter almond kernel (*Prunus dulcis* var. *amara*). *J Chem Soc Pak*. 2014;36(5):922-30.
159. Shams KA, Schmidt R. Lipid fraction constituents and evaluation of anti-anaphylactic activity of *Prunus mahaleb* L kernels. *Afr J Tradit, Complementary Altern Med*. 2007;4(3):289-93.
160. Wang W, Wang HL, Xiao XZ, Xu XQ. Chemical composition analysis of seed oil from five wild almond species in China as potential edible oil resource for the future. *S Afr J Bot*. 2019;121:274-81.
161. Mericli F, Becer E, Kabadayi H, Vatanserver S, Hanoglu A, Yigit HD, et al. Fatty acid composition and anticancer activity in colon carcinoma cell lines of *Prunus dulcis* seed oil. *Pharm Biol*. 2017;55(1):1239-48.
162. Wang H, Ma Y, Li M, Shi L, Zhang S, Wang W, et al. Volatiles of ripe fruit *Prunus salicina* L. cv. Friar as determined by gas chromatography-mass spectrophotometry as developed during cold storage. *Int J Food Prop*. 2018;21(1):2622-31.
163. Gong H-w, Yang X-h, Chen D, Dong L, Sun H. Chemical constituents of volatile oil from leaf of *Prunus tomentosa* Thunb. *Fenzi Kexue Xuebao*. 2008;24(4):294-6.
164. Yang L, Cheng P, Zhu X-F, Zhang Z-g, Li H. Composition and dynamic variations of the natural volatiles of *Prunus armeniaca*. *Int J Agric Biol*. 2018;20(1):169-82.
165. Ho C-L, Wang EIC, Su Y-C. Composition of the leaf oils of *Prunus phaeosticta* var. *phaeosticta* from Taiwan. *J Essent Oil Res*. 2009;21(4):345-7.
166. Kim C, Lee SJ, Hyun C-G, Lee NH. Chemical constituents of supercritical extracts from *Prunus yedoensis*, *Saururus chinensis*, *Zanthoxylum piperitum* and their anti-inflammatory activities. *Int J Pharmacol*. 2013;9(4):258-64.
167. Utsunomiya H, Kawata J, Chanoki W, Shirakawa N, Miyazawa M. Components of essential oil from woods of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. *J Oleo Sci*. 2005;54(11):609-12.
168. Bonesi M, Tenuta MC, Loizzo MR, Sicari V, Tundis R. Potential application of *Prunus armeniaca* L. and *P. domestica* L. leaf essential oils as antioxidant and of cholinesterases inhibitors. *Antioxidants*. 2019;8(1):2/1-2/8.

169. Lee H-h, Ahn J-H, Kwon A-R, Lee ES, Kwak J-H, Min Y-H. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Apricot Seed. *Phytother Res.* 2014;28(12):1867-72.
170. Mastelic J, Jerkovic I, Mesic M. Volatile constituents from flowers, leaves, bark and wood of *Prunus mahaleb* L. *Flavour Fragrance J.* 2006;21(2):306-13.
171. Karasawa K, Miyashita R, Otani H. Anti-allergic properties of a fruit extract of prune (*Prunus demestica* L.) in mite-sensitized BALB/c mice. *Food Sci Technol Res.* 2012;18(5):755-60.
172. Shin T-Y, Park S-B, Yoo J-S, Kim IK, Lee H-S, Kwon TK, et al. Anti-allergic inflammatory activity of the fruit of *Prunus persica*: role of calcium and NF-kappaB. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(10):2797-802.
173. Rezaeifar M, Rezaeifar M. In vitro antidermatophytic effects of the methanolic extract of the *Amygdalus eburnea*. *Int J PharmTech Res.* 2016;9(9):509-13.
174. Jesus F, Goncalves AC, Alves G, Silva LR. Exploring the phenolic profile, antioxidant, antidiabetic and anti-hemolytic potential of *Prunus avium* vegetal parts. *Food Res Int.* 2019;116:600-10.
175. Shishehbor F, Azemi ME, Zamani D, Saki A. Inhibitory Effect of Hydroalcoholic Extracts of Barberry, Sour cherry and Cornelian Cherry on α -amylase and α -Glucosidase activities. *Int J Pharm Res Allied Sci.* 2016;5(2):423-8.
176. Lakshmi SS, Aishwarya M, Archana K, Divya S, Juli J, Kumar TS, et al. Isolation and structural elucidation of pancreatic α -amylase polyphenolic inhibitors from *Prunus domestica* and *Phoenix dactylifera* seeds. *J Chem Pharm Res.* 2017;9(4):33-40.
177. Tsujita T, Shintani T, Sato H. α -Amylase inhibitory activity from nut seed skin polyphenols. 1. Purification and characterization of almond seed skin polyphenols. *J Agric Food Chem.* 2013;61(19):4570-6.
178. Zhang X, Su M, Du J, Zhou H, Li X, Li X, et al. Comparison of phytochemical differences of the pulp of different peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] cultivars with alpha-glucosidase inhibitory activity variations in China using UPLC-Q-TOF/MS. *Molecules.* 2019;24(10):1968.
179. Gerardi C, Frassinetti S, Caltavuturo L, Leone A, Lecci R, Calabriso N, et al. Anti-proliferative, anti-inflammatory and anti-mutagenic activities of a *Prunus mahaleb* L. anthocyanin-rich fruit extract. *J Funct Foods.* 2016;27:537-48.
180. Kono R, Okuno Y, Nakamura M, Inada K-i, Tokuda A, Yamashita M, et al. Peach (*Prunus persica*) extract inhibits angiotensin II-induced signal transduction in vascular smooth muscle cells. *Food Chem.* 2013;139(1-4):371-6.

181. Tettey CO, Lincha VR, Lee D-U, Yang I-J, Shin H-M. Anti-Inflammatory Effects of the Flowers of *Prunus persica* var. *davidiana*. J Food Biochem. 2016;40(2):227-34.
182. Alvarez-Suarez JM, Carrillo-Perdomo E, Aller A, Giampieri F, Gasparri M, Gonzalez-Perez L, et al. Anti-inflammatory effect of Capuli cherry against LPS-induced cytotoxic damage in RAW 264.7 macrophages. Food Chem Toxicol. 2017;102:46-52.
183. Marchelak A, Owczarek A, Matczak M, Pawlak A, Kolodziejczyk-Czepas J, Nowak P, et al. Bioactivity potential of *Prunus spinosa* L. flower extracts: phytochemical profiling, cellular safety, pro-inflammatory enzymes inhibition and protective effects against oxidative stress in vitro. Front Pharmacol. 2017;8:680/1-/15.
184. Zhang YQ, Guan L, Zhong ZY, Chang M, Zhang DK, Li H, et al. The anti-inflammatory effect of cherry blossom extract (*Prunus yedoensis*) used in soothing skincare product. Int J Cosmet Sci. 2014;36(6):527-30.
185. Yun J-M, Im S-B, Roh M-K, Park S-H, Kwon H-A, Lee J-Y, et al. *Prunus yedoensis* Bark Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Cytokine Synthesis by κ B α Degradation and MAPK Activation in Macrophages. J Med Food. 2014;17(4):407-13.
186. Kumar N, Anurag. Evaluation of anthelmintic activity of *Prunus persica* (L.). Asian J Pharm Clin Res. 2015;8(5):170-2.
187. Sosnowska D, Podsedek A, Redzynia M, Zyzelewicz D. Effects of Fruit Extracts on Pancreatic Lipase Activity in Lipid Emulsions. Plant Foods Hum Nutr (N Y, NY, U S). 2015;70(3):344-50.
188. Gonzalez-Garcia E, Puchalska P, Marina ML, Garcia MC. Fractionation and identification of antioxidant and angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides obtained from plum (*Prunus domestica* L.) stones. J Funct Foods. 2015;19(Part_A):376-84.
189. Gashe F, Zeleke G. Antimicrobial activities of *Vernonia amygdalina* del and *Prunus africana* extracts against multidrug resistant clinical strains. Res J Med Plant. 2017;11(4):142-7.
190. Dey N, Chatterjee D, Choudhury MK, Das S. Antibacterial activity of *Prunus africana* stem bark extract against *Shigella* spp. World J Pharm Pharm Sci. 2017;6(9):1155-60.
191. Begum HA, Hamayun M, Yaseen T, Akhter S, Shakeel M. Phytochemical analysis, antifungal bioassay and folklore uses of selected medicinal plants of family Rosaceae. Pure Appl Biol. 2016;5(2):183-92.

192. Tiwari U, Dubey N, Kaushik S. Antibacterial and antioxidant efficacy analysis of leaves extracts of *Prunus amygdalus* (Badam) in different solvents. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*. 2015;4(5):728-36.
193. Sharma S, Satpathy G, Gupta RK. Nutritional, phytochemical, antioxidant and antimicrobial activity of *Prunus armenicus*. *J Pharmacogn Phytochem*. 2014;3(3-A):23-8.
194. Rashid F, Mahmood A, Ifzal R, Malik A. Flavonoids of *Prunus armeniaca* and their antibacterial studies. *J Chem Soc Pak*. 2013;35(3):906-11.
195. Amiran F, Shafaghat A, Shafaghatlonbar M. Omega-6 Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Hexanic Extract from *Prunus armeniaca* L. Kernel from North-West Iran. *Natl Acad Sci Lett (India)*. 2015;38(2):107-11.
196. Gomaa EZ. In vitro antioxidant, antimicrobial, and antitumor activities of bitter almond and sweet apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernels. *Food Sci Biotechnol*. 2013;22(2):455-63.
197. Ademovic Z, Hodzic S, Zahirovic ZH, Husejnagic D, Džananovic J, Saric-Kundalic B, et al. Phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial properties of the wild cherry (*Prunus avium* L.) stem. *Acta Period Technol*. 2017;48:1-13.
198. Shehadi M, Awada F, Oleik R, Chokr A, Hamze K, Abou Hamdan H, et al. Comparative analysis of the anti-bacterial activity of four plant extracts. *Int J Curr Res Acad Rev*. 2014;2(6):83-94.
199. Arora DS, Mahajan H. Major Phytoconstituents of *Prunus cerasoides* Responsible for Antimicrobial and Antibiofilm Potential Against Some Reference Strains of Pathogenic Bacteria and Clinical Isolates of MRSA. *Appl Biochem Biotechnol*. 2019: Ahead of Print.
200. Arora DS, Mahajan H. In Vitro Evaluation and Statistical Optimization of Antimicrobial Activity of *Prunus cerasoides* Stem Bark. *Appl Biochem Biotechnol*. 2018;184(3):821-37.
201. Tamara K, Ljiljana S, Srdan S, Zagorka C-L, Jadranko D, Velhner OI, et al. Antimicrobial activity of sour cherry. *Agro Food Ind Hi-Tech*. 2016;27(1):56-8.
202. Purohit MC, Singh M, Purohit R, Kumar G. Antimicrobial activity of methanolic extract of bark of *Prunus cornuta*. *Int J Pharm Sci Res*. 2017;8(8):3563-7.
203. El-Beltagi HS, El-Ansary AE, Mostafa MA, Kamel TA, Safwat G. Evaluation of the phytochemical, antioxidant, antibacterial and anticancer activity of *Prunus domestica* fruit. *Not Bot Horti Agrobot Cluj-Napoca*. 2019;47(2):395-404.
204. Ayla S, Biceroglu O, Ayla S, Gunal MY, Okur ME, Gunal MY, et al. Wound healing effects of methanol extract of *Laurocerasus officinalis* roem. *Biotech Histochem*. 2019;94(3):180-8.

205. Seyyednejad S, Maleki S, Damabi NM, Motamedi H. Antibacterial activity of *Prunus mahaleb* and Parsley (*Petroselinum crispum*) against some pathogen. Asian J Biol Sci. 2008;1(1):51-5.
206. Raturi R, Singh H, Bahuguna P, Sati SC, Badoni PP. Antibacterial and antioxidant activity of methanolic extract of bark of *Prunus persica*. J Appl Nat Sci. 2011;3(2):312-4.
207. Lee K-i, Yang S-a, Pyo B-s, Kim S-m. Antibacterial activity against pathogens of acne and tyrosinase inhibitory activity of extract and fractions from bark of *Prunus sargentii*. Saengyak Hakhoechi. 2011;42(2):155-60.
208. Miyazawa M, Kinoshita H, Okuno Y. Antimutagenic activity of sakuranetin from *Prunus jamasakura*. J Food Sci. 2003;68(1):52-6.
209. Amarowicz R, Troszynska A, Shahidi F. Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions. J Food Lipids. 2005;12(4):344-58.
210. Safarian S, Azarmi Y, Jahanban-Esfahlan A, Jahanban-Esfahlan H. The beneficial effects of almond (*Prunus amygdalus* Batsch) hull on serum lipid profile and antioxidant capacity in male rats. Turk J Med Sci. 2016;46(4):1223-32.
211. Dammak MI, Chakroun I, Mzoughi Z, Amamou S, Mansour HB, Le Cerf D, et al. Characterization of polysaccharides from *Prunus amygdalus* peels: Antioxidant and antiproliferative activities. Int J Biol Macromol. 2018;119:198-206.
212. Canadanovic-Brunet JM, Vulic JJ, Cetkovic GS, Djilas SM, Tumbas Saponjac VT. Bioactive compounds and antioxidant properties of dried apricot. Acta Period Technol. 2013;44:193-205.
213. Pop EA, Diaconeasa ZM, Fetea F, Bunea A, Dulf F, Pintea A, et al. Carotenoids, tocopherols and antioxidant activity of lipophilic extracts from sea buckthorn berries (*Hippophae rhamnoides*), apricot pulp and apricot kernel (*Prunus armeniaca*). Bull Univ Agric Sci Vet Med Cluj-Napoca, Food Sci Technol. 2015;72(2):169-76.
214. Bhattacharjee M, Kamal R, Roy L. Evaluation of free radical scavenging activity of '*Prunus avium*'. Int J Pharm Sci Rev Res. 2016;38(2):1-5.
215. Gougoulas N. Evaluation of antioxidant activity and polyphenol content of leaves from some fruit species. Oxid Commun. 2015;38(1):35-45.
216. Martini S, Conte A, Tagliazucchi D. Bioactivity and cell metabolism of in vitro digested sweet cherry (*Prunus avium*) phenolic compounds. Int J Food Sci Nutr. 2019;70(3):335-48.
217. Zheng S, Zhao F, Li Z, Wang Y. Anti-oxidative activity of flavonoids from cherry leaves *in vitro*. Med Plant. 2014;5(5):43-5, 8.

218. Song W, Qin S-T, Fang F-X, Gao Z-J, Liang D-D, Liu L-L, et al. Isolation and Purification of Condensed Tannin from the Leaves and Branches of *Prunus cerasifera* and Its Structure and Bioactivities. *Appl Biochem Biotechnol*. 2018;185(2):464-75.
219. Becker MM, Nunes GS, Ribeiro DB, Silva FEPS, Catanante G, Marty J-L. Determination of the antioxidant capacity of red fruits by miniaturized spectrophotometry assays. *J Braz Chem Soc*. 2019;30(5):1108-14.
220. Kim WB, Park SH, Hwang HS, Woo JY, Lee HR, Hwang DY, et al. Antioxidative activities and whitening effects of solvent fraction from *Prunus davidiana* (Carriere) Franch. fruit. *Han'guk Sikk'um Yongyang Kwahak Hoechi*. 2012;41(10):1363-70.
221. Xiong L, Yang J, Jiang Y, Lu B, Hu Y, Zhou F, et al. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacities of 10 Common Edible Flowers from China. *J Food Sci*. 2014;79(4):C517-C25.
222. Najafabad AM, Jamei R. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of methanolic and ethanolic extracts of plum (*Prunus domestica* L.) in both fresh and dried samples. *Avicenna J Phytomed*. 2014;4(5):343-53.
223. Benmehdi H, Fellah K, Amrouche A, Memmou F, Malainine H, Dalile H, et al. Phytochemical study, antioxidant activity and kinetic behaviour of flavonoids fractions isolated from *Prunus persica* L. leaves. *Asian J Chem*. 2017;29(1):13-8.
224. Keser S, Demir E, Yilmaz O. Phytochemical compounds and antioxidant activities of the almond kernel (*Prunus dulcis* Mill.) from Turkey. *J Chem Soc Pak*. 2014;36(3):534-41.
225. Uy MM, Pundogar PT. Toxicity and antioxidant properties of the extracts of *Prunus grisea* (C. Muell.) Kalkmleaves. *Asian J Biol Life Sci*. 2015;4(2):81-6.
226. Kang JS, Kim DJ, Kim G-Y, Cha H-J, Kim S, Kim H-S, et al. Ethanol extract of *Prunus mume* fruit attenuates hydrogen peroxide-induced oxidative stress and apoptosis involving Nrf2/HO-1 activation in C2C12 myoblasts. *Rev Bras Farmacogn*. 2016;26(2):184-90.
227. Pi K, Lee K. *Prunus mume* extract exerts antioxidant activities and suppressive effect of melanogenesis under the stimulation by alpha-melanocyte stimulating hormone in B16-F10 melanoma cells. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2017;81(10):1883-90.
228. Hwang D, Kim H, Shin H, Jeong H, Kim J, Kim D. Cosmetic effects of *Prunus padus* bark extract. *Korean J Chem Eng*. 2014;31(12):2280-5.
229. Belhadj F, Somrani I, Aissaoui N, Messaoud C, Boussaid M, Marzouki MN. Bioactive compounds contents, antioxidant and antimicrobial activities during

- ripening of *Prunus persica* L. varieties from the North West of Tunisia. Food Chem. 2016;204:29-36.
230. Lee B-B, Cha M-R, Kim S-Y, Park E, Park H-R, Lee S-C. Antioxidative and anticancer activity of extracts of cherry (*Prunus serrulata* var. *spontanea*) blossoms. Plant Foods Hum Nutr (N Y, NY, U S). 2007;62(2):79-84.
231. Park JW, Yuk HG, Lee SC. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of different parts of oriental cherry (*Prunus serrulata* var. *spontanea*). Food Sci Biotechnol. 2012;21(2):339-43.
232. Natic M, Pavlovic A, Bosco FL, Stanisavljevic N, Zagorac DD, Aksic MF, et al. Nutraceutical properties and phytochemical characterization of wild Serbian fruits. Eur Food Res Technol. 2019;245(2):469-78.
233. Kono R, Okuno Y, Inada K-i, Tokuda A, Hashizume H, Yoshida M, et al. A *Prunus mume* extract stimulated the proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells. Biosci, Biotechnol, Biochem. 2011;75(10):1907-11.
234. Li K, Yang W, Li Z, Jia W, Li J, Zhang P, et al. Bitter apricot essential oil induces apoptosis of human HaCaT keratinocytes. Int Immunopharmacol. 2016;34:189-98.
235. Usha RJ, Siva PB, Vutukuru SS, Kamala G, Pasha C. Screening anti-oxidant and anti-tyrosinase potential of plants and earthworm extracts. Int J Pharm Biol Sci. 2018;8(4):495-501.
236. Hubert J, Angelis A, Aligiannis N, Rosalia M, Abedini A, Bakiri A, et al. *In Vitro* Dermo-Cosmetic Evaluation of Bark Extracts from Common Temperate Trees. Planta Med. 2016;82(15):1351-8.
237. Chen C-H, Chan H-C, Chu Y-T, Ho H-Y, Chen P-Y, Lee T-H, et al. Antioxidant activity of some plant extracts towards xanthine oxidase, lipoxxygenase and tyrosinase. Molecules. 2009;14(8):2947-58.
238. Singh BK, Morya VK, Lee H-B, Kim J-S, Kim E-K. Anti-melanogenic effect of *Prunus davidiana* extract in melan-a melanocyte through regulation of OCA-2, TRP-1 and tyrosinase. Korean J Chem Eng. 2017;34(12):3156-62.
239. Shi J. Inhibitory effect and mechanism of *Prunus mume* flowers extracts on tyrosinase. Shipin Gongye Keji. 2011;32(10):205-7, 11.
240. Liu J-c, Zhang Q-l, Jiao Z-g, Zhang C-l, Lu Z-z, Liu H, et al. Inhibitory effect of peach flower extract on tyrosinase and its kinetics analysis. Guoshu Xuebao. 2014;31(5):836-41.
241. Park HJ, Park K-K, Hwang J-K, Chung W-Y, Lee SK. Inhibitory effect of *Prunus persica* flesh extract (PPFE) on melanogenesis through the microphthalmia-associated transcription factor (MITF)-mediated pathway. Nat Prod Sci. 2011;17(1):26-32.

242. Yook H-S, Kim K-H, Park J-E, Shin H-J. Antioxidative and antiviral properties of flowering cherry fruits (*Prunus serrulata* L. var. *spontanea*). *Am J Chin Med.* 2010;38(5):937-48.
243. Park JC, Kim SC, Choi MR, Song SH, Yoo EJ, Kim SH, et al. Anti-HIV Protease Activity from Rosa Family Plant Extracts and Rosamultin from *Rosa rugosa*. *J Med Food.* 2005;8(1):107-9.
244. Stierlin E, Azoulay S, Massi L, Fernandez X, Michel T. Cosmetic potentials of *Prunus domestica* L. leaves. *J Sci Food Agric.* 2018;98(2):726-36.
245. Lee K-T, Yoo Y-K, Kim S-W, Jeong J-H, Jo B-K, Kim Y-H, et al. Inhibitory effects of *Prunus persica* flower extracts on UV-induced skin damage. *SOFW J.* 2002;128(1-2):7-10, 2.
246. Park HJ, Park K-K, Hwang J-K, Chung W-Y, Kim GD, Lee MA, et al. Protective effects of *Prunus persica* flesh extract (PPFE) on UV-induced oxidative stress and matrix metalloproteinases expression in human skin cells. *Nat Prod Sci.* 2012;18(1):52-9.
247. Wang Y, Li W, Xu S, Hu R, Zeng Q, Liu Q, et al. Protective skin aging effects of cherry blossom extract (*Prunus yedoensis*) on oxidative stress and apoptosis in UVB-irradiated HaCaT cells. *Cytotechnology.* 2019;71(2):475-87.
248. Li L, Hwang E, Ngo HTT, Lin P, Gao W, Liu Y, et al. Antiphotaging Effect of *Prunus yeonesis* Blossom Extract via Inhibition of MAPK/AP-1 and Regulation of the TGF- β I/Smad and Nrf2/ARE Signaling Pathways. *Photochem Photobiol.* 2018;94(4):725-32.
249. Shahidi S, Setareye S, Mahmoodi M. Effect of *Prunus domestica* L. (mirabelle) on learning and memory in mice. *Anc Sci Life.* 2013;32(3):139-43.
250. Bose M, Kamra M, Mullick R, Bhattacharya S, Das S, Karande AA. Identification of a flavonoid isolated from plum (*Prunus domestica*) as a potent inhibitor of Hepatitis C virus entry. *Sci Rep.* 2017;7(1):1-11.
251. Cao J, Tang D, Wang Y, Li X, Hong L, Sun C. Characteristics and immune-enhancing activity of pectic polysaccharides from sweet cherry (*Prunus avium*). *Food Chem.* 2018;254:47-54.
252. Tsuji R, Koizumi H, Fujiwara D. Effects of a plum (*Prunus mume* Siebold and Zucc.) ethanol extract on the immune system *in vivo* and *in vitro*. *Biosci, Biotechnol, Biochem.* 2011;75(10):2011-3.
253. Lee S-H, Lillehoj HS, Cho S-M, Chun H-K, Park H-J, Lim C-I, et al. Immunostimulatory effects of oriental plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2009;32(5):407-17.

254. Raturi R, Badoni PP, Ballabha R. Insecticidal and fungicidal activities of stem bark of *Prunus persica* (L.) batsch. *World J Pharm Pharm Sci.* 2016;5(1):1239-45.
255. Waldbauer K, Seiringer G, Sykora C, Dirsch VM, Zehl M, Kopp B. Evaluation of Apricot, Bilberry, and Elderberry Pomace Constituents and Their Potential To Enhance the Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Activity. *ACS Omega.* 2018;3(9):10545-53.
256. Keane KM, Bell PG, Lodge JK, Constantinou CL, Jenkinson SE, Bass R, et al. Phytochemical uptake following human consumption of Montmorency tart cherry (L. *Prunus cerasus*) and influence of phenolic acids on vascular smooth muscle cells in vitro. *Eur J Nutr.* 2016;55(4):1695-705.
257. Strathearn KE, Yousef GG, Grace MH, Roy SL, Tambe MA, Ferruzzi MG, et al. Neuroprotective effects of anthocyanin- and proanthocyanidin-rich extracts in cellular models of Parkinson's disease. *Brain Res.* 2014;1555:60-77.
258. Otsuka T, Tsukamoto T, Tanaka H, Inada K, Utsunomiya H, Mizoshita T, et al. Suppressive effects of fruit-juice concentrate of *Prunus mume* Sieb. et Zucc. (Japanese apricot, Ume) on *Helicobacter pylori*-induced glandular stomach lesions in Mongolian gerbils. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2005;6(3):337-41.
259. Liu Z, Wang W, Huang G, Zhang W, Ni L. In vitro and in vivo evaluation of the prebiotic effect of raw and roasted almonds (*Prunus amygdalus*). *J Sci Food Agric.* 2016;96(5):1836-43.
260. Shenouda NS, Sakla MS, Newton LG, Besch-Williford C, Greenberg NM, MacDonald RS, et al. Phytosterol *Pygeum africanum* regulates prostate cancer in vitro and in vivo. *Endocrine.* 2007;31(1):72-81.
261. Poongodi T, Srikanth R, Lalitha G. Phytochemistry, GC-MS analysis and *in vitro* cytotoxic activity of *Prunus angustifolia* leaves against MCF-7 breast cancer cell line. *World J Pharm Pharm Sci.* 2015;4(10):1489-99.
262. Cassiem W, de KM. The anti-proliferative effect of apricot and peach kernel extracts on human colon cancer cells in vitro. *BMC Complement Altern Med.* 2019;19(1):32.
263. Olsson ME, Gustavsson K-E, Andersson S, Nilsson A, Duan R-D. Inhibition of Cancer Cell Proliferation in Vitro by Fruit and Berry Extracts and Correlations with Antioxidant Levels. *J Agric Food Chem.* 2004;52(24):7264-71.
264. Roy L, Bhattacharjee M. Evaluation of the anti-cancer activity of most potent ethanolic fraction of *Prunus avium* on EAC Cells in RPMI 1640. *Int J Pharm (Hyderabad, India).* 2016;6(4):20-5.
265. Manogna C, Bhaumik A, Haritha T, Nasreen SK, Sucharitha M, Uttara M. Evaluation of cytotoxic activity of various extracts of sweet cherry (*Prunus*

- avium*) against human colorectal adenocarcinoma HT-29 cell line. *Int J Chem Stud.* 2016;4(3Pt.A):17-21.
266. Fujii T, Ikami T, Xu J-W, Ikeda K. Prune extract (*Prunus domestica* L.) suppresses the proliferation and induces the apoptosis of human colon carcinoma Caco-2. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2006;52(5):389-91.
267. Demir S, Turan I, Demir F, Ayazoglu Demir E, Aliyazicioglu Y. Cytotoxic effect of *Laurocerasus officinalis* extract on human cancer cell lines. *Marmara Pharm J.* 2017;21(1):121-6.
268. Aydin A, Erenler R, Yilmaz B, Tekin S. Antiproliferative effect of cherry laurel. *J Turk Chem Soc, Sect A.* 2016;3(3):217-28.
269. Tada K-i, Kawahara K-i, Matsushita S, Hashiguchi T, Maruyama I, Kanekura T. MK615, a *Prunus mume* Steb. Et Zucc (Ume') Extract, Attenuates the Growth of A375 Melanoma Cells by Inhibiting the ERK1/2-I κ B-1 Pathway. *Phytother Res.* 2012;26(6):833-8.
270. Park C, Jin C-Y, Kim G-Y, Jeong YK, Kim W-J, Choi YH. Induction of apoptosis by ethanol extract of *Prunus mume* in U937 human leukemia cells through activation of caspases. *Oncol Rep.* 2011;26(4):987-93.
271. Hattori M, Kawakami K, Akimoto M, Takenaga K, Suzumiya J, Honma Y. Antitumor effect of Japanese apricot extract (MK615) on human cancer cells *in vitro* and *in vivo* through a reactive oxygen species-dependent mechanism. *Tumori.* 2013;99(2):239-48.
272. Rho K-A, Kim G-J, Ji H-A, Lim H-S, Chung K-H, Lee K-J, et al. Antitumor and free radical - scavenging activities of various extract fractions of fruits and leaves from *Prunus mume*. *Han'guk Sikp'um Yongyang Kwahak Hoechi.* 2015;44(8):1137-43.
273. Yu MH, Im HG, Lee S-O, Sung C, Park D-C, Lee I-S. Induction of apoptosis by immature fruits of *Prunus salicina* Lindl. cv. Soldam in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Int J Food Sci Nutr.* 2007;58(1):42-53.
274. Murati T, Miletic M, Stefanko A, Landeka Jurcevic I, Elez Garofulic I, Dragovic-Uzelac V, et al. Comparative assessment of *Prunus spinosa* L. flower extract in non-neoplastic hepatocytes and hepatoblastoma cells. *S Afr J Bot.* 2019;123:36-42.
275. Palomares-Alonso F, Rojas-Tome IS, Palencia Hernandez G, Jimenez-Arellanes MA, Macias-Rubalcava ML, Gonzalez-Maciel A, et al. *In vitro* and *in vivo* cysticidal activity of extracts and isolated flavanone from the bark of *Prunus serotina*: A bio-guided study. *Acta Trop.* 2017;170:1-7.

276. Suh S-J, Koo B-S, Jin U-H, Hwang M-J, Lee I-S, Kim C-H. Pharmacological characterization of orally active cholinesterase inhibitory activity of *Prunus persica* L. Batsch in rats. *J Mol Neurosci*. 2006;29(2):101-8.
277. Sharma S, Kaur B, Sutte A, Mukhtar HM, Kalsi V. Evaluation of antianxiety effect of dried fruits of *Prunus americana* marsh. *Asian J Pharm Clin Res*. 2017;10(Spec.Iss.4):67-9.
278. Jena AK, Vasisht K, Sharma N, Kaur R, Dhingra MS, Karan M. Amelioration of testosterone induced benign prostatic hyperplasia by *Prunus* species. *J Ethnopharmacol*. 2016;190:33-45.
279. Swaroop A, Bagchi M, Kumar P, Preuss HG, Bagchi D. Safety and efficacy of a novel *Prunus domestica* extract (Sitoprin, CR002) on testosterone-induced benign prostatic hyperplasia (BPH) in male Wistar rats. *Toxicol Mech Methods*. 2015;25(9):653-64.
280. Kanade N, Sarawade R. Evaluation of prunus *Amygdalus* seed extract for antidepressant activity. *Int J Pharm Res Bio-Sci*. 2015;4(3):231-47.
281. Teotia S, Singh M. Hypoglycemic effect of *Prunus amygdalus* seeds in albino rabbits. *Indian J Exp Biol*. 1997;35(3):295-6.
282. Lachin T, Reza H. Anti diabetic effect of cherries in alloxan induced diabetic rats. *Recent Pat Endocr, Metab Immune Drug Discovery*. 2012;6(1):67-72.
283. Saleh FA, El-Darra N, Raafat K. Hypoglycemic effects of *Prunus cerasus* L. pulp and seed extracts on Alloxan-Induced Diabetic Mice with histopathological evaluation. *Biomed Pharmacother*. 2017;88:870-7.
284. Minaiyan M, Ghannadi A, Movahedian A, Ramezanlou P, Osooli FS. Effect of the hydroalcoholic extract and juice of *Prunus divaricata* fruit on blood glucose and serum lipids of normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Res Pharm Sci*. 2014;9(6):421-9.
285. Turan MI, Turkoglu M, Dundar C, Celik N, Suleyman H. Investigating the effect of *Prunus laurocerasus* fruit extract in type II diabetes induced rats. *Int J Pharmacol*. 2013;9(6):373-8.
286. Akev N CA, Sütlüpınar N. Effect of *Prunus mahaleb* seeds on blood glucose level. In: Başer KHC, editor. IX BİHAT; Eskişehir: Anadolu Üniv 16-19 Mayıs 1991. p. 33-9.
287. Shin EJ, Hur HJ, Sung MJ, Park JH, Yang HJ, Kim MS, et al. Ethanol extract of the *Prunus mume* fruits stimulates glucose uptake by regulating PPAR- γ in C2C12 myotubes and ameliorates glucose intolerance and fat accumulation in mice fed a high-fat diet. *Food Chem*. 2013;141(4):4115-21.
288. Kishida K, Suzuki M, Heya Y, Yudai Y, Asako H, Yoshihiko O. Phenolic extract from Japanese apricot fruit (*Prunus mume* Sieb et Zucc.) inhibits disaccharidase

- activity in the small intestine and suppresses the postprandial elevation of glucose levels in rats. *Nihon Shokuhin Hozo Kagaku Kaishi*. 2014;40(3):119-25.
289. Lee MW, Kwon JE, Lee Y-J, Jeong YJ, Kim I, Cho YM, et al. *Prunus mume* leaf extract lowers blood glucose level in diabetic mice. *Pharm Biol (Abingdon, U K)*. 2016;54(10):2135-40.
290. Sharma G, Kumar S, Sharma M, Upadhyay N, Ahmed Z, Mahindroo N. Anti-Diabetic, anti-oxidant and anti-adipogenic potential of quercetin rich ethyl acetate fraction of *Prunus persica*. *Pharmacogn J*. 2018;10(3):463-9.
291. Minaiyan M, Ghannadi A, Asadi M, Etemad M, Mahzouni P. Anti-inflammatory effect of *Prunus armeniaca* L. (Apricot) extracts ameliorates TNBS-induced ulcerative colitis in rats. *Res Pharm Sci*. 2014;9(4):225-31.
292. Sharma A, Joshi R, Kumar S, Sharma R, Rajneesh, Padwad Y, et al. *Prunus cerasoides* fruit extract ameliorates inflammatory stress by modulation of iNOS pathway and Th1/Th2 immune homeostasis in activated murine macrophages and lymphocytes. *Inflammopharmacology*. 2018;26(6):1483-95.
293. Choi JS, Young HS, Lee TW, Woo WS, Lee EB. Chemistry and anti-inflammatory activity of *Prunus davidiana* stems. *Yakhak Hoechi*. 1992;36(2):115-19.
294. Zorrilla P, Rodriguez-Nogales A, Algieri F, Garrido-Mesa N, Olivares M, Rondon D, et al. Intestinal anti-inflammatory activity of the polyphenolic-enriched extract Amanda in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *J Funct Foods*. 2014;11:449-59.
295. Watanabe K, Karuppagounder V, Arumugam S, Thandavarayan RA, Pitchaimani V, Sreedhar R, et al. Pruni cortex ameliorates skin inflammation possibly through HMGB1-NFκB pathway in house dust mite induced atopic dermatitis NC/Nga transgenic mice. *J Clin Biochem Nutr*. 2015;56(3):186-94.
296. Choi JH, Cha DS, Jeon H. Anti-inflammatory and anti-nociceptive properties of *Prunus padus*. *J Ethnopharmacol*. 2012;144(2):379-86.
297. Elshamy AI, Abdallah HMI, El Gendy AE-NG, El-Kashak W, Muscatello B, De Leo M, et al. Evaluation of Anti-inflammatory, Antinociceptive, and Antipyretic Activities of *Prunus persica* var. *nucipersica* (Nectarine) Kernel 1. *Planta Med*. 2019;85(11/12):1016-23.
298. Kang H, Kwak T-K, Kim B-G, Lee K-J. The Anti-Inflammatory Effect of *Prunus yedoensis* Bark Extract on Adipose Tissue in Diet-Induced Obese Mice. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:937904.
299. Sari MI, Rahmat NB, Wijaya DW. Effect of *Prunus dulcis* extract against total cholesterol level in mice that given monosodium glutamate. *IOP Conf Ser: Mater Sci Eng*. 2018;288:012097/1-/6.

300. Gao Y, Li C, Chen B, Shen Y-h, Han J, Zhao M-g. Anti-hyperlipidemia and antioxidant activities of *Amygdalus pedunculata* seed oil. *Food Funct.* 2016;7(12):5018-24.
301. Ahmed T, Shaheen A, Azam F, Safdar W. *Prunus domestica* alters functions of frog's heart. *Pak J Pharm Sci.* 2018;31(5):1817-26.
302. Lee K, Ham I, Yang G, Lee M, Bu Y, Kim H, et al. Vasorelaxant effect of *Prunus yedoensis* bark. *BMC Complement Altern Med.* 2013;13:31.
303. Lachin T. Effect of Antioxidant Extract from Cherries on Diabetes. *Recent Pat Endocr, Metab Immune Drug Discovery.* 2014;8(1):67-74.
304. Haidari F, Jr., Mohammad SM, Keshavarz SA, Rashidi MR. Inhibitory Effects of Tart Cherry (*Prunus cerasus*) Juice on Xanthine Oxidoreductase Activity and its Hypouricemic and Antioxidant Effects on Rats. *Malays J Nutr.* 2009;15(1):53-64.
305. Mirzaei A, Rezanejad MT. Hepatoprotective effect and antioxidant activity of aqueous cherry extract on rats. *Indian J Sci Technol.* 2015;8(22):1-5.
306. Leotoing L, Wauquier F, Davicco M-J, Lebecque P, Gaudout D, Rey S, et al. The phenolic acids of *Agen prunes* (dried plums) or Agen prune juice concentrates do not account for the protective action on bone in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *Nutr Res (N Y, NY, U S).* 2016;36(2):161-73.
307. Yanaki M, Kobayashi M, Aruga A, Nomura M, Ozaki M. *In Vivo* Antitumor Effects of MK615 Led by PD-L1 Downregulation. *Integr Cancer Ther.* 2018;17(3):646-53.
308. Noratto G, Porter W, Byrne D, Cisneros-Zevallos L. Polyphenolics from peach (*Prunus persica* var. *Rich Lady*) inhibit tumor growth and metastasis of MDA-MB-435 breast cancer cells *in vivo*. *J Nutr Biochem.* 2014;25(7):796-800.
309. Yamaguchi K, Liggett JL, Kim N-C, Baek SJ. Anti-proliferative effect of horehound leaf and wild cherry bark extracts on human colorectal cancer cells. *Oncol Rep.* 2006;15(1):275-81.
310. Varga B, Priksz D, Lampe N, Bombicz M, Kurucz A, Szabo AM, et al. Protective effect of *Prunus cerasus* (sour cherry) seed extract on the recovery of ischemia/reperfusion-induced retinal damage in Zucker diabetic fatty rat. *Molecules.* 2017;22(10):1782/1-/12.
311. Yoshikawa M, Murakami T, Ishiwada T, Morikawa T, Kagawa M, Higashi Y, et al. New flavonol oligoglycosides and polyacylated sucroses with inhibitory effects on aldose reductase and platelet aggregation from the flowers of *Prunus mume*. *J Nat Prod.* 2002;65(8):1151-5.
312. Karaboga I, Ovali MA, Yilmaz A, Alpaslan M. Gastroprotective effect of apricot kernel oil in ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Biotech Histochem.* 2018;93(8):601-7.

313. Yilmaz I, Cetin A, Bilgic Y. Hepatoprotective effects of apricot against acetaminophen-induced acute hepatotoxicity in rats. *Am J Pharmacol Sci.* 2015;3(2):44-8.
314. Raj V, Mishra AK, Mishra A, Khan NA. Hepatoprotective effect of *Prunus armeniaca* L. (Apricot) leaf extracts on paracetamol induced liver damage in wistar rats. *Pharmacogn J.* 2016;8(2):154-8.
315. Pan JH, Lee KY, Kim JH, Shin H, Lee JH, Kim YJ. *Prunus mume* Sieb. et Zucc. fruit ameliorates alcoholic liver injury in mice by inhibiting apoptosis and inflammation through oxidative stress. *J Funct Foods.* 2016;25:135-48.
316. Chaudhary P, Mehra RK, Kumar R, Ahamad S. Hepatoprotective effect of *Prunus persica* leaves extract against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *Pharm Lett.* 2015;7(2):150-3.
317. Xia D-z, Pan D-m, Gong J-y, Shao Q-j. Study on the prevention and treatment of *Prunus mume* extracts against potassium oxonate induced hyperuricemia in mice. *Xiandai Shipin Keji.* 2013;29(1):8-10, 28.
318. Yi L-T, Li J, Su D-X, Dong J-F, Li C-F. Hypouricemic effect of the methanol extract from *Prunus mume* fruit in mice. *Pharm Biol.* 2012;50(11):1423-7.
319. Bak I, Lekli I, Juhasz B, Nagy N, Varga E, Varadi J, et al. Cardioprotective mechanisms of *Prunus cerasus* (sour cherry) seed extract against ischemia-reperfusion-induced damage in isolated rat hearts. *Am J Physiol.* 2006;291(3):1329-36.
320. Haddadi-Guemghar H, Tlili A, Dairou J, Paul J-L, Madani K, Janel N. Effect of lyophilized prune extract on hyperhomocysteinemia in mice. *Food Chem Toxicol.* 2017;103:183-7.
321. Na J-R, Oh K-N, Park S-U, Bae D, Choi EJ, Jung MA, et al. The laxative effects of Maesil (*Prunus mume* Siebold & Zucc.) on constipation induced by a low-fibre diet in a rat model. *Int J Food Sci Nutr.* 2013;64(3):333-45.
322. Wu T, Tang Q, Yu Z, Gao Z, Hu H, Chen W, et al. Inhibitory effects of sweet cherry anthocyanins on the obesity development in C57BL/6 mice. *Int J Food Sci Nutr.* 2014;65(3):351-9.
323. Choe WK, Kang BT, Kim SO. Water-extracted plum (*Prunus salicina* L. cv. Soldam) attenuates adipogenesis in murine 3T3-L1 adipocyte cells through the PI3K/Akt signaling pathway. *Exp Ther Med.* 2018;15(2):1608-15.
324. Lee J-H, Lee M-H, Kim B, Chinannai KS, Hur H, Lee K, et al. Wound Healing Effects of *Prunus yedoensis* Matsumura Bark in Scalded Rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2017;2017:7812598.
325. Mahmoud F, Haines D, Al-Awadhi R, Dashti AA, Al-Awadhi A, Ibrahim B, et al. Sour cherry (*Prunus cerasus*) seed extract increases heme oxygenase-1

- expression and decreases proinflammatory signaling in peripheral blood human leukocytes from rheumatoid arthritis patients. *Int Immunopharmacol.* 2014;20(1):188-96.
326. Takemura S, Yoshimasu K, Mure K, Fukumoto J, Nishio N, Kitano N, et al. Are Umezu polyphenols in the Japanese plum (*Prunus mume*) protective against mild hypertension and oxidation? Evidence from a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Open J Prev Med.* 2013;3(9):561-9.
327. Hooman N, Mojab F, Nickavar B, Pouryousefi-Kermani P. Diuretic effect of powdered *Cerasus avium* (cherry) tails on healthy volunteers. *Pak J Pharm Sci.* 2009;22(4):381-3.
328. Beretta A, Accinni R, Dellanoce C, Tonini A, Cardot J-M, Bussiere A. Efficacy of a Standardized Extract of *Prunus mume* in Liver Protection and Redox Homeostasis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Phytother Res.* 2016;30(6):949-55.
329. Enomoto S, Yanaoka K, Utsunomiya H, Niwa T, Inada K, Deguchi H, et al. Inhibitory effects of Japanese apricot (*Prunus mume* Siebold et Zucc.; Ume) on *Helicobacter pylori*-related chronic gastritis. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64(7):714-9.
330. Jukic M, Burcul F, Carev I, Politeo O, Milos M. Screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of selected plants from Croatia. *Nat Prod Res.* 2012;26(18):1703-7.
331. Yesilada E, Sezik E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey IX: folk medicine in north-west Anatolia. *J Ethnopharmacol.* 1999;64(3):195-210.
332. Kultur S. Medicinal plants used in Kirklareli Province (Turkey). *J Ethnopharmacol.* 2007;111(2):341-64.
333. Cakilcioglu U, Turkoglu I. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazig-Turkey). *J Ethnopharmacol.* 2010;132(1):165-75.
334. Cakilcioglu U, Khatun S, Turkoglu I, Hayta S. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig-Turkey). *J Ethnopharmacol.* 2011;137(1):469-86.
335. Sarıkaya S. Medicinal Plants Used For The Treatment Of Diabetes In Turkey. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi.* 39(4):317-42.
336. Polat R, Satil F. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balıkesir-Turkey). *J Ethnopharmacol.* 2012;139(2):626-41.
337. Gurdal B, Kultur S. An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Muğla, Turkey). *J Ethnopharmacol.* 2013;146(1):113-26.

338. Tetik F, Civelek S, Cakilcioglu U. Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey). *J Ethnopharmacol.* 2013;146(1):331-46.
339. Guler B, Kumustekin G, Ugurlu E. Contribution to the traditional uses of medicinal plants of Turgutlu (Manisa-Turkey). *J Ethnopharmacol.* 2015;176:102-8.
340. Ahmet SS. Ethnobotanical survey of medicinal plants in Bozyazi district of Mersin, Turkey. *J Ethnopharmacol.* 2015;173:105-26.
341. Raj V, Jain A, Chaudhary J. *Prunus armeniaca* (Apricot): an overview. *J Pharm Res.* 2012;5(8):3964-6.
342. Khan MPZ, Ahmad M, Zafar M, Sultana S, Ali MI, Sun H. Ethnomedicinal uses of Edible Wild Fruits (EWFs) in Swat Valley, Northern Pakistan. *J Ethnopharmacol.* 2015;173:191-203.
343. Hilgert NI. Plants used in home medicine in the Zenta River basin, Northwest Argentina. *J Ethnopharmacol.* 2001;76(1):11-34.
344. Parada M, Carrio E, Bonet MA, Valles J. Ethnobotany of the Alt Emporda region (Catalonia, Iberian Peninsula): plants used in human traditional medicine. *J Ethnopharmacol.* 2009;124(3):609-18.
345. Bonet MA, Parada M, Selga A, Valles J. Studies on pharmaceutical ethnobotany in the regions of L'Alt Emporda and Les Guilleries (Catalonia, Iberian Peninsula). *J Ethnopharmacol.* 1999;68(1-3):145-68.
346. Camejo-Rodrigues J, Ascensao L, Bonet MA, Valles J. An ethnobotanical study of medicinal and aromatic plants in the Natural Park of "Serra de Sao Mamede" (Portugal). *J Ethnopharmacol.* 2003;89(2-3):199-209.
347. Pieroni A. Medicinal plants and food medicines in the folk traditions of the upper Lucca Province, Italy. *J Ethnopharmacol.* 2000;70(3):235-73.
348. Palmese MT, Uncini MRE, Tomei PE. An ethno-pharmacobotanical survey in the Sarrabus district (south-east Sardinia). *Fitoterapia.* 2001;72(6):619-43.
349. Pieroni A, Dibra B, Grishaj G, Grishaj I, Gjon MS. Traditional phytotherapy of the Albanians of Lepushe, Northern Albanian Alps. *Fitoterapia.* 2005;76(3-4):379-99.
350. Miraldi E, Ferri S, Mostaghimi V. Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran). *J Ethnopharmacol.* 2001;75(2-3):77-87.
351. Shrestha PM, Dhillon SS. Medicinal plant diversity and use in the highlands of Dolakha district, Nepal. *J Ethnopharmacol.* 2003;86(1):81-96.

352. Kamau LN, Mbaabu MP, Kiama SG, Mbaria JM, Karuri GP. Knowledge and demand for medicinal plants used in the treatment and management of diabetes in Nyeri County, Kenya. *J Ethnopharmacol.* 2016;189:218-29.
353. Gail H, Tarryn B, Oluwaseyi A, Denver D, Diana G, Oluchi M, et al. An ethnobotanical survey of medicinal plants used by traditional health practitioners to manage HIV and its related opportunistic infections in Mpoza, Eastern Cape Province, South Africa. *J Ethnopharmacol.* 2015;171:109-15.
354. Joseph N, Anjum N, Tripathi YC. *Prunus cerasoides* D. Don: a review on its ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2018;48(1):15/1/8.
355. Kaur P, Thakur V, Brar S. *Prunus amygdalus*: phytochemical and pharmacological. *Indian Res J Pharm Sci.* 2015;2(2):152-9.
356. Moradi B, Heidari-Soureshjani S, Asadi-Samani M, Yang O. A systematic review of phytochemical and phytotherapeutic characteristics of bitter almond. *Int J Pharm Phytopharm Res.* 2017;7(2):1-9.
357. Barkaoui M, Katiri A, Boubaker H, Msanda F. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes in Chtouka Ait Baha and Tiznit (Western Anti-Atlas), Morocco. *J Ethnopharmacol.* 2017;198:338-50.
358. Ali-Shtayeh MS, Yaniv Z, Mahajna J. Ethnobotanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2000;73(1-2):221-32.
359. Said O, Khalil K, Fulder S, Azaizeh H. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *J Ethnopharmacol.* 2002;83(3):251-65.
360. Sezik E, Yesilada E, Shadidoyatov H, Kulivey Z, Nigmatullaev AM, Aripov HN, et al. Folk medicine in Uzbekistan. I. Toshkent, Djizzax, and Samarqand provinces. *J Ethnopharmacol.* 2004;92(2-3):197-207.
361. Kim JH, Yoon J-Y, Yang SY, Choi S-K, Kwon SJ, Cho IS, et al. Tyrosinase inhibitory components from Aloe vera and their antiviral activity. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2017;32(1):78-83.
362. Kim Y-J, Kim M-J, Kweon D-K, Lim S-T, Lee S-J. Quantification of hypopigmentation activity *in vitro*. *J Visualized Exp.* 2019(145):e58185.
363. Huang H-C, Chiu S-H, Chang T-M. Inhibitory effect of [6]-gingerol on melanogenesis in B16F10 melanoma cells and a possible mechanism of action. *Biosci, Biotechnol, Biochem.* 2011;75(6):1067-72.
364. Harput US, Genc Y, Saracoglu I. Cytotoxic and antioxidative activities of *Plantago lagopus* L. and characterization of its bioactive compounds. *Food Chem Toxicol.* 2012;50(5):1554-9.

365. Cuendet M, Hostettmann K, Potterat O, Dyatmiko W. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*. 1997;80(4):1144-52.
366. Hyland K, Voisin E, Banoun H, Auclair C. Superoxide dismutase assay using alkaline dimethyl sulfoxide as superoxide anion-generating system. *Anal Biochem*. 1983;135(2):280-7.
367. Jensen SR, Gotfredsen CH, Harput US, Saracoglu I. Chlorinated Iridoid Glucosides from *Veronica longifolia* and Their Antioxidant Activity. *J Nat Prod*. 2010;73(9):1593-6.
368. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med*. 1999;26(9/10):1231-7.
369. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983;65(1-2):55-63.
370. Aquino R, Cáceres A, Morelli S, Rastrelli L. An Extract of *Tagetes lucida* and Its Phenolic Constituents as Antioxidants. *Journal of Natural Products*. 2002;65(12):1773-6.
371. Munkombwe NM, Galebotswe P, Modibesane K, Morebodi N. Phenylpropanoid glycosides of *Gnidia polycephala*. *Phytochemistry*. 2003;64(8):1401-4.
372. Afshar FH, Delazar A, Nazemiyeh H, Nahar L, Moghaddam SB, Mbaebie BO, et al. Melilotoside derivatives from *Artemisia splendens* (Asteraceae). *Rec Nat Prod*. 2017;11(1):43-50.
373. Chan YY, Wu CH, Wu SJ, Wu TS. The constituents and synthesis of cryptamygin-A from the stem bark of *Cryptocarya amygdalina*. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 2002;49(2):263-8.
374. Taskova RM, Gotfredsen CH, Jensen SR. Chemotaxonomic markers in Digitalideae (Plantaginaceae). *Phytochemistry*. 2005;66(12):1440-7.
375. Yoshinari K, Sashida Y, Shimomura H. Two new lignan xylosides from the barks of *Prunus ssiori* and *Prunus padus*. *Chem Pharm Bull*. 1989;37(12):3301-3.
376. Soro Y, Kassi ABB, Bamba F, Siaka S, Toure SA, Coustard JM. Flavonoids and gallic acid from leaves of *Santaloides afzelii* (Connaraceae). *Rasayan J Chem*. 2012;5(3):332-7.
377. Buecherl D. Isolation of kaempferol glycosides from *Ginkgo biloba* leaves and synthesis, identification and quantification of their major in vivo metabolites [PhD thesis]. Dieterskirchen: University of Regensburg; 2013.

378. Huang W, Wan C, Zhou S. Quercetin - a flavonoid compound from *Sarcopyramis bodinieri* var. *delicate* with potential apoptotic activity in HepG2 liver cancer cells. *Trop J Pharm Res.* 2013;12(4):529-33, 5 pp.
379. Annan K, Jackson N, Dickson RA, Sam GH, Komlaga G. Acaricidal effect of an isolate from *Hoslundia opposita* vahl against *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae). *Pharmacogn Res.* 2011;3(3):185-8.
380. Peshin T, Kar HK. Isolation and characterization of β -sitosterol-3-O- β -D-glucoside from the extract of the flowers of *Viola odorata*. *Br J Pharm Res.* 2017;16(4): 33160-8
381. Bach SM, Perotti ME, Merep AP, Marcial GE, Grau A, Attarian R, et al. Chemical constituents, anti-inflammatory and antioxidant activities of bark extracts from *Prunus tucumanensis* Lillo. *Nat Prod Res.* 2013;27(10):916-9.
382. Langle WD, Adams R. Condensation of certain nitriles and various polyhydroxyphenols to form phenolic acids. *J Am Chem Soc.* 1922;44:23,0-30.
383. Cui Y, Hu Y-H, Yu F, Zheng J, Chen L-S, Chen Q-X, et al. Inhibition kinetics and molecular simulation of p-substituted cinnamic acid derivatives on tyrosinase. *Int J Biol Macromol.* 2017;95:1289-97.
384. Zhang Z, Liu J, Wu F, Zhao L. Inhibitory effects of substituted cinnamic acid esters on mushroom tyrosinase. *Lett Drug Des Discovery.* 2013;10(6):529-34.
385. Kong YH, Jo YO, Cho C-W, Son D, Park S, Rho J, et al. Inhibitory effects of cinnamic acid on melanin biosynthesis in skin. *Biol Pharm Bull.* 2008;31(5):946-8.
386. Nazir Y, Saeed A, Rafiq M, Afzal S, Ali A, Latif M, et al. Hydroxyl substituted benzoic acid/cinnamic acid derivatives: Tyrosinase inhibitory kinetics, anti-melanogenic activity and molecular docking studies. *Bioorg Med Chem Lett.* 2019: Ahead of Print.
387. Zaidi KU, Ali AS, Ali SA, Naaz I. Microbial tyrosinases: promising enzymes for pharmaceutical, food bioprocessing, and environmental industry. *Biochemistry research international.* 2014;2014.
388. Meraler S. Mahlep (*Prunus mahaleb* L.)'in Bitki Kısımlarında Mineral Bileşiminin Belirlenmesi [Yüksek lisans tezi], Kilis: 7 Aralık Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı; 2010.
389. Lu J, Zhang B-C, Jiang W, Zhang C-H, Guan S. Study on the antioxidant activity of the ursolic acid. *Science and Technology of Food Industry.* 2009;4.
390. Alavi Rafiee S, Farhoosh R, Sharif A. Antioxidant Activity of Gallic Acid as Affected by an Extra Carboxyl Group than Pyrogallol in Various Oxidative Environments. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2018;120(11):1-8

391. MacNeil S. Progress and opportunities for tissue-engineered skin. *Nature*. 2007;445(7130):874-80.
392. Junco JJ, Mancha-Ramirez A, Malik G, Wei S-J, Kim DJ, Liang H, et al. Ursolic acid and resveratrol synergize with chloroquine to reduce melanoma cell viability. *Melanoma research*. 2015;25(2):103-12.
393. Mustapha N, Bzéouich IM, Ghedira K, Hennebelle T, Chekir-Ghedira L. Compounds isolated from the aerial part of *Crataegus azarolus* inhibit growth of B16F10 melanoma cells and exert a potent inhibition of the melanin synthesis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2015;69:139-44.
394. Malathi M, Thappa DM. Systemic skin whitening/lightening agents: what is the evidence? *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2013;79(6):842-6.
395. Cruz GV, Mullet E. The impact of skin tone on perceived facial beauty: A two-culture study. *Psicológica*. 2014;35(3):729-43.
396. Desmedt B, Courselle P, De BJO, Deconinck E, Desmedt B, Rogiers V, et al. Overview of skin whitening agents with an insight into the illegal cosmetic market in Europe. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30(6):943-50.
397. Burnett CL, Bergfeld WF, Belsito DV, Hill RA, Klaassen CD, Liebler DC, et al. Final report of the safety assessment of kojic acid as used in cosmetics. *International journal of toxicology*. 2010;29(6_suppl):244S-73S.
398. Burger P, Landreau A, Azoulay S, Michel T, Fernandez X. Skin whitening cosmetics: Feedback and challenges in the development of natural skin lighteners. *Cosmetics*. 2016;3(4):36.