

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Endemik *Glaucium cappadocicum* BİTKİSİNİN AKTİF
BİLEŞİKLERİNİN İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU VE BAZI
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Sevgi ALTIN

Danışman: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

TEZ JÜRİ ÜYELERİ
Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL
Doç. Dr. Ahmet ALTAY
Doç. Dr. Hüseyin AKŞİT

DOKTORA TEZİ
ERZİNCAN, 2025

© 2025 [Sevgi ALTIN]. Tüm hakları saklıdır.

ÖZET

Endemik *Glaucium cappadocicum* BİTKİSİNİN AKTİF BİLEŞİKLERİNİN İZOLASYONU, KARAKTERİZASYONU VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Sevgi ALTIN

Doktora Tezi, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

2025, 232 sayfa

Bu çalışmada, Erzincan'a endemik olan *Glaucium cappadocicum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstraktların antioksidan, antikolinesteraz, antiproliferatif ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi ve bu aktivitelere sebep olan sekonder metabolitlerin izolasyonu amaçlanmıştır. İzole edilen moleküllerin yapı aydınlatma çalışmaları spektroskopik (NMR, GC-MS) yöntemlerle gerçekleştirildi. İzolasyon sonucunda; rutin (GC-1), salutaridin (BGB-6), glausin (BG-19), norglausin (BGB-9), izokoridin (C-17), norizokoridin (BGB-8), izoboldin (S-6), predisentrin (S-2), korytüberin (BG-2) ve sükroz (GH-58) olmak üzere on adet molekül bu bitkiden ilk kez izole edildi. Elde edilen saf moleküller için yukarıda bahsedilen biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirildi. Antiproliferatif aktivite testleri A549 (akciğer kanseri) ve HT29 (kolon kanseri) hücre hatlarına karşı değerlendirildi. Test edilen moleküller arasında en güçlü sitotoksik etki A549 hücre hattı üzerinde korytüberin molekülünde (IC_{50} : $61,2 \pm 1,12 \mu M$) belirlendi. Enzim inhibisyon çalışmaları metabolik enzimler olan kolinesteraz ve α -glukozidaz enzimlerine karşı değerlendirildi. Antikolinesteraz aktivitesi bakımından en etkili sonuç, takrinden daha yüksek inhibisyon gösteren korytüberin (IC_{50} : $0.84 \mu M$) molekülünde belirlendi. α -glukozidaz enzimi üzerindeki inhibisyon çalışmalarında ise izoboldin (IC_{50} : $0.87 \mu M$) molekülünün akarbozdan daha yüksek inhibisyon sergilediği belirlendi (akarboz için IC_{50} : $1.28 \mu M$). Ayrıca bu saf bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* üzerinde test edildi ve minimum inhibitör konsantrasyonları belirlendi. *Streptococcus pneumoniae*'ye karşı en etkili moleküller korytüberin, salutaridin, norizokoridin, norglausin ve izokoridin olmuştur (MİK: $4,688 \mu M$). Özetle, tüm bu bulgular, bu türden ilk kez izole edilen sekonder metabolitlerin önemli metabolik hastalıkların tedavisinde değerlendirilebilecek ölçüde farklı biyolojik aktiviteye sahip olduklarını ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Antidiyabet, antikolinesteraz, antimikrobiyal, antioksidan, *Glaucium cappadocicum*, izolasyon, kanser

ABSTRACT

ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND INVESTIGATION OF SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES OF ENDEMIC *Glaucium cappadocicum* ACTIVE COMPOUNDS

Sevgi ALTIN

Doctoral Thesis, Erzincan Binali Yıldırım University, Institute of Science and Technology,
Department of Chemistry

Advisor: Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

2025, 232 pages

The aim of this work was to identify the secondary metabolites responsible for the antioxidant, anticholinesterase, antiproliferative, and antibacterial properties of extracts from the aerial parts of *Glaucium cappadocicum*, an endemic plant in Erzincan. The structures of the separated compounds were studied using spectroscopic techniques. The following compounds were isolated for the first time from this plant: rutin (GC-1), salutaridine (BGB-6), glausine (BG-19), norglaucine (BGB-9), isocorydine (C-17), norisocorydine (BGB-8), isoboldine (S-6), predicitrine (S-2), corytuberine (BG-2), and sucrose (GH-58). The pure molecules obtained were subjected to the biological activity assays described above. Antiproliferative assays were performed using the A549 lung cancer and HT29 colon cancer cell lines. The corytuberine molecule showed the most potent cytotoxic effect against the cancer cell lines tested (A549 IC_{50} : $61.2 \pm 1.12 \mu M$). Enzyme inhibition studies were evaluated against the metabolic enzymes anticholinesterase and α -glucosidase. The most effective anticholinesterase activity was observed with corytuberine (IC_{50} : $84 \mu M$), showing greater inhibition than tacrine. The anticholinesterase activity of the corytuberine molecule (IC_{50} : $0.84 \mu M$) was shown to be the most effective, exhibiting more inhibition than tacrine. Isoboldine (IC_{50} : $0.87 \mu M$) showed a greater inhibition of the α -glucosidase enzyme than acarbose (IC_{50} : $1.28 \mu M$). In addition, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans* were used to evaluate the antibacterial properties of these pure compounds and to establish minimum inhibitory doses. Corytuberine, salutaridine, norisocorydine, norglaucine, and isocorydine were the most potent compounds against *Streptococcus pneumonia* (MIC: $4.688 \mu M$). Taken together, these results suggest that the secondary metabolites isolated from *G. cappadocicum* for the first time possess different biological activities that can be evaluated in the treatment of serious metabolic diseases

Keywords: Antidiabetes, anticholinesterase, antimicrobial, antioxidant, *Glaucium cappadocicum*, isolation, cancer

TEŞEKKÜR

Glaucium cappadocicum Bitkisinin Aktif Bileşiklerinin İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Bazı Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi isimli bu çalışma YÖK 100/2000 doktora projesi “Doğal ve Bitkisel Ürünler/ Kozmetik Ürünler” ve TÜBİTAK tarafından sağlanan destek ile Sayın Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL danışmanlığında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’ne doktora tezi olarak sunulmuştur.

Yıllardır büyük bir çaba ve emekle çalıştığım tezimi hazırlamanın gururu ve heyecanı içerisindeyim. Bana her zaman yol gösteren, destek ve emeğini esirgemeyen, öğrencisi olduğum için daima gurur duyduğum değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL’a danışmanlığı için sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez izleme komitemde yer alarak değerli yorum ve önerileriyle araştırmamın şekillenmesine katkı sağlayan Saygıdeğer hocalarım Doç. Dr. Ahmet ALTAY ve Doç. Dr. Hüseyin AKŞİT’e,

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi YÖK 100/2000 Doğal ve Bitkisel Ürünler/ Kozmetik Ürünler öncelikli alanlar doktora burs programı tarafından desteklenen tez çalışmamdan dolayı Yükseköğretim Kurulu’na, TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) TÜBİTAK 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında sağladıkları burslardan dolayı TÜBİTAK’a,

Araştırma materyallerinin toplanılmasında ve teşhisinde verdikleri desteklerden ötürü Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ali KANDEMİR’e,

Çalışma süresince bilgisini paylaşmaktan kaçınmayan Saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Cemalettin ALP’e,

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde mikrobiyoloji çalışmaları için tüm enerjisi ile yanımda olan Saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Sümeyye AKYÜZ’e ve Gaziosmanpaşa Üniversitesi NMR laboratuvarında NMR analizlerini gerçekleştiren Saygıdeğer Özlem POLAT’a,

Tez çalışmalarım için her türlü imkânı sağlayan Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü Sayın Doç. Dr. Kemal Volkan ÖZDOKUR ve kıymetli ekibine,

Hedeflerime ulaşmak için çıktığım bu uzun ve zor yolda bana olan inançlarını bir an olsun kaybetmeyen, sonsuz sevgi ve güvenleriyle her zaman yanımda olan sevgili annem Hanife ALTIN ve babam Ali ALTIN’a, her zaman bir abiden daha fazlası olan kahramanım Erdoğdu ALTIN’a, ablam, dostum ve tabi ki yolumu aydınlatan prenseslerim Derya ALTIN ve Aysel ALTIN’a, sen bunu da yaparsın diyerek beni daima motive eden canım Sevda ALTIN’a teşekkür ederim.

Sevgi ALTIN

Şubat, 2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR.....	33
2.1. <i>Glaucium</i>	33
2.2. <i>Glaucium cappadocicum</i> Boiss.	40
2.3. <i>Glaucium</i> Alkaloidlerinin Fitokimyası ve Farmakolojisi	41
2.3.1. Aporfinler	41
2.3.2. Glausin	42
2.3.3. Disentrin, dehidrodisentrin ve disentrinon	44
2.3.4. Korytüberin.....	46
2.3.5. Benzofenantridinler	47
2.3.6. Keleritrin.....	47
2.3.7. Sanguinarin ve dihidrosanguinarin	48
2.3.8. Kelidonin	50
2.3.9. Protopin.....	50
2.3.10. Morfinanlar	51
2.3.11. Salutaridin.....	52
2.3.12. Tetrahidroprotoberberin.....	52
3. YÖNTEM	55
3.1. Materyal	55
3.2. Bitkisel Materyalin Toplanması ve Kurutulması.....	55
3.3. Bitkisel Materyal İçin Ekstraksiyon İşlemleri	56
3.4. Ham Ekstrelerin Biyolojik Aktivite Çalışmaları	57
3.4.1. Antioksidan aktivite.....	57
3.4.2. Antikolinesteraz aktivite	61
3.4.3. Antiproliferatif aktivite	62

3.4.4. Antimikrobiyal aktivite.....	69
3.4.5. Antidiyabetik aktivite	71
3.5. Kromatografik Analizler.....	72
3.5.1. Kolon kromatografisi.....	72
3.5.2. İnce tabaka kromatografisi (İTK)	74
3.5.3. Preperatif HPLC	75
3.5.4. Flash kromatografisi	75
3.5.5. GC-MS.....	75
3.6. Spektroskopik Analizler	76
3.6.1. Nükleer manyetik rezonans (NMR).....	76
4. BULGULAR.....	77
4.1. Ham Ekstrelerin Biyolojik Aktiviteleri	77
4.1.1. Antioksidan aktivite sonuçları	77
4.1.2. Antikolinesteraz aktivite sonuçları	83
4.1.3. Antiproliferatif aktivite sonuçları	85
4.1.4. Anmikrobiyal aktivite sonuçları	87
4.2. <i>Glaucium cappadocicum</i> Bitkisi İçin İzolasyon Çalışmaları	89
4.3. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini	95
4.4. İzole Edilen Bileşiklerin Biyolojik Aktiviteleri.....	118
4.4.1. Antikolinesteraz aktivite sonuçları	118
4.4.2. Antiproliferatif aktivite sonuçları	120
4.4.3. Antimikrobiyal aktivite sonuçları	121
4.4.4. Antidiyabetik aktivite sonuçları.....	123
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	125
6. ÖNERİLER.....	138
KAYNAKLAR.....	139
EKLER	170
Ek-1. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	171
Ek-2. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.....	172
Ek-3. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşiğinin DEPT 135 spektrumu	173
Ek-4. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşiğinin DEPT 90 spektrumu	174
Ek-5. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşiğinin HETCOR spektrumu	175
Ek-6. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşiğinin COSY spektrumu.....	176
Ek-7. Rutin (GC-1) bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.....	177
Ek-8. İzokoridin (C17) bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	179

Ek-9. İzokoridin (C17) bileşığının ¹³ C-NMR spektrumu.....	180
Ek-10. İzokoridin (C17) bileşığının GC-MS spektrumu.....	181
Ek-11. Norizokoridin (BGB8) bileşığının ¹ H-NMR spektrumu	182
Ek-12. Norizokoridin (BGB8) bileşığının ¹³ C-NMR spektrumu	183
Ek-13. Norizokoridin (BGB8) bileşığının GC-MS spektrumu	184
Ek-14. Norizokoridin (BGB8) bileşığının LC-MS spektrumu.....	185
Ek-15. Korytüberin (BG2) bileşığının ¹ H-NMR spektrumu	186
Ek-16. Korytüberin (BG2) bileşığının ¹³ C-NMR spektrumu	187
Ek-17. İzoboldin (S6) bileşığının ¹ H- NMR spektrumu.....	188
Ek-18. İzoboldin (S6) bileşığının ¹³ C-NMR spektrumu.....	189
Ek-19. Sükroz (GH58) bileşığının ¹ H-NMR spektrumu	190
Ek-20. Sükroz (GH58) bileşığının ¹³ C-NMR spektrumu	191
Ek-21. Sükroz (GH58) bileşığının HETGOR spektrumu	192
Ek-22. Sükroz (GH58) bileşığının DEPT 135 spektrumu.....	193
Ek-23. Sükroz (GH58) bileşığının DEPT spektrumu.....	194
Ek-24. Sükroz (GH58) bileşığının COSY spektrumu	195
Ek-25. Predisentrin (S2) bileşığının ¹ H-NMR spektrumu.....	196
Ek-26. Predisentrin (S2) bileşığının ¹³ C-NMR spektrumu.....	197
Ek-27. Glausin (BG19) bileşığının ¹ H-NMR spektrumu	198
Ek-28. Glausin (BG19) bileşığının ¹³ C-NMR spektrumu	199
Ek-29. Glausin (BG19) bileşığının GC-MS spektrumu	200
Ek-30. Norglausin (BGB9) bileşığının ¹ H-NMR spektrumu	201
Ek-31. Norglausin (BGB9) bileşığının ¹³ C-NMR spektrumu	202
Ek-32. Norglausin (BGB9) bileşığının GC-MS spektrumu	203
Ek-33. Norglausin (BGB9) bileşığının LC-MS spektrumu.....	204
Ek-34. Korytüberin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiğı	204
Ek-35. Salutaridin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiğı	205
Ek-36. Norizokoridin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiğı	205
Ek-37. Norglausin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiğı	206
Ek-38. Glausin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiğı.....	206
Ek-39. İzokoridin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiğı	207
Ek-40. İzoboldin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiğı.....	207
Ek-41. Rutin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiğı	208
Ek-42. Takrin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiğı	208
Ek-43. Korytüberin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiğı.....	209

Ek-44. Salutaridin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği.....	209
Ek-45. Norizokoridin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği	210
Ek-46. Norglausin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği	210
Ek-47. Glausin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği.....	211
Ek-48. İzokoridin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği.....	211
Ek-49. İzoboldin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği.....	212
Ek-50. Rutin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği	212
Ek-51. Takrin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği.....	213
Ek-52. Korytüberine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği....	213
Ek-53. Salutaridine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği.....	214
Ek-54. Norizokoridine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği.	214
Ek-55. Norglausine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği	215
Ek-56. Glausine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği.....	215
Ek-57. İzokoridine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği.....	216
Ek-58. İzoboldine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği.....	216
Ek-59. Rutine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği	217
Ek-60. Akarboza ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği	217

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 2. 1 . <i>Glaucium</i> cinsinin genel dağılımı (Mungan ve Yıldız, 2016).....	34
Tablo 2. 2. Satışı yapılan bazı Glausin etken maddeli preparatlar (Kuşman, 2018)	44
Tablo 2. 3. <i>Glaucium</i> spp.'de bulunan alkaloid sınıfları ve biyolojik bilgileri.....	54
Tablo 4. 1. Bitki ekstraktlarının ve Trolox'un DPPH radikal giderme aktiviteleri.....	78
Tablo 4. 2. Bitki ekstraktlarının demir indirgeme aktiviteleri	79
Tablo 4. 3. Bitki ekstraktlarının toplam fenolik miktarları.....	81
Tablo 4. 4. Bitki ekstraktlarının toplam flavonoid miktarları.....	82
Tablo 4. 5. <i>G. cappadocicum</i> ait ekstraktlar için AChE ve BChE enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri	85
Tablo 4. 6. Bitki ekstraktlarının farklı hücre hatları üzerindeki %inhibisyon değerleri.....	86
Tablo 4. 7. <i>G.cappadocicum</i> ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları	88
Tablo 4. 8. Salutaridin bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C-NMR verileri	97
Tablo 4. 9. Rutin bileşiğinin ¹ H-NMR verileri.....	100
Tablo 4. 10. İzokoridin bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C-NMR verileri	103
Tablo 4. 11. Norizokoridin bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C-NMR verileri.....	105
Tablo 4. 12. Korytüberin bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C-NMR verileri	107
Tablo 4. 13. İzoboldin bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C-NMR verileri	109
Tablo 4. 14. Sükroz bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C-NMR verileri	111
Tablo 4. 15. Predisentrin bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C-NMR verileri	113
Tablo 4. 16. Glausin bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C-NMR verileri	115
Tablo 4. 17. Norglausin bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C-NMR verileri.....	117
Tablo 4. 18. Bileşiklerin antikolinesteraz inhibisyon değerleri (µM)	120
Tablo 4. 19. Saf moleküllerin kanser hücre dizileri üzerindeki IC ₅₀ değerleri.....	121
Tablo 4. 22. Bileşiklerin α-glikozidaz inhibisyon değerleri	124

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. Zencefilin başlıca fenolik bileşiklerinin kimyasal yapıları	2
Şekil 1. 2. DM hastalığında kullanılan temel ilaçlar	5
Şekil 1. 3. Bilinen bir antikanser ilacı olan etoposidin yapısı	7
Şekil 1. 4. Aporfin grubu alkaloidler için yapı-antikanser aktivite ilişkisi.....	8
Şekil 1. 5. Asetilkolinin AChE tarafından enzimatik hidrolizi	9
Şekil 1. 6. Ellman yöntemiyle AChE için aktivite ve inhibisyon reaksiyonları.....	10
Şekil 1. 7. AH tedavisinde kullanılan bazı asetilkolinesteraz inhibitörleri	11
Şekil 1. 8. Bitkilerden izole edilen bazı özel sekonder metabolitler	13
Şekil 1. 9. Temel bir flavonoid iskeleti	16
Şekil 1. 10. Önemli bir flavonol olan kuersetin molekülünün yapısı	17
Şekil 1. 11. Bir antikanser ilaç olan taksolün kimyasal yapısı	18
Şekil 1. 12. Benekli baldıran (<i>Conium maculatum</i>)’dan izole edilen koniin alkaloidi	21
Şekil 1. 13. Güçlü bir böcek öldürücü ilaç olan nikotin ve anabazin alkaloidlerinin yapısı	22
Şekil 1. 14. İzokinolin grubuna ait bir alkaloid olan berberinin yapısı	23
Şekil 1. 15. Bir afyon alkaloidi olan papaverin molekülünün yapısı	23
Şekil 1. 16. Kas gevşetici özelliği ile bilinen D-tüboküarin molekülünün yapısı.....	24
Şekil 1. 17. Protoberberin alkaloidlerinin yapı-AChE inhibitör aktivite ilişkisi.....	25
Şekil 1.18. Palmitin ve tetrahidropalmitin moleküllerine ait yapı.....	26
Şekil 1. 19. Doğal bir ürün olan ve atinflatuar aktiviteye sahip kolşisin yapısı	28
Şekil 1. 20. Antitussif ilaçların etken maddesi olan bir alkaloid; glausin	31
Şekil 3.1. <i>Glaucium cappadocicum</i> bitkisinin kurutulması ve öğütülmesi	55
Şekil 3. 2. <i>Glaucium cappadocicum</i> bitkisi için ekstraksiyon işlemleri.....	56
Şekil 3.3. <i>G.cappadocicum</i> bitkisi için tasarlanan biyolojik aktivite çalışmaları	57
Şekil 3.4. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) reaksiyon mekanizması	58
Şekil 3.5. Troloks standart eğrisi.....	59
Şekil 3.6. Demir indirgeme için Troloks standart eğrisi.....	59
Şekil 3.7. Gallik asit standart eğrisi.....	60
Şekil 3.8. Kuersetin standart eğrisi	61
Şekil 3. 9. AChE/BChE enzimleri için standart takrin grafiği	62
Şekil 3.10. İzole edilen moleküller için antimikrobiyal aktivite çalışmaları.....	71
Şekil 3. 11. Tetrazolyumun indirgenmesiyle oluşan renkli formazan türevi.....	63
Şekil 3.12.Tripsinizasyon ve santrifügasyon işlemi sonrası hücrelerin görüntüsü	65

Şekil 3. 13. Pasajlama sonrası A549 ve HT-29 hücrelerinin genel bir görüntüsü.....	65
Şekil 3. 14. Thoma Lamı ile hücrelerin sayılması.....	67
Şekil 3. 15. Trypan blue canlılık testi.....	68
Şekil 4. 1. <i>G. cappadocicum</i> ekstraktlarının DPPH radikal temizleme aktiviteleri	77
Şekil 4. 2. <i>G. cappadocicum</i> ekstraktlarının demir indirgeme gücü aktiviteleri.	79
Şekil 4. 3. <i>G. cappadocicum</i> ekstraktlarının toplam fenolik miktarlarına ait grafik	80
Şekil 4. 4. <i>G. cappadocicum</i> ekstraktlarının toplam flavonoid miktarlarına ait grafik	82
Şekil 4. 5. <i>G. cappadocicum</i> ekstrelerinin için AChE/BChE (%) inhibisyon grafiği	83
Şekil 4. 6. <i>G. cappadocicum</i> alkaloid ekstresi için AChE/BChE (%) inhibisyon grafiği	84
Şekil 4. 7. <i>G. cappadocicum</i> ekstraktlarının bakteriler üzerindeki inhibisyon etkileri	87
Şekil 4. 8. <i>G. cappadocicum</i> bitkisinin Flash kromatografisine ait kromatogram sonuçları ...	89
Şekil 4. 9. BGB-6 (Salutaridin) molekülüne ait İTK görünümü	90
Şekil 4. 10. GC-1 (Rutin) molekülünün izolasyonuna ait çalışma bulguları.....	91
Şekil 4. 11. İzolasyon sonucu elde edilen sükroz molekülüne ait kristaller.....	92
Şekil 4. 12. Alkaloid ekstresine ait izolasyon çalışmaları	92
Şekil 4. 13. Preperatif İTK ile alkaloid izolasyon çalışmaları.....	93
Şekil 4. 14. <i>Glaucium cappadocicum</i> ekstraktları için izolasyon prosesleri	94
Şekil 4. 15. <i>Glaucium cappadocicum</i> ekstraktları için izolasyon prosesleri	95
Şekil 4. 16. Salutaridin (BGB-6) bileşiğinin kimyasal yapısı	96
Şekil 4. 17. Rutin (GC-1) bileşiğinin kimyasal yapısı.....	99
Şekil 4. 18. İzokoridin (C-17) bileşiğinin kimyasal yapısı.....	101
Şekil 4. 19. Norizokoridin (BGB8) bileşiğinin kimyasal yapısı.....	104
Şekil 4. 20. Korytüberin (BG2) bileşiğinin kimyasal yapısı	106
Şekil 4. 21. İzoboldin (S6) bileşiğinin kimyasal yapısı.....	108
Şekil 4. 22. Sükroz (GH58) bileşiğinin kimyasal yapısı	110
Şekil 4. 23. Predisentrin (S2) bileşiğinin kimyasal yapısı.....	112
Şekil 4. 24. Glausin (BG19) bileşiğinin kimyasal yapısı	114
Şekil 4. 25. Norglausin (BGB9) bileşiğinin kimyasal yapısı	116
Şekil 4. 26. Asetilkolinesteraz enzimi için %inhibisyon-konsantrasyon grafikleri.....	118
Şekil 4. 27. Butirilkolinesteraz enzimi için %inhibisyon-konsantrasyon grafikleri.....	119
Şekil 4. 28. İzole edilen bileşiklerin akciğer kanser hücre hattı (A549) üzerindeki inhibisyon etkisi.....	121
Şekil 4. 29. İzole edilen moleküller için % inhibisyon-konsantrasyon grafikleri	124
Şekil 5. 1. İzole edilen bileşiklerin kimyasal yapıları.....	128

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde Değer
Brs	Geniş Singlet
D	Dublet
Dd	Dubletin Dubleti
IC ₅₀	%50 İnhibisyon Konsantrasyonu
M	Multiplet
S	Standart Sapma
S	Singlet
T	Triplet
Δ	Kimyasal Kayma
<i>j</i>	Etkileşme Sabiti
α	Alfa
¹³ C-NMR	¹³ C-Nükleer Manyetik Rezonans
1D-NMR	Tek Boyutlu Nükleer Manyetik Rezonans
¹ H-NMR	¹ H-Nükleer Manyetik Rezonans
2D-NMR	İki Boyutlu Nükleer Manyetik Rezonans
COSY	Korelasyon Spektroskopisi
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DPPH•	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali
FDA	Food and Drug Administration
FRAP	Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü
HMBC	Farklı Çekirdeklerin Çoklu Bağ Korelasyonu
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
Hz	Hertz
IR	İnfrared Spektroskopisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi- Kütle Spektroskopisi
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon

MBK	Minimum Bakteri Konsantrasyon
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
BCh	Butirilkolin
BChE	Butirilkolinesteraz
AChEI	Kolinesteraz inhibitörleri
NMDA	N-metil-D-aspartat
CDK	Sikline bağlı kinaz enzimleri
HT-29	İnsan kolon kanseri hücre hattı
Caco-2	Kolorektal kanseri hücre
T47D	Meme kanseri hücre hattı
NIH3T3	NIH3T3 Embriyonik fare fibroblast hücre hattı
SMMC-7721	İnsan hepatokarsinom hücre hattı

1. GİRİŞ

Doğal ürünler, tedavi edici güçleri ve sayısız biyolojik aktiviteleri ile karmaşık kimyasalların mükemmel bir uyumudur (Chrysargyris vd., 2024; Shoeb, 2006). Bitkiler, hayvanlar, mikrobiyal ve mineral kaynaklar dahil olmak üzere çeşitli doğal kaynaklardan elde edilen ve birçok hastalığın tedavisinde kullanılan binlerce doğal ürün mevcuttur (Verma ve Singh, 2008; Zeng vd., 2023). Bu doğal ürünler sahip oldukları sekonder metabolitler sayesinde onarıcı ve iyileştirici yönleriyle geleneksel halk hekimliğinde uzun yıllardır şifalı bitkiler olarak kullanılmaktadır (Anand vd., 2019; Hao ve Xiao, 2018).

Şifalı bitkiler; bitkisel ilaçlar, farmasötikler, özler ve saf bileşikler dahil olmak üzere taze veya işlenmiş formlarda bitkilerin yaprak, kök, çiçek, meyve ve tohumları gibi çeşitli kısımlarını tanımlamaktadır (Wijesekera, 2017). Şifalı bitkilerin dünya genelinde kullanımı özellikle son yıllarda büyük bir artışla devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) dünya nüfusunun %80'inin bitkisel ilaçları çay, kaynatma veya ekstrakt gibi formlarda yaygın olarak kullandığını belirtmektedir (Kayser ve Quax, 2007; Mukherjee ve Wahile, 2006; Nurcahyo vd., 2024).

Türkiye, üç fitocoğrafik bölgenin kesişim noktası olması ve Güney Avrupa ile Asya floraları arasında köprü konumunda bulunmasından dolayı farklı cinslerin merkezi konumunda olmuştur. Ülkemiz bu zengin florası nedeniyle çok sayıda tıbbi ve aromatik bitkiye ev sahipliği yapmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkilerin hastalıklarla mücadelede gösterdiği üstün başarı ülkemiz için paha biçilemez bir değerdir. Örneğin; kanserle mücadelede ısırgan otu, ökseotu, kırmızıbiber; hazımsızlık için anason, zencefil, kimyon, dereotu, papatya, havlıcan, rezene, kakule, yenibahar; hemoroit için civanperçemi, sultanotu, kuşburnu, zencefil; kabızlık için keten, sinemaki, rezene, sinirliot tohumu; kalp rahatsızlıklarında alıç, ökseotu; karaciğer hastalıklarında enginar, zerdaçal, hindiba, kurtpençesi; mide kanamasında civanperçemi, kuşburnu, sumak; soğuk algınlığı ve öksürükte ardıç, ıhlamur, ebegümeci, karanfil, ekinezya, nane, meyankökü, okaliptus, zencefil, papatya; unutkanlık ve hafıza zayıflığında adaçayı, yeşil çay, biberiye, zencefil, kakule; yüksek kolesterol için biberiye, kuşburnu, yeşil çay, üzüm çekirdeği, kekik, zencefil; yüksek şekeri düşürmek için kudret narı, tarçın, mahlep yıllardan beri halk

sağlığında kullanılan tıbbi ve aromatik bitkilerden sadece birkaçıdır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Tıbbi ve aromatik bitkilerin önemli bir sınıfı da baharatlardır. Genellikle çiçeklenme döneminde hasat edilen baharatlar, sadece yemeklerimizi lezzetlendirmek için değil aynı zamanda birçok hastalığın tedavisinde de sıklıkla başvurduğumuz önemli kaynaklardır. Tarçın, kekik, zerdeçal, zencefil, fesleğen, karabiber gibi doğal ürünler bağışıklık güçlendirici yönleri ve içerdikleri yüksek polifenoller sayesinde güçlü birer antioksidan kaynaklardır. Bu baharatlar özellikle enfeksiyona bağlı hastalıklarla mücadelede ve şeker dengesinin kontrol altında tutulmasındaki muazzam etkilerinden dolayı diyetlerimizin vazgeçilmezidir (Ramteke vd., 2024). Örneğin zencefil bitkisinin baharat olarak kullanımının yanında antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antikanser, nöroprotektif, kardiyovasküler hastalıklar, solunum hastalıkları, antiobezite, antidiyabetik, bulantı önleyici ve antiemetik aktiviteler (kusma önleyici) dahil olmak üzere birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Mao vd., 2019, Pázmándi vd., 2024). Zencefilin sağlığa olan bu faydaları ise esas olarak yüksek oranda ihtiva ettiği fenolik sekonder metabolitlere atfedilmiştir (Bkz. Şekil 1.1).



Şekil 1. 1. Zencefilin başlıca fenolik bileşiklerinin kimyasal yapıları

Terapötik etkiye sahip bitkiler genellikle ihtiva ettikleri sekonder metabolitlerin bir kombinasyonuna sahiptir. Gerçekten de dünya üzerinde pek çok farklı bitki türü bulunmasına rağmen, her bitkinin miktar ve form açısından farklılık gösteren benzersiz bir dizi sekonder metabolite sahip olduğu açıktır. Bitkileri benzersiz kılan bu farklılıklar, çeşitli hastalıklarla mücadelede birçok ilaç etken maddesinin bitki kökenli olmasına imkân sağlamaktadır (Baker vd., 1995; Farombi, 2003; Nwozo vd., 2023; Soyun Meredow, 2023; Twaij ve Hasan, 2022).

Sentetik farmasötiklerin, yüzyılın en yaygın hastalıklarını önleme ve tedavi etmede yetersiz kalması yeni kimyasal yapıların keşfedilmesini zorunlu kılarak araştırmacıların bitkiler gibi doğal kaynaklara odaklanmasına neden olmuştur (Aryan, 2023; Cox ve Balick, 1994). Modern bilimlerin gelişmesi ile birlikte bitkilerin bünyesinde barındırdığı sekonder metabolitlerin izolasyonu sağlanmış ve biyoaktif moleküllerin keşfine olanak tanınmıştır. Sekonder metabolitlerin izolasyonu, yapı analizleri ve aktivite çalışmaları günümüzde de hala güncel bir konu olarak önemini korumaktadır. Bugüne kadar binlerce sekonder metabolitin kimyasal yapısı aydınlatılmış ve bunların birçoğunun da biyolojik aktiviteleri belirlenmiştir.

Biyolojik aktivite çalışmaları ile etkinliği kanıtlanmış bitkiler geçmişte olduğu gibi günümüzde de birçok ülkede hastalıklarla mücadelede önceliğini korumaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, kalp hastalıkları ve kanserden sonra ölümlere neden olan hastalıklar arasında üçüncü sırada karşımıza çıkan diyabet, yaygınlığı giderek artan önemli bir sağlık sorunudur. Diyabetli hasta sayısının 2010 yılında 285 milyon olduğu, 2030 yılında bu sayının endişe verici bir şekilde artarak 439 milyon olacağı tahmin edilmektedir (Feyizoğlu, 2023).

Halk arasında diyabet olarak bilinen *Diabetes Mellitus* (DM), insülin eksikliği veya insülin direnci ile ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize çoklu bir grup metabolik hastalıktır (Alqadi, 2024). DM, insülin sekresyonunun eksikliğinden veya vücudun insülin üretme ve insüline yanıt verme yeteneğinin bozulması sonucunda kandaki glikozun normal seviyelerini koruyamaması ve kanda şeker birikmesine bağlı olarak karbohidrat metabolizmasında bozulmalara sebep olmaktadır (Deshmukh vd., 2015;

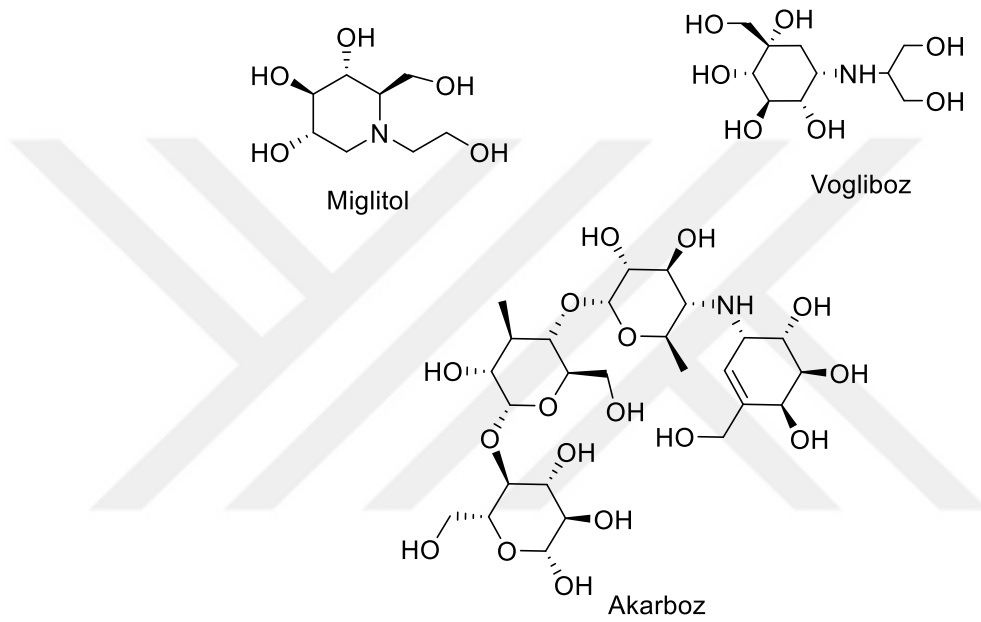
Ruan vd., 2023; Tokhirovna, 2024). Bu metabolik bozulmalarla birlikte diyabet tedavi edilmezse kalp hastalığı, körlük, böbrek yetmezliği, kanser gibi ciddi sağlık komplikasyonlarının da temel nedeni olarak çoklu organ hasarına sebebiyet vermektedir (Kropp vd., 2023).

Diyabet hastaları, Tip I ve Tip II olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Tip I diyabet, bağışıklık sisteminin pankreasın beta hücrelerini yok ettiği otoimmün bir hastalıktır. Hastaların yaşamına devam edebilmeleri için düzenli olarak insülin ilacı kullanması gerekir. Tip II diyabet ise genellikle aşırı kilo ve insülin direncini içeren bir tür metabolik bozukluktur. Bu hastalarda insülin üretimi mevcut olmasına rağmen vücut bu hormonu kullanmada sorun yaşar. Sonunda pankreas vücudun ihtiyacına cevap verecek kadar insülin üretemez ve Tip II diyabet ortaya çıkar.

İnsülin, 5808 Da molekül ağırlığına sahip 51 amino asitten oluşan bir peptid hormonudur. İki disülfit bağıyla birbirine bağlanan 21 amino asitten oluşan A zinciri ve 30 amino asitten oluşan B zincirinden oluşur. İnsülin pankreasın beta hücrelerinde sentezlenir ve yüksek kan şekeri düzeylerine yanıt olarak salgılanır. Kan şekeri olarak adlandırılan glikozun kan dolaşımından hücrelere taşınmasını sağlayarak kan şekerinin dengelenmesinden sorumludur. Ayrıca hücrelere taşıdığı glikoz burada hücreler tarafından parçalanarak yakıt olarak kullanılmaktadır. Bu da insülinin sadece kan şekeri düzenleyicisi olmadığını aynı zamanda enerji metabolizmasının düzenlenmesinde de önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Preethi, 2013; Abood ve Alaaraji, 2023).

Tip II diyabet tedavisinde hedef yemek sonrası artan hiperglisemiye azaltmaktır. Bunun için de α -glikozidaz gibi karbohidratların hidrolizini katalizleyen enzimlerin inhibisyonu amaçlanır (Imai vd., 2023; Patil vd., 2023; Zhang, vd., 2023). α -glikozidaz enzimleri polisakkarid ve oligosakkaridlerin monosakkaridlere parçalanmasından sorumlu ince bağırsağın fırçamsı yüzeyinde bulunan enzimlerdir. Bu enzimler karbohidratları monosakkaridlere yıkarak bağırsak duvarından kolayca emilip kana geçmesini sağlar (Jia vd., 2020). Bilindiği üzere diyabet hastalarında kandaki glikoz artışı istenmeyen bir durumdur. Özellikle yemek sonrası kanda yükselen glikoz artışını önlemek önemlidir. Burada görev α -glikozidaz inhibitörlerine düşmektedir α -glikozidaz inhibitörleri,

karbohidrat sindirmek için gerekli olan α -glikozidaz enziminin rekabetçi inhibitörleri olarak görev yapar. Bu enzim sistemlerinin inhibisyonu, karbohidratların sindirim hızının azaltılmasına yardımcı olur. α -glikozidaz enzim inhibitörleri bu enzimleri yarışmalı olarak inhibe eder ve tip 2 diyabetin tedavisinde oral anti diyabetik ilaçlar olarak kullanılır (Mukhtar vd., 2020; Nair vd., 2013). Şu anda klinik uygulamada kullanılan α -glikozidaz inhibitörleri; akarboz, miglitol ve voglibozdur (Bkz. Şekil 1.2) .



Şekil 1. 2. DM hastalığında kullanılan temel ilaçlar

Bu sentetik enzim inhibitörlerinin olumsuz yan etkileri ve uzun süreli kullanımlarında azalan yanıtları nedeniyle yeni doğal kaynaklı inhibitörlerin arayışı artmaktadır (Nair vd., 2013). Yeni ilaçların belirlenmesinde sayısız faydası ile eskiden olduğu gibi günümüzde de ilk kaynak bitkiler olmuştur. Bitkilerin iyileştirici gücü hastalıkların mekanizmalarının tanımlanmasında ve dolayısıyla yeni ilaçların keşfinde insanlara her zaman yeni bir yol açmıştır. Halk hekimliğinde kullanılan bitkiler nesilden nesile aktararak günümüze kadar ulaşmış ve bilimsel olarak da değerlendirilmesine fırsat sağlanmıştır. Bitkilerin bu üstün başarısı kronik bir hastalık olan diyabette de kendini kanıtlamıştır. Bu nedenle diyabetli bireylerin bitkisel ürünlerin kullanımına ilgisi de giderek artmaktadır. Bu anlamda birçok bitkisel ürünün kan şekerini düşürerek diyabetli hastalarda yaşam kalitesini artırdığı bilinmektedir. Bu doğal kaynaklardan bazıları hepimizin aşına olduğu

ve özellikle antidiyabet etkisiyle diyetlerde sıklıkla kullanılan tarçın, ısırgan otu, ışkın, zencefil, pelin otu, çobançantası, kekik, hünnap ve kuşburnu gibi bitkilerdir (Karaman ve Cebe, 2016; Koyu, 2019).

İnsan vücudunda hemen hemen tüm hücreler, doku ve organa özgü bileşimlere ve mimariye sahiptirler (Aazmi vd., 2024). Normal hücreler belirli bir hızla ve düzen içerisinde kontrollü bir şekilde oalmaktadır. Bu düzende meydana gelen bozulmalar hücrelerin anormal şekilde farklılaşmasına sebep olur. Bu durum da kanser olarak adlandırılmaktadır.

Kanser, genlerimizde kodlanan hücre bölünme aşamalarını düzenleyen mekanizmaların bozulmasıyla ortaya çıkan bir hastalık grubudur. Bir hücreden başlayarak hücre sayısını katlanarak artıran bu kontrolsüz çoğalma sonucunda doku ve organlarda büyük kümelenmeler meydana gelir. Bu kitleler hücreler arası iletişimin bozulması sonucunda yerleştiği organların çalışma yeteneklerini kaybetmesine sebep olur (Brown vd., 2023; Szasz, 2024). Günümüzde en yaygın ve ölümcül hastalıklar arasında kanser, ilk sırada yer almaktadır. Kanserle mücadelede cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi gibi tedavi yaklaşımları sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu teknikler birçok kanser türünün gelişmesini ve yayılmasını durduramamaktadır (Al-Salman vd., 2023; Bukowski vd., 2020).

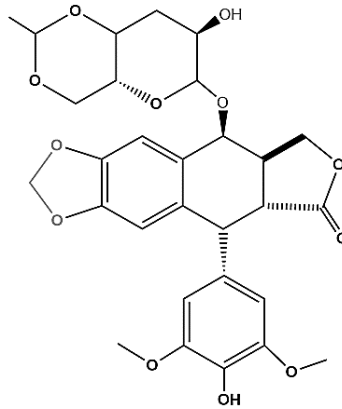
Yeni antikanser ilaçlarının geliştirilmesine yönelik stratejiler yıllar içinde olağanüstü kimyasal çeşitliliğe sahip olan doğal kaynaklara dayalı moleküllerin kullanımından ve ilacın yeniden konumlandırılmasından hedefe yönelik tedavilere kadar gelişmiştir. Bitki fitokimyasalları ve türevleri, kanser hastalarında terapötik etkinliğin artırılması ve istenmeyen etkilerin azaltılması için umut verici alternatiflerdir. Bu bitki bazlı, fizyolojik olarak aktif maddelerin ekstraktlarının incelenmesi, kansere karşı yeni potansiyel ilaçların belirlenmesinde ve minimum seviyede yan etkisi olan fitokimyasallara dayalı etkili antikanser tedavilerinin oluşturulmasına yönelik önemli bir adımdır.

Paklitaksel ve vinblastin gibi doğal alkaloidlerin halihazırda çeşitli kanser tedavilerinde büyük başarı göstermesinin ardından, birçok doğal ürün antikanser aktiviteleri için

araştırılmıştır. Özellikle alkaloid kaynaklarının potansiyel kemoterapötik ajanlar olarak umut verici olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle bitki kaynaklı doğal alkaloidlerin özellikle izokinolin alkaloidlerinin antikanser aktivitelerinin taranması potansiyel yeni ilaçlar için gerekli görülmüştür (Huang vd., 2021).

Son yirmi yıllık süreçte doğal ürün hedefli antikanser ilaçlardaki ilerlemeler, kanser hastalarının ölüm oranlarını önemli ölçüde azaltmıştır. Ancak kemoterapötik ajanların etkisini azaltarak bu tedavinin başarısını düşüren çoklu ilaç direnci (MDR) hâlâ önemli bir sorundur. MDR, kanser hücrelerinin fonksiyonel ve yapısal olarak çeşitli antikanser ilaçlara karşı dirençli hale gelmesiyle ortaya çıkmaktadır. Doğal ürünler ilaca dirençli kanser hücreleriyle savaş halindedir. Gerek tek başına veya gerekse diğer kemoterapötik ilaçlarla kombinasyon halinde MDR kanser hücrelerine karşı savaşçı çeşitli doğal kaynaklı alkaloidler rapor edilmiştir (Huang vd., 2021; Kuete vd., 2015; Qing vd., 2018; Xu vd., 2020).

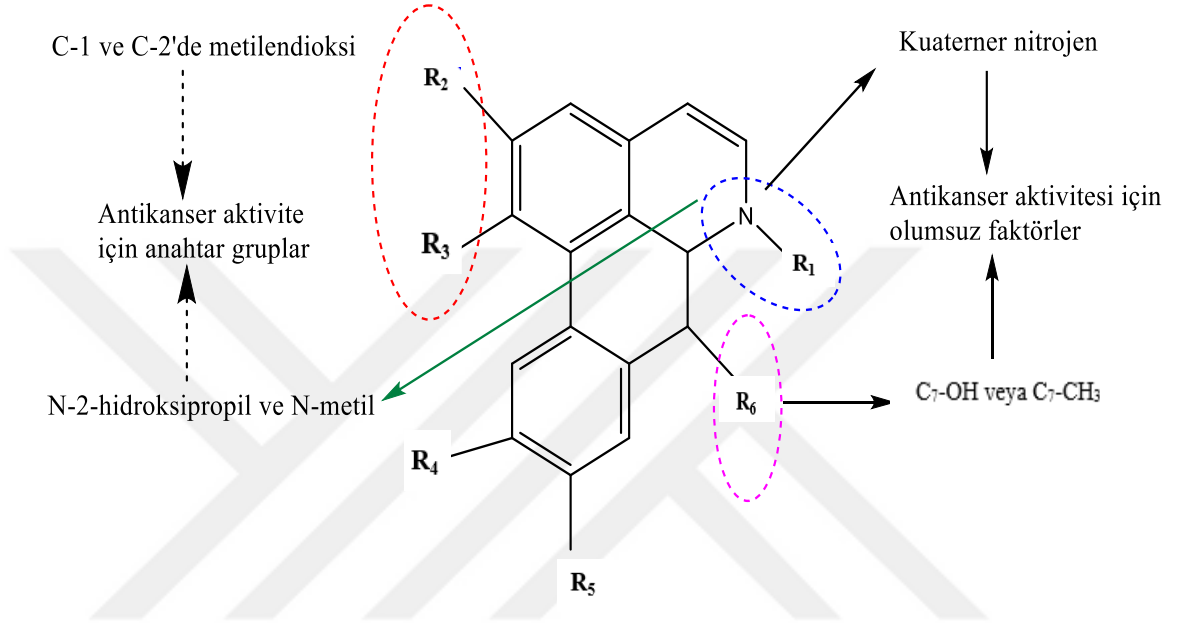
Yapılan çalışmalar sonucunda alkaloidlerin yapısı ile kanser hücre hatları üzerinde bir ilişki olduğu anlaşılmıştır. Antikanser ilacı olarak bilinen etoposid molekülünün (Bkz. Şekil 1.3) yapı-aktivite ilişkisi incelendiğinde, bileşiğin C-9 konumunda bulunan 1,2-metilendioksi grubunun, tip II topoizomazın (β) DNA-enzim kompleksini stabilize ederek inhibisyonuna neden olduğu belirlenmiştir.



Şekil 1. 3. Bilinen bir antikanser ilacı olan etoposidin yapısı

Bu sonuç, 1,2-metilendioksi varlığının, sitotoksisiteyi arttırmada anahtar bir faktör olduğunu göstermiştir. Son zamanlarda öne çıkan yapı-aktivite çalışmaları sayesinde,

antikanser aktivitelerinden sorumlu olan doğal moleküllerin tanımlanmasında ve hedef moleküllerin sentezlenmesinde umut vaat eden çalışmalara yeni bir kapı açılmıştır (Astrain-Redin vd., 2023; Qing vd., 2018). Alkaloidlerin antikanser aktivitesi bağlı olan grupların konum ve türüne göre değişmektedir (Bkz. Şekil 1.4).

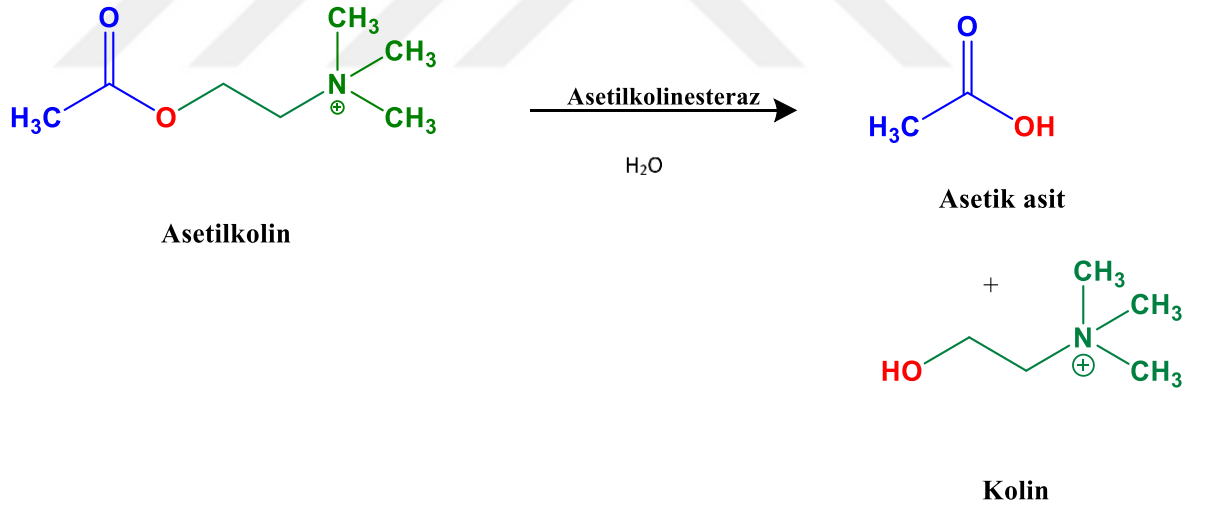


Şekil 1. 4. Aporfın grubu alkaloidler için yapı-antikanser aktivite ilişkisi (Iranshahy vd., 2014)

Alzheimer hastalığı (AH), yüksek ölüm oranı ve genetik değişkenlerle doğrudan ilişkili olan dünya genelinde demans vakalarının yaklaşık %80'inden sorumlu yaşa bağlı ilerleyici bir nörolojik hastalıktır (Andrade-Guerrero vd., 2023; Broadstock vd., 2014). 2019 yılında dünya çapında 50 milyondan fazla kişinin demans hastası olduğu ve 2050 yılında bu sayının ciddi bir artışla 152 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (Wang vd., 2022). AH, hafıza zayıflığı, öğrenme güçlüğü, düşünme kaybı, dil bozuklukları, davranışsal anormallikler gibi bilişsel işlevlerde ilerleyici bir azalma ile karakterize edilen çok genli ve çok yönlü bir hastalık olarak ortaya çıkmaktadır (Huang vd., 2020; Girotra vd., 2022). Çok faktörlü bir hastalık olarak kabul edilen AH'nın kesin patogenezi hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle, AH'nın seyrinde farklı nedenlerin rol oynadığı kabul edilmiş olup, birden fazla olası hedefe sahip çeşitli farmakolojik stratejiler araştırılmıştır (Sauvatre vd., 2007). Bu zamana kadar birkaç ana hipotez kabul edilmiştir.

Bunlar kolinerjik hipotez, amiloid β hipotezi, tau proteini hipotezi ve nöroinflamasyon hipotezidir.

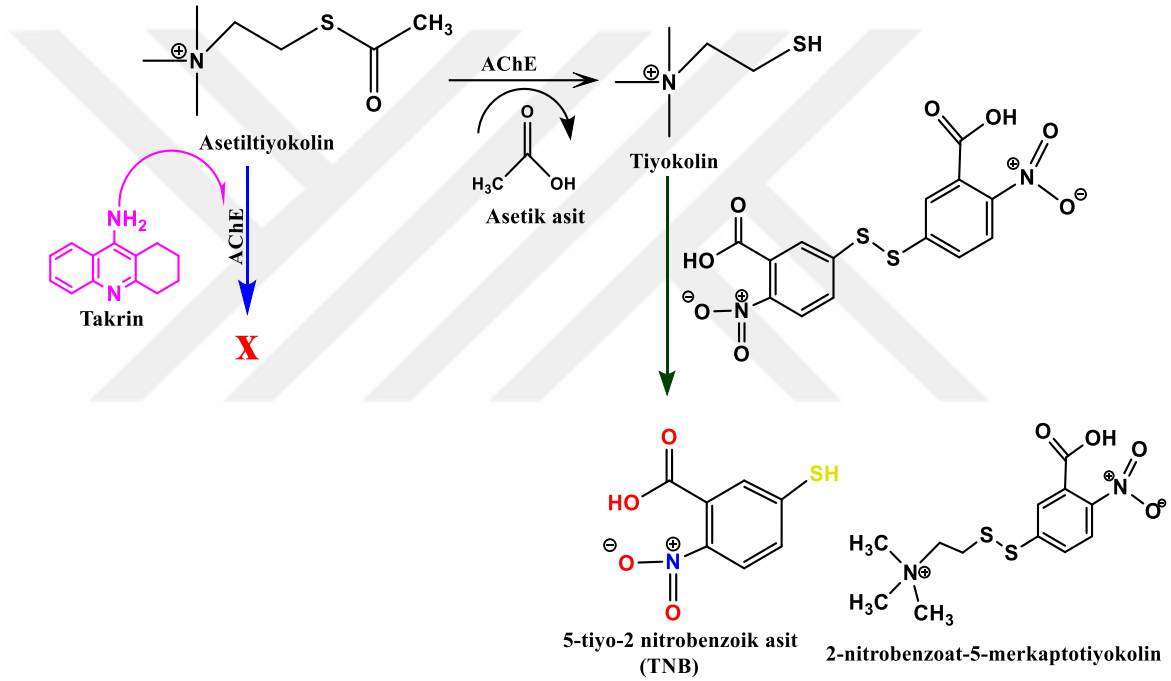
AH'nın patofizyolojisini açıklayan teorilerden biri olan kolinerjik hipotez, AH patogeneziyle ilgili en eski teoridir. Kolinerjik nöronlar tarafından salgılanan asetilkolin (ACh), öğrenme, hafıza ve diğer yüksek davranışlarda rol oynayan önemli bir uyarıcı nörotransmitterdir (Giacobini, 2003; Yadav vd., 2024). ACh seviyesi, ACh'nin sentezini ve salınmasını düzenleyerek merkezi kolinerjik sinir sisteminden etkilenebilir (Bekdash, 2021). Son yıllardaki klinik verilere göre AH'nin beyinlerinde ciddi nörodejenerasyon, kolinerjik nöronlarda ve asetilkolin transferaz aktivitesinde önemli ölçüde azalma gözlenmiş ve ciddi bir ACh eksikliği tanımlanmıştır. Bu durum AH'li hastaların kolinerjik sisteminde son derece önemli bir hasar olduğunu desteklemektedir. Bundan dolayı AH'nin tedavisi için kolinerjik sistemin onarılması birincil klinik tedavi olarak önemlidir (Chen vd., 2022).



Şekil 1. 5. Asetilkolinin AChE tarafından enzimatik hidrolizi

Asetilkolinesteraz (AChE), nörotransmitter bir molekül olan asetilkolinin asetat ve koline hidrolizini katalizleyen bir enzimdir (Bkz. Şekil 1.5). Sağlıklı insanlarda tüm vücutta en fazla beyinde bulunur. AChE enzimi, amiloid proteininin (A β) üretimini destekleyerek bilişsel işlev bozukluğunu hızlandırmaktadır. Bu noktada asetilkolin (AChE) ve

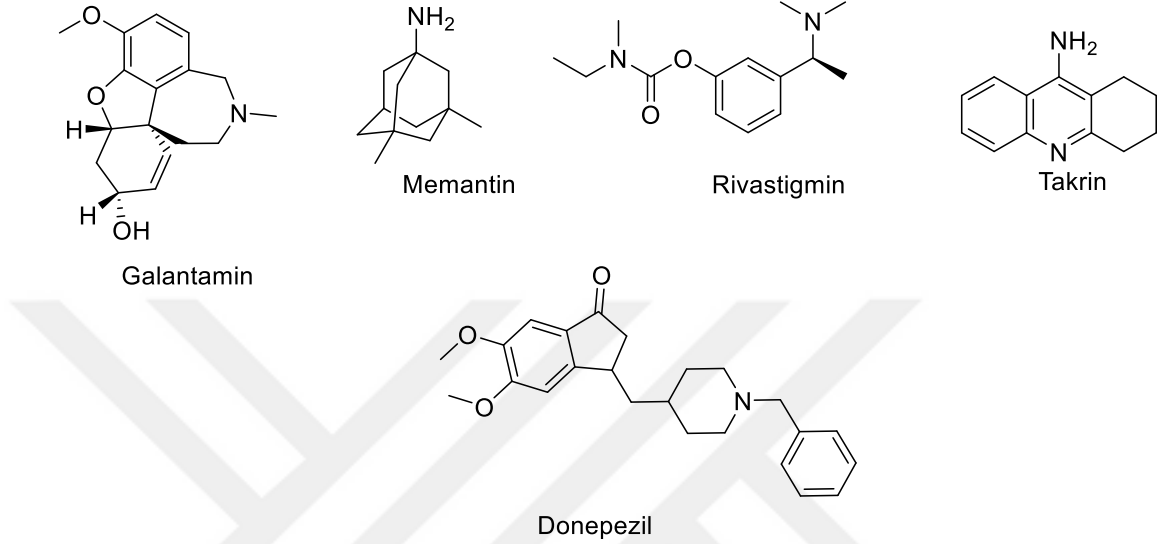
butirilkolin (BChE) enzimleri kilit rol oynamaktadır. AChE enzimi sinaptik yarığa salınan asetilkolini hızlı bir şekilde hidrolize eder ve bu katabolik sürecin blokajı, nörotransmitter seviyelerinde artışa neden olur (Greig vd., 2002; Loizzo vd., 2008). Kısacası, AChE enziminin kolinesteraz inhibitörleri (AChEI' ler) tarafından inhibe edilmesi sonucunda, AH'nın beyinlerindeki sinapslarda ACh'nin miktarının ve dolayısıyla etkisinin artırdığı belirlenmiştir (Akıncıoğlu ve Gülçin, 2020). Bu da AH' de görülen kolinerjik eksikliğin bir nebze de olsa onarılabilmesi için oldukça değerlidir (Bkz. Şekil 1.6).



Şekil 1. 6. Ellman yöntemiyle AChE için aktivite ve inhibisyon reaksiyonları

AH için şu anda onaylanmış tedavi yaklaşımı, hastalarda antikolinesterazların kullanımıyla asetilkolinin fizyolojik etkisini güçlendirmek ve ACh seviyelerini artırmaktır (Erdogan vd., 2011; Giri vd., 2024; Martinez ve Castro, 2006; Shukla vd., 2024). AChEI 'leri AH' li hastaların tedavisi için şu anda klinik olarak onaylanmış tek ilaçtır (Simchovitz vd., 2017). AChEI' ler, AH hastalarında ACh' nin bozulmasını engelleyerek bilişsel işlev bozukluğunu giderebilir. Kolinerjik sistemin güçlendirilmesi için FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanmış AH ilaçları (Bkz. Şekil

1.7) takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamindir (Islam vd., 2024). Bu ilaçların yanında demans semptomlarını geçici olarak hafifletebilen bir diğer ilaç, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörünü bloke eden memantindir (Pau vd., 2024). Ancak piyasadaki tüm bu ilaçlar, sadece hastalığın ilerlemesini durdurabilir, tersine çeviremez.



Şekil 1. 7. AH tedavisinde kullanılan bazı asetilkolinesteraz inhibitörleri

Takrin, 1993 yılında AH'nın tedavisi için FDA tarafından onaylanan ve piyasaya sunulan ilk ilaçtır. Hafif ve orta şiddette AH' lı hastaların %40'ında tedaviden sonra bilişsel iyileşme sağlanmıştır. Ancak doza bağlı ciddi hepatotoksisite raporları ve gastrointestinal yan etkileri nedeniyle kullanımı yasaklanmıştır (Gharat vd., 2023; Novak vd., 2023).

AH tedavisinde 1996 yılında FDA tarafından onaylanan başka bir ilaç da donepezilindir. Donepezilin, Takrine göre daha uzun yarı ömürlü oluşu, AChE için yüksek seçicilik ve düşük toksisiteye sahip olması, gastrointestinal sistemle ilgili olmak üzere çok daha az yan etkiye sahip olup hepatotoksisite oluşturmaması gibi avantajlara sahiptir (Geldmacher, 2004; Rissardo ve Caprara, 2023; Gharat vd., 2023; Sugimoto vd., 2002).

Rivastigmin AH tedavisi için 2000 yılında kullanımı onaylanmış ve ilk kez İsviçre'de satışa sunulmuştur. Rivastigmin, her iki kolinesterazı da inhibe eder ve karaciğer hasarına neden olmaz, yalnızca bulantı ve kusma gibi kolinerjik yan etkilere neden olduğu bilinmektedir (Gharat vd., 2023; Liu vd., 2019; Nordberg vd., 2009).

Galantamin ise diğer antikolinesterazlardan farklı olarak doğal kaynaklardan elde edilmiştir. Amaryllidaceae familyasına ait *Galanthus nivalis* L. 'den izole edilen bu alkaloid ilk olarak 2001 yılında pazarlanmıştır. Uzun yarı ömrü, nispeten seçici bir AChE inhibitörü ve daha düşük BChE inhibitör aktivitesi sergilemiştir. Ayrıca, galantaminin kolinerjik iletimi geliştirdiği ve diğer demans türlerinin semptomlarını tedavi etmek için de kullanıldığı bilinmektedir (Gharat vd., 2023; Liu vd., 2019; Nordberg vd., 2009).

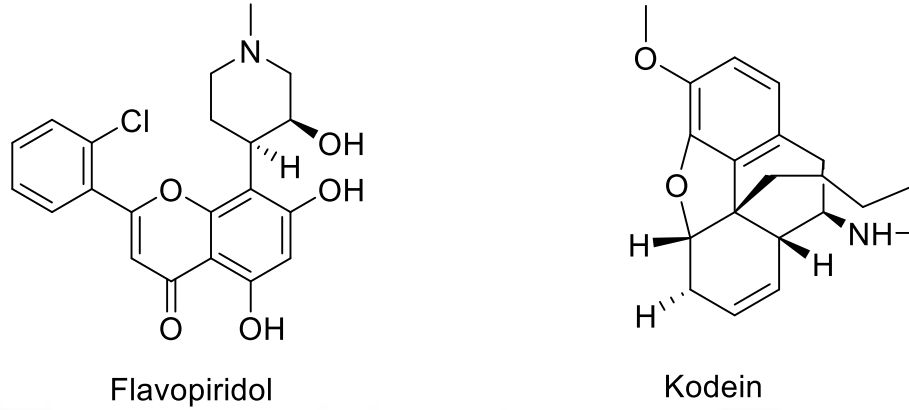
Doğal kaynaklardan elde edilen ilaçlar artık dünyanın her yerindeki tüketiciler tarafından giderek daha fazla kabul görmektedir. Alkaloidler karmaşık azot içeren yapıları nedeniyle AH tedavisinde kullanım için umut verici adaylar olarak kabul edilmektedir (Ayaz vd., 2019; Konrath vd., 2013; Ng vd., 2015). Doğal kaynaklı alkaloidler, kolinerjik sistemdeki azalmayı yenilemek ve AH'nı tedavi etmek için kullanılabilir özel metabolitlerdir (Messiha vd., 2020). Bu anlamda bitkisel ilaçlar ve onlardan elde edilen doğal metabolitler AH'nın tedavisi için tamamlayıcı ve alternatif müdahaleler olarak kabul edilmenin yanında yeni ilaçların keşfi için değerli kaynaklardır (Gregory vd., 2021).

Tüm ilaçlara ve geliştirilen tedavi yöntemlerine rağmen şu anda AH' nin tedavisi için onaylanmış tek ilaç AChE'leridir. Mevcut ilaçlar genellikle hastalığın yalnızca bir nedenini hedef alırken hastalığı önleyememekle birlikte yalnızca semptomları hafifletebilmektedir. Bu nedenle AH ile ilgili özellikle doğal kaynaklı klinik ilaçların araştırılması ve geliştirilmesine acil ihtiyaç duyulmaktadır.

Bitkiler tüm bu hastalıklarla mücadele edebilecek sayısız sekonder metabolite sahiptir. Bu anlamda geçmişten günümüze birçok bitki kaynaklı molekül izole edilmiş ve biyoaktivite testlerinde başarı sağlanmıştır. Birçoğunun klinik araştırmaları tamamlanmış ve tedavide ilaç olarak kullanılmaktadır. Bazılarının ise klinik araştırmaları sürmekte veya klinik öncesi yahut daha ileri araştırmalara tabi tutulmaktadır.

Flavopiridol (CDK' nın inhibitörüdür ve benzersiz antikanser özellikleri gösteren bir flavonoid türüdür) ve kodein (antitussif, antidiyaretik ve analjezik özellikleri ile bilinen

afyondan elde edilen bir opioiddir) gibi ilaçlar çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan ve bitkilerden elde edilen önemli ikincil metabolitlerdir (Bkz. Şekil 1.8).



Şekil 1. 8. Bitkilerden izole edilen bazı özel sekonder metabolitler

Bitkilerdeki bu muazzam sekonder metabolitler primer metabolitler gibi yaşam fonksiyonlarından ziyade bitkinin büyüme, gelişme ve adaptasyonundan sorumludur (Alvarez, 2014). Patojenlerle mücadele edebilecek bir bağışıklık sistemine sahip olmayan bitkilerin ve diğer organizmaların bu karakteristik özellikleri sekonder metabolitler gibi çok çeşitli düşük molekül ağırlıklı bileşikler sentezleme kapasitelerinden gelmektedir (El Sohaimy, 2012). Sekonder metabolitler, hücrelerdeki ve dokulardaki moleküler hedeflerle veya hayvanlardaki ve mikroorganizmalardaki diğer fizyolojik özelliklerle yakından etkileşime girebilir ve büyümelerini durdurabilir (Rai vd., 2012). Çoğu zaman sekonder metabolitlerin yapıları endojen substratlara, hormonlara veya nörotransmitterlere benzer ve dolayısıyla karşılık gelen moleküler hedeflerdeki bir yanıtı taklit edebilirler. Hayvanlarda veya mikroorganizmalarda doğal bir ürünün bulunmadığı bir hedef neredeyse yoktur. Böylece bitkiler çok çeşitli biyoaktif maddeler sağlar. Bu kadar çok doğal ürünün biyoteknoloji, eczacılık, tarım ve tıpta pek çok şekilde kullanılabilmesinin nedeni de budur. Bu sebeptendir ki bitki krallığı tedavi potansiyeli olan yeni moleküllerin hazinesi olmaya devam etmektedir (Hawkins, 2007; Upadhyay vd., 2019).

Bilinen aktivitelerine ve hastalıklarla mücadeledeki kullanımlarına ek olarak, sekonder metabolitler, hastalıklara olası çözüm olabilecek şaşırtıcı ek aktiviteleri de ortaya

çıkarmaktadır. Birçok antibiyotiğin, bakteriyel pigmentlerin, bitki terpenoidlerinin aynı zamanda anti-HIV, antitümör, anti-aging, immün baskılayıcı, antiprotozoal ve antihelmint aktivitelerine sahip olduğu ve dolayısıyla tıp alanında çok çeşitli uygulamalar sergilediği belirlenmiştir.

Bilinen sekonder metabolitlerin yeni uygulamalarının ortaya çıkarılması ve yeni sekonder metabolitlerin taranması için mikroplar, bitkiler ve yüksek hayvanlar gibi sayısız kaynaktan yararlanılması, tedavi edilemeyen hastalıkların tedavisine imkan sağlanmasında ve ölüm oranlarının azaltılmasında umut vaat etmektedir (Vaishnav ve Demain, 2010).

Fenolik bileşikler, bitkilerde bol miktarda bulunan doğal sekonder metabolitlerdir ve özellikle gıda ürünlerinin antioksidan özelliklerinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu bileşikler, bitkilerin biyolojik savunma sistemlerinde, zararlılara karşı koruma sağlamada ve bitkinin çevresel stres faktörlerine yanıt olarak çeşitli biyolojik işlevleri yerine getirmesinde kritik öneme sahiptir.

Fenolik bileşiklerin en belirgin özelliklerinden biri, güçlü antioksidan aktiviteye sahip olmalarıdır. Antioksidanlar, serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri (ROS) gibi oksidatif stresle ilişkili reaktif molekülleri nötralize etme kapasitesine sahiptir. Serbest radikallerin aşırı birikimi, hücrelerde ve dokularda oksidatif hasara yol açabilir, bu da yaşlanma sürecini hızlandırabilir ve kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, nörolojik hastalıklar gibi pek çok kronik hastalığın gelişimine zemin hazırlayabilir. Fenolik bileşikler, bu radikalleri etkili bir şekilde saptayıp nötralize ederek oksidatif stresin olumsuz etkilerini azaltır ve hücrel hasarı engeller (Robinson, 2001; Shahrajabian ve Sun, 2023).

Fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri, gıda ürünlerinde de sağlık üzerinde önemli etkiler yaratır. Bitkisel kaynaklı gıdalarda, özellikle meyve, sebze, bitki çayları, zeytinyağı ve baharatlar gibi besinlerde yüksek miktarda bulunan fenoller, gıdalara besinsel değer katar ve gıdaların antioksidan kapasitesini artırır. Bununla birlikte, fenolik bileşiklerin gıdalarda bulunan diğer bileşiklerle (örneğin, vitaminler ve minerallerle)

sinerjik bir etkileşimde bulunarak, antioksidan aktivitenin daha da güçlenmesine katkı sağladığı bilinmektedir.

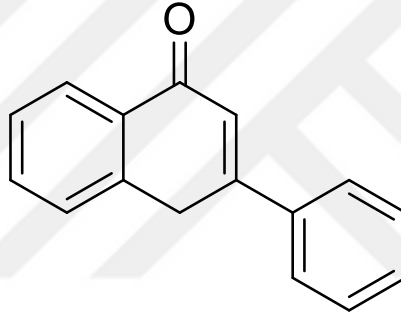
Fenolik bileşiklerin sağlığa olan katkıları sadece antioksidan etkiyle sınırlı değildir. Aynı zamanda ateroskleroz, felç, serebral tromboz, diyabet, alzheimer, parkinson, anti-inflamatuar, antimikrobiyal, kardiyovasküler koruyucu ve kanser karşıtı özellikleri de yapılan çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. Fenolik bileşiklerin düzenli tüketimi, vücudun bağışıklık sistemini güçlendirir, kronik inflamasyonu azaltır ve hücrel düzeyde genetik hasarların önüne geçebilir (Daniel, 2006).

Fenolik bileşik terimi, genel olarak en az bir hidroksil grubu bulunduran aromatik halkaya sahip, çok sayıda bitki bileşenlerini kapsamaktadır. Fenoller ve polifenoller bitkilerde çok geniş bir fizyolojik role sahiptir. Yüksek bitkiler bilinen binlerce farklı fenolik bileşiği sentezleme yeteneğine sahiptir. Sentezledikleri bu sekonder metabolitler değişen çevresel zorluklarla başa çıkmakta onlara çok büyük avantaj sağlar.

Doğada bol miktarda bulunan ve farklı fizyolojik özelliklere sahip olan polifenolik kimyasallar, bitki türlerinin tat ve aroması üzerinde önemli bir etki bırakmıştır. İnsan sağlığı ve beslenmesi, antibakteriyel, antiinflamatuar ve antiviral aktiviteleri ve birçok hastalık riskini azaltmaya yardımcı olan yüksek antioksidan kapasiteleri nedeniyle polifenolik bileşikler insanlar için vazgeçilmez kaynaklardır (Rahman vd., 2021).

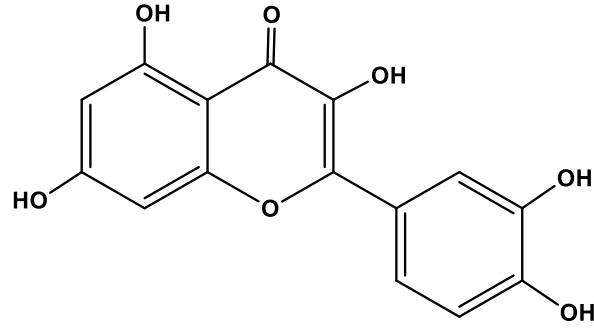
Bitkisel gıdalar, çok geniş bir kimyasal kategoriye sahip olan fenolik asitleri de içerir. Fenolik asitler, bitkilerde ikincil metabolitler olarak oluşan fenolik bileşiklerin ana sınıflarından biridir; bunların arasında hidroksibenzoik ve hidroksisinamik asitler en iyi bilinenleridir. Fenolik asitler, antioksidan, antiinflamatuar, antimikrobiyal, antidiyabetik veya antikarsinogenik gibi bilinen önemli biyolojik aktiviteleri ile insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler sergilemiştir. Yapılan son araştırmalar, yaşa bağlı birçok hastalıkta, dolaşım sistemi ve diğer organlardaki kanserler üzerinde, fenolik asitlerin koruyucu ve tedavi edici etkisinin olduğunu göstermiştir (Santos-Buelga vd., 2023).

İkincil metabolitlerin önemli bir grubu olan flavonoidler (Bkz. Şekil 1.9), meyvelerde, sebzelerde, köklerde, tahıllarda, kabuklu yemişlerde, çiçeklerde ve tohumlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Flavonoidlerce zengin besinlerin tüketilmesi antioksidan ve serbest radikal temizleyici özellikleri nedeniyle birçok kronik hastalık riskinin azalttığını doğrulamıştır (Chen vd., 2023; Demirtaş, 2023; Panche vd., 2016). Flavonoidler antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral, antimikrobiyal, antikanser, antikarsinojenik, kardiyoprotektif ve nöroprotektif etkiler gibi çeşitli hastalıklar üzerinde olumlu biyokimyasal etkiler göstermiştir. Flavonoidler geniş bir yelpazede sağlığı teşvik edici etkilerle ilişkilidir ve çeşitli nutrasötik, farmasötik, tıbbi ve kozmetik uygulamaların vazgeçilmez parçasıdır. (Bestfoods ve America, 2003; Chen vd., 2023; Liga, vd., 2023; Pannala vd., 2001).



Şekil 1. 9. Temel bir flavonoid iskeleti

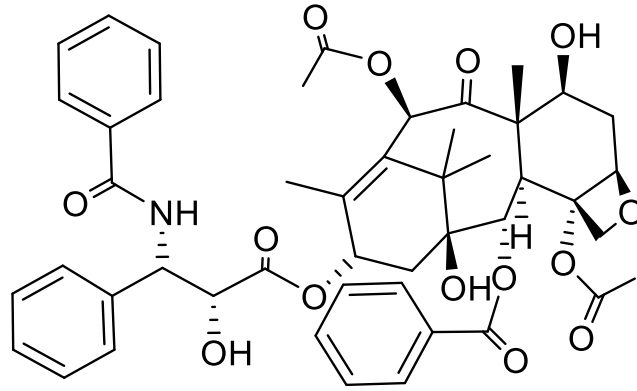
Tıbbi ve biyolojik öneme sahip fitobileşenlerden biri de flavonollerdir. Güçlü antioksidan özelliklerinin yanı sıra, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, bakteriyel ve viral hastalıkların önlenmesinde de rol oynamaktadırlar. Kuersetin, myrisetin, kaempferol ve fisetin başlıca önemli keton flavonoidlerdir. Kuersetin güçlü bir serbest radikal temizleme kapasitesi ile serbest radikal hasarına ve oksidasyona bağlı hastalıklara karşı koruma sağlar (Bkz. Şekil 1.10). Flavonoller lahana, marul, elma, çilek, üzüm, çay, kırmızı şarap ve diğer meyve ve sebzeler gibi çeşitli gıda kaynaklarında bol miktarda bulunmaktadır (Heiss vd., 2010; Iwashina, 2013; Mahmud vd., 2023).



Şekil 1. 10. Önemli bir flavonol olan kuersetin molekülünün yapısı

Terpenoidler (terpen türevleri), kimyasal ve yapısal çeşitliliğin yanı sıra önemli biyolojik aktiviteler gösteren doğal ürünlerin en büyük sınıfını oluşturur. İzopren (C5) birimlerinin sıralı kombinasyonlarından meydana gelir. İzopren birimlerinin sayısına bağlı olarak monoterpen (C10), seskiterpen (C15), diterpen (C20), triterpen (C30), tetraterpen (C40) ve politerpen (C > 40) olarak sınıflandırılmıştır (Chen, 2024; Hillierve Lathe, 2019; Liao vd., 2016). Bugüne kadar doğada 50.000'den fazla terpenoid bulunmuştur (Sun vd., 2017) ve bunların çoğu bitkilerden izole edilmiştir. Bitkiler, tozlaşma için belirli böcekleri çekmek veya bu bitkileri yiyecek olarak kullanan belirli hayvanları uzaklaştırmak için uçucu terpenleri üretir. Daha az uçucu fakat tadı oldukça acı veya toksik olan terpenler aynı zamanda bazı bitkileri hayvanlar tarafından yenilmekten de korur. Ayrıca terpenler, sinyal bileşikleri ve bitkilerde büyüme düzenleyiciler (fitohormonlar) olarak önemli bir rol oynar (Arimura vd., 2000; Elshafie, vd., 2023).

Kozalaklı ağaçlar, melisa ağaçları, narenciye, kişniş, zambak, karanfil, biberiye, adaçayı, kekik, menekşe gibi birçok bitki hoş kokusu ve değerli farmakolojik aktiviteler ile bilinen önemli terpenoidlerdir (Breitmaier, 2006). Terpenoid iskeletne sahip doğal bir ürün olan taksol, birçok kanser türü üzerinde etkisini ispatlamış önemli ilaçtır (Bkz.Şekil 1.11).



Şekil 1. 11. Bir antikanser ilaç olan taksolün kimyasal yapısı

Son yıllarda şifalı bitkilerde bulunan terpenoidler üzerine yapılan araştırmaların derinleşmesiyle bu tür bileşiklerin özellikle tıp alanında önemli bir rol oynadığı ve antitümör, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antimalaryal, immünomodülatör, antioksidan, yaşlanma karşıtı, nöroprotektif ve kardiyovasküler hastalıkları önleme ve tedavi etmenin yanında kan şekerini düşürme gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri de bilinmektedir. Ayrıca meme kanseri, akciğer kanseri ve yumurtalık kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerine karşı ilaç olarak kullanılan Taksolun, *Taxus* türlerinin kabuğundan elde edilen değerli bir diterpen olduğu da bilinmektedir. Bu nedenle terpenoidlerin biyolojik aktivitelerinin araştırılması, ilaç seçimine ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayacak ve bilim adamları tarafından büyük ilgi gören yeni ilaçların geliştirilmesine temel sağlayacaktır (Yang vd., 2020).

Saponinler ise Latince sabun anlamına gelen 'sapo' kelimesinden türetilen ve suda çalkalandığında sabunsu bir köpük oluşturma yeteneği ile tanınmaktadır (Kregiel vd., 2017). Saponinler, bitkiler aleminde geniş çapta dağılmış, bir veya daha fazla hidrofilik şeker kısmına bağlı bir lipofilik triterpen veya steroid aglikon içeren yapıları ile karakterize edilen çeşitli bir bileşik grubudur (Mohan vd., 2016; Netal vd., 2015).

Yapısal olarak saponinler geniş fonksiyonel çeşitliliğe sahip farklı bir bileşik sınıfıdır (Moses vd., 2014). Saponin yapısında genellikle 30 karbonlu bir iskelet molekülü olan aglikon ve bir veya daha fazla şeker birimine sahip glikon fonksiyonel grubundan oluşur (El Aziz vd., 2019). Aglikon bileşenleri triterpenoid veya steroidden oluşabilir. Genel

olarak glikon veya şeker kısmı, C3 pozisyonundaki iskelet molekülüne kovalent olarak bağlanan bir monosakarit veya bir oligosakaritten oluşur. Bazı durumlarda C26 veya C28 pozisyonlarına ilave şekerler eklenir (Augustin vd., 2011; Roopashree ve Naik, 2019). Bu şekilde molekülde hem lipofilik (aglikon) hem de hidrofilik (şeker) bileşenlerin bulunması onlara sabun benzeri özellikler kazandırır (Roopashree ve Naik, 2019).

Saponinler antikanser, hemolitik, hipokolesterolemi, antikanser, balgam söktürücü ve öksürük önleyici özellikleri gibi zengin biyolojik aktiviteleri sayesinde gıda ve ilaç endüstrilerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Güçlü-Üstündağ, vd., 2007; Mohan vd., 2016; Shi vd., 2004; Timilsena vd., 2023). Ayrıca şampuanların, sabunların, yüz temizleyicilerin, vücut yıkama ürünlerinin ve tıraş kremlerinin bileşenleridir ve bu ürünlerin köpürme, temizleme ve nemlendirme özelliklerine katkıda bulunmaktadırlar (Meshram vd., 2021).

Bitkiler biyolojik aktiviteyi ortaya çıkaran birçok ikincil metabolit üretir. Bunlar arasında alkaloidler geniş bir aktivite yelpazesine sahiptir. Doğada sadece otçullara karşı değil aynı zamanda bakteri veya mantar istilasından korunmak içinde üretilmektedir. Bu nedenle alkaloidler tıpta, bitki korumada, veterinerlikte veya toksikolojide yüksek potansiyele sahip maddelerdir. Dolayısıyla bu maddeler ve özellikleri üzerine yapılan araştırmalar birçok alanda yoğun bir şekilde ilgi görmektedir.

Genel olarak alkaloidler, amino asitlerden sentezlenen ve biyolojik olarak aktif, düşük molekül ağırlıklı, doğal nitrojen içeren bazik bileşikler grubudur (Cushnie vd., 2014; Gutiérrez-Grijalva vd., 2020; Ziegler ve Facchini, 2008). Üç tip alkaloid vardır: gerçek alkaloidler, protoalkaloidler ve psödoalkaloidler. Gerçek alkaloidler azotlu bir heterosiklik halkaya sahipken, protoalkaloidlerde amino asitlerden türetilen N atomu heterosiklik halkanın bir parçası değildir. Psödoalkaloidler ise, amino asitlerden türetilmeyip, terpen, pürin ve steroid iskeletine sahip moleküllerden oluşan alkaloidlerdir (Alves de Almeida vd., 2017; Dey vd., 2020).

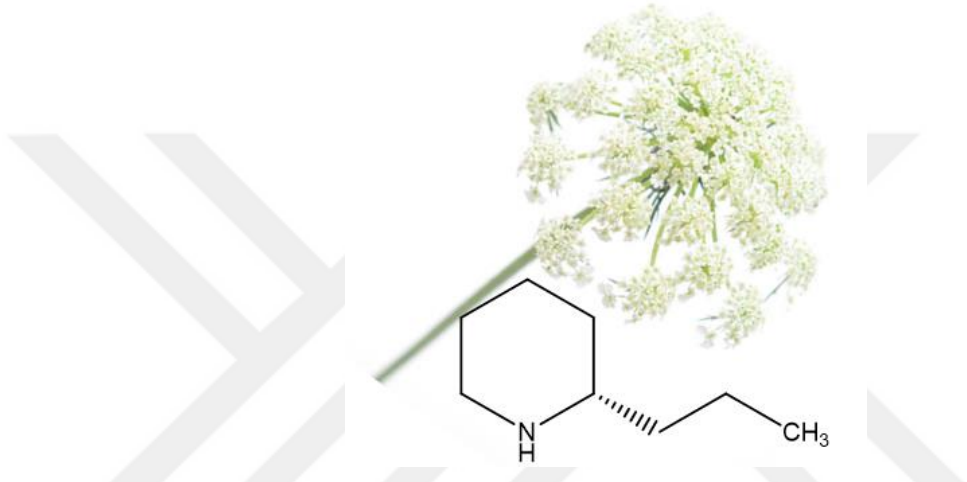
Doğal ürünlerin en büyük gruplarından biri olan bitki alkaloidlerinin 20.000'den fazlası tanımlanmış ve bunların bir kısmı klinik uygulamada önemli bir rol oynamıştır (Staniek

vd., 2013). Alkaloidler insan vücudunda merkezi sinir sistemi üzerinde doğrudan etkili olmanın yanı sıra nükleik asit, DNA (Deoksiribo Nükleik Asit), RNA (Ribonükleik Asit), membran geçirgenliği ve proteinleri de etkiler. Merkezi sinir sistemi üzerinde uyarıcı etkisi nedeniyle psikoaktif ilaçlar olarak da kullanım alanına sahiptir (Wink, 2016). Alkaloidler, antikolinerjik, antitümör, diüretik, antiülser, antiviral, antihipertansif, analjezik, antidepresan, kas gevşetici, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antiülser gibi çok sayıda biyolojik aktivite sunarlar. Aynı zamanda proteinler, enzimler ve reseptörlerle hidrojen bağları oluşturabilen, proton kabul eden nitrojen atomuna ve bir veya daha fazla proton veren amin hidrojen atomuna sahip özel yapılardır. Bu yapılara ek olarak fenolik hidroksil gibi fonksiyonel gruplara sahip türleri de vardır. Bu durum alkaloidlerin olağanüstü biyoaktivitesini açıklayabilir (Cushnie vd., 2014; Rajput vd., 2022). En iyi bilinen bitki alkaloidleri arasında narkotik analjezikler, morfin ve kodein, parkinson hastalığında kullanılan apomorfine (morfinin bir türeği), kas gevşetici papaverin ve antimikrobiyal ajanlar sanguinarin ve berberin yer alır.

Başlangıçta nitrojen içeren, doğal kökenli ve sınırlı dağılıma sahip temel maddeler olarak tanımlanan alkaloidlerin aslında karmaşık bir yapıya sahip olduğu kısa sürede anlaşılmıştır. Nitrojen atomları heterosiklik bir sistemin parçasıdır ve önemli bir farmakolojik aktivite sergiler. Tuz halinde bulunurlar ve biyosentetik olarak bir amino asitten oluştuklarını da ekleyebiliriz. Genel bir kural olarak, belirli bir bitkideki alkaloidlerin tümü, yapıları ilk başta oldukça farklı görünse bile, ortak bir biyogenetik kökene sahiptir. Belirli bir bitkide alkaloidlerin konsantrasyonu bölgeden bölgeye büyük ölçüde değişebilir ve bazı kısımlarda hiç alkaloid bulunmayabilir (Badri vd., 2019; Bruneton, 1995).

Muhtemelen tüm alkaloidleri ayıran tek özellik azot sahip olmalarıdır. Genel olarak bu azot amino asitten gelir, heterosiklik bir halkaya dahil edilir ve bazıdır. Pelletier (1983) bir alkaloidi, canlı organizmalar arasında sınırlı dağılımı olan, negatif oksidasyon durumunda nitrojen içeren siklik bir bileşik olarak tanımladı. Alkaloidler hayvanlarda neredeyse her zaman fizyolojik aktiviteye sahiptir, ancak bazılarının etkileri sınırlıdır (Seigler, 1998).

Çoğu alkaloid, asitlerle birleşerek tuz oluşturma yeteneğine sahip kristal maddelerdir. Bitkide serbest halde, tuz veya N-oksidler halinde bulunabilirler. Karbon, hidrojen ve azot elementlerine ek olarak alkaloidlerin çoğu oksijen içerir. Baldıran otundaki konin ve tütündeki nikotin gibi birkaçı oksijensiz ve sıvıdır (Bkz. Şekil 1.12). Renkli alkaloidler nispeten nadir olmasına rağmen berberin sarı ve sanguinarin tuzları ise bakır kırmızısıdır (Bribi, 2018; Zhu vd., 2015).

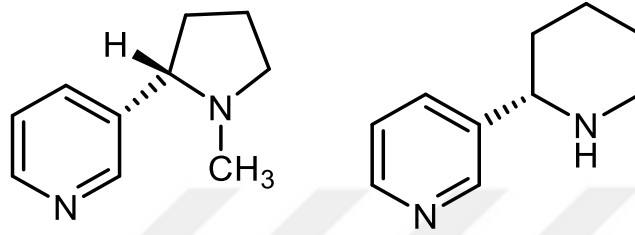


Şekil 1. 12. Benekli baldıran (*Conium maculatum*)’dan izole edilen koniinin alkaloidi

Alkaloidlerin temel karakteri, mineral asitlerle (hidroklorürler, sülfatlar, nitratlar) veya organik asitlerle (tartratlar, sülfamatlar ve maleatlar) tuz oluşumuna izin verir. Alkaloid tuzları genellikle suda ve seyreltik alkollerde çözünürler ve nadir durumlar dışında organik çözücülerde çözünmezler. Kristalize tuzlar oldukça iyi bir şekilde muhafaza edilebilir ki bu da bileşiklerin yaygın ticari formudur. Alkaloidlerin ve tuzlarının çözünürlüğü farmasötik açıdan oldukça önemlidir. Alkaloid yapısındaki maddeler genellikle çözelti halinde tatbik edilmekle kalmaz, aynı zamanda alkaloidler ve tuzları arasındaki çözünürlük farklılıkları da alkaloidlerin bitkiden izolasyonu ve bunların alkaloid olmayan maddelerden ayrılması için yöntemler sağlar (Bribi, 2018; Bruneton, 1995; Pereira vd., 2023; Zhu vd., 2015).

Alkaloidler çok düşük miktarlarda bile yüksek aktivite sergileyen güçlü farmasötik maddelerdir. Otçullara karşı aktivitesi, omurgalılarıdaki toksisitesi, sitotoksisitesi,

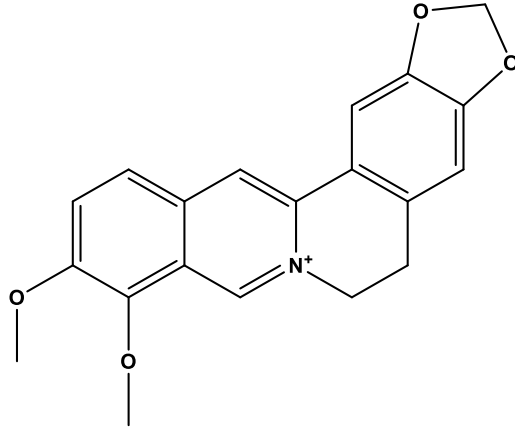
moleküler hedefleri, mutajenik veya kanserojen aktivitesi, antibakteriyel, antifungal ve antiviral özellikleri gibi geniş bir farmakolojik spektruma sahiptir. Birçok alkaloid hayvanlar için yenildiğinde ölüme neden olacak kadar toksiktir. Nikotin ve anabazin (Bkz. Şekil 1.13) gibi çeşitli alkaloidler böcek ilacı olarak kullanılmaktadır (Seigler, 1998).



Şekil 1. 13. Güçlü bir böcek öldürücü ilaç olan nikotin ve anabazin alkaloidlerinin yapısı

Binlerce modern ilacın yaklaşık %60'ı doğal kökenlidir. Farmakolojik etkinin en geniş spektrumu alkaloidler, özellikle de izokinolin grubu olanlar tarafından sergilenir (Kartsev, 2004). Önceki çalışmalarda, izokinolin alkaloidlerince zengin olan ekstraktlar fareler üzerinde denenmiş ve antioksidan, analjezik, antiinflamatuvar aktivitelerinin yanı sıra, farelere oral yoldan uygulandığında toksisiteden yoksun olduğu rapor edilmiştir (Nouredine vd., 2013; Bribi vd., 2015; Bribi vd., 2017).

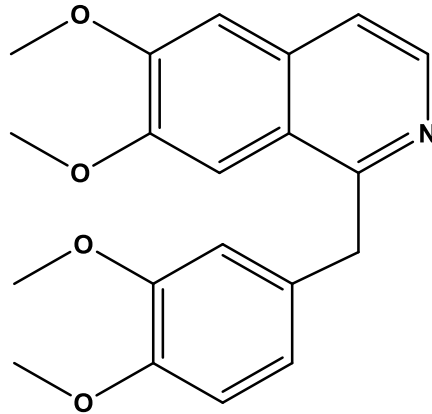
İzokinolin grubuna ait bir alkaloid olan Berberin, Ephrin-B2'yi hedef alarak meme kanseri ZR-75-30 hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü engellemektedir (Ma vd., 2017). Berberin ayrıca anti-HIV, anti-mantar, kardiyoprotektif, immünoregülatif, anti-sıtma, antiinflamatuvar, antioksidan, serebro-koruyucu, anti-mutajenik, vazo-gevşetici, anksiyolitik ve analjezik aktivitelere de sahiptir. Bu alkaloidlerin immünolojik sistem üzerindeki etkileri de kanıtlanmıştır (Bkz. Şekil 1.14). Sindirim sistemi üzerinde, anti-diyaretik ve anti-ülser aktiviteleri gibi özel aktiviteleri rapor edilmiştir (Alim ve Beşler, 2022; Bribi, 2018; Balakrishna vd., 2015; Sun vd., 2009). Ayrıca bu grup alkaloidler düşük dozlarda bile HeLa ve P388 hücrelerinin büyümesini engellemiştir (Kartsev, 2004).



Şekil 1. 14. İzokinolin grubuna ait bir alkaloid olan berberinin yapısı

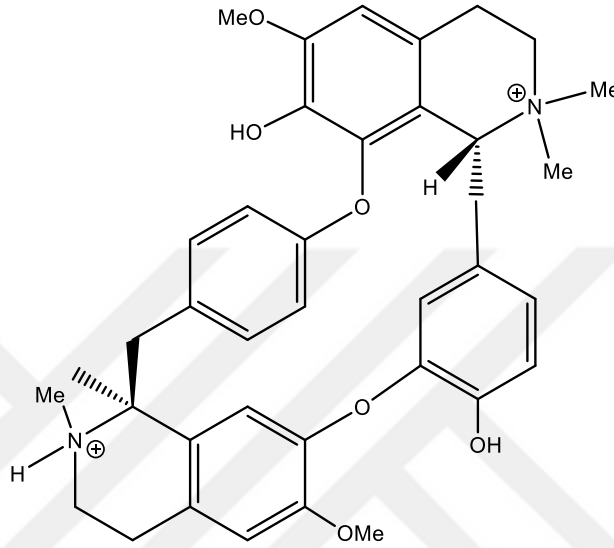
Bu nedenle alkaloidler, her biri kendine özgü etki mekanizmasına sahip olan bir dizi biyolojik aktivite için kullanılmaktadır. Alkaloidlerin bazı temel biyolojik aktiviteleri aşağıda açıklanmıştır.

Antispazmodik (kas gevşetici aktivitesi); daha çok iç organlardaki düz kasların kasılmalarını gevşeten spazm çözücü ilaç grubuna verilen isimdir. Alkaloidler güçlü antispazmodik yani kas gevşeticiler olarak bilinmektedir. Tıp alanında eski çağlardan beri kullanılan haşhaş; kodein, morfin ve papaverin gibi farmasötik açıdan değerli alkaloidleri içerir. Bu alkaloidler içinden papaverin benzeri antispazmodik ilaçlar, koroner arter bypass cerrahisi ve irritabl bağırsak sendromu gibi önemli vakalarda vazospazmı azaltıcı etkisiyle kullanılmaktadır (Kunze vd., 1990; Montalbetti vd., 2011; Takeuchi vd., 2004).



Şekil 1. 15. Bir afyon alkaloidi olan papaverin molekülünün yapısı

Kas gevşetici özelliği bilinen D-tübokürarin benzilizokinolin grubu bir alkaloiddir (Bkz. Şekil 1.16). Bu alkaloid kasların gevşemesine yardımcı olan asetilkolin reseptörlerini bloke ederek etkisini göstermektedir (Zuo vd., 2006).



Şekil 1. 16. Kas gevşetici özelliği ile bilinen D-tübokürarin molekülünün yapısı

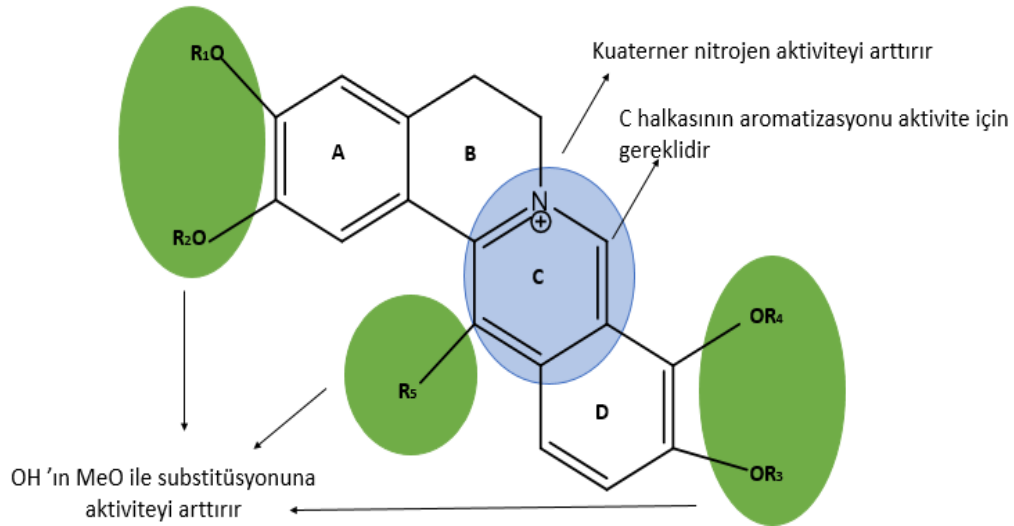
Alkaloitlerin, serbest radikal temizleyici olarak hareket etme yetenekleri, metal şelatlama aktiviteleri veya elektron veya hidrojene katkıda bulunma yetenekleri nedeniyle antioksidan aktivitelere sahip oldukları bilinmektedir. Kinolin alkaloidinin radikal substrat 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) üzerinde güçlü antioksidan özellikler sergilediği, indol alkaolidlerinin 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal katyonlarına karşı yüksek radikal temizleme aktivitesine (Yang vd., 2006) sahip olduğu yapılan çalışmalarla raporlanmıştır.

Alkaloitler, bakterilerin enzim aktivitesini veya diğer mekanizmalarını inhibe ederek antimikrobiyal aktivite (kinolonlar, metronidazol veya diğerleri gibi) gösteren yapısal olarak çeşitli bileşiklerdir. Alkaloitlerin antibakteriyel aktivitelerinin altında yatan mekanizmalar, benzersiz kimyasal yapılarıyla ilişkili olarak yavaş yavaş keşfedilmiştir. Alkaloitler, bakteriyel nükleik asit ve protein sentezinin inhibisyonu, bakteriyel hücre zarı geçirgenliğinin değiştirilmesi, hücre zarı ve hücre duvarının hasar görmesi, bakteriyel

metabolizmanın inhibisyonu dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla bakteriyel büyümeyi engellemektedir (Yan vd., 2021; Zhang vd., 2020).

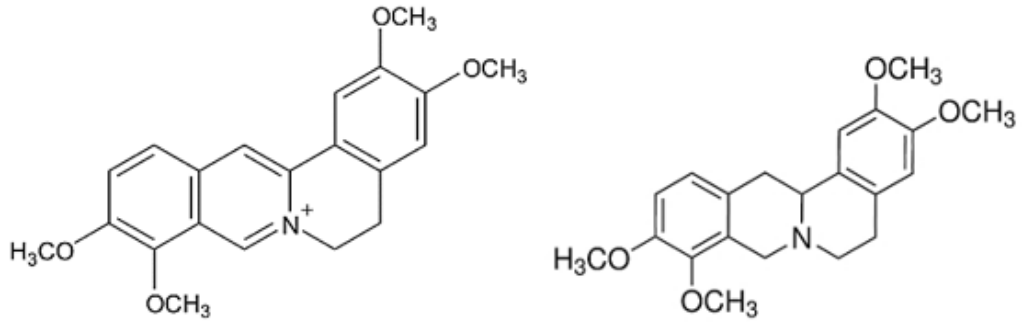
Özellikle alkaloid içeriği bakımından zengin olan bitkilerin güçlü AChE inhibitörü oldukları yapılan çalışmalarla desteklenmiştir. *Corydalis* ve *Glaucium* cinsleri alkaloidler bakımından zengin bitkilerdir. Bu cinslerden izole edilen alkaloidlerin AChE inhibitör etkileri geniş çapta araştırılmıştır. Berberinin de dahil olduğu birçok alkaloidin güçlü AChE inhibitör etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Berberin (Kim vd., 2010), AChE, BChE ve monoamin oksidazın inhibisyonu, amiloid- β peptid düzeyinin azaltılması ve kolesterol düzeyinin düşürülmesi yoluyla AH'ye karşı savaşı bir alkaloiddir (Ji ve Shen, 2011).

Alkaloidlerin AChE inhibitör etkisi üzerine yapılan birçok çalışma (Xiao vd., 2011; Hung vd., 2008; Novák vd., 2012) protoberberin tipi alkaloidlerin AChE'nin en güçlü inhibitörleri olduğunu göstermiştir. C halkasının aromatisasyonu, aromatik halkalarda OH'ın OMe ile ikamesi ve dördüncül nitrojenin varlığının aktiviteyi arttırdığı belirlenmiştir (Bkz. Şekil 1.17).



Şekil 1. 17. Protoberberin alkaloitlerinin yapı-AChE inhibitör aktivite ilişkisi (Iranshahy vd., 2014)

Palmatin ve tetrahidropalmatin benzer yapılara sahip olmasına rağmen AChE inhibisyon çalışmalarında tetrahidropalmatinin IC₅₀ değeri 268 mM iken palmatinin 0,74 mM olduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 1.18). Bu farkın palmatinin yapısında bulunan C halkasının aromatisasyonu ve kuaterner azotun varlığından kaynaklandığı belirlenmiştir (Iranshahy vd., 2014). Dolayısıyla, protoberberin iskeleti, AChE inhibitör çalışmaları için iyi bir öncül yapı olabilir.



Şekil 1.18. Palmatin ve tetrahidropalmatin moleküllerine ait yapı

Alkaloidler, düşük toksisiteleri ve yüksek etkinlikleri nedeniyle antikanser ajanları için yüksek potansiyele sahip moleküllerdir. *Uncaria* cinsinde bulunan Hirsutin alkaloidi bunlardan biridir. Bu alkaloid HER2 pozitif ve p53 mutasyona uğramış meme kanseri hücrelerinde apoptoza neden olan önemli bir alkaloiddir (Lou vd., 2015). Yine başka bir bitki türü olan *Sophora chrysohylla* (Salisb.) köklerinden ekstrakte edilen doğal bir alkaloid olan oksimatin'in insan rahim ağzı kanseri HeLa hücrelerinde sitotoksik etkileri ve apoptoz nedeniyle antikanser aktiviteye sahip olduğu da bulunmuştur (Li vd., 2015).

Catharanthus roseus (Apocynaceae)'dan izole edilen vinblastin ve vinkristin alkaloidleri, lösemi ve hodgkin hastalığı (immün sistemin bir parçası olan ve lenfosit adı verilen beyaz kan hücrelerinden kaynaklanan lenf dokusunun bir çeşit kanseridir) olan hastaların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu alkaloidler, tümör hücrelerinin bölünmesini ve farklılaşmasını engellemede oldukça değerlidir (Pradeep ve Kuttan, 2014).

Berberin güçlü farmakolojik özellikleriyle bilinen izokinolin türevi bir alkaloiddir. Berberinin antibakteriyel, antidiyabet, antiinflamatuvar ve antiülser dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik etkileri belirlenmiştir. Berberin üzerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* deneyler, berberinin hücre döngüsü durmasına neden olarak antikanser aktivite sergilediğini göstermiştir. Beyin tümörleri, lösemi, kolon kanseri, meme kanseri, karaciğer kanseri, akciğer kanseri ve rahim ağzı kanseri gibi birçok kanser hücresi için önemli bir antikanser ajan olduğu da çalışmalarla kanıtlanmıştır (Kuo vd., 1995; Kuo vd., 1996; Korkmaz, 2014).

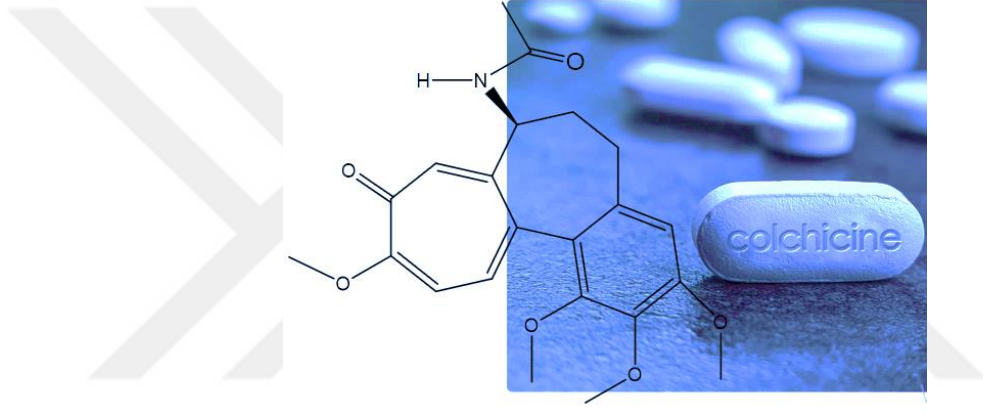
Doğal ve sentetik bileşiklerden oluşan yeni iskelelerin bulunması, mevcut çoklu ilaç direnci araştırmalarında önemli bir konudur (Binkhathlan ve Lavasanifar, 2013). Aporfin tipi alkaloidler de bu MDR üzerinde umut verici aktivite göstermiştir. Bu grubun üyelerinden olan glausin, çoklu ilaç direnciyle ilişkilendirilen protein 1 (MRP1) ve P-glikoprotein (P-gp) taşıyıcılarını rekabetçi bir şekilde inhibe etmektedir (Lei vd., 2013). Kelidonin ise bir benzofenantridin tipi alkaloiddir. Caco-2 hücre hattında P-gp/MDR1 aktivitesini inhibe ettiğini ve meme kanseri direnç proteininin (BCRP) mRNA düzeylerini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (El-Readi vd., 2013).

Enflamasyon, bakteri, parazit ve virüs gibi yabancı bir cisim tarafından tahriş veya yaralanma sonrasında dokuda meydana gelen lokal reaktif değişikliklerdir. Yaralanmaya karşı bir tepki modeli enflamatuvar yanıt, tahriş olmuş dokularda hücrelerin ve sızıntıların birikmesini içerir ve onları daha fazla yaralanma veya enfeksiyondan korumaya çalıştığı, kızarıklık, ısı, şişme, fonksiyon kaybı ve ağrı ile karakterize edilen bir süreçtir (Pandurangan vd., 2011; Yuan vd., 2006).

Alkaloidlerin antijen ve mitojen kaynaklı lenfosit proliferasyonunu baskıladığı bilinmektedir. Ayrıca tetrandinin ve onun doğal analogu olan berbaminin, insan monositleri ve nötrofilleri tarafından prostaglandin ve lökotrien oluşumunu doza bağlı bir şekilde inhibe ettiği kanıtlanmıştır (Ckless vd., 1995; Ganguly vd., 2021; Teh vd., 1990). Yine aynı şekilde iltihap ve ağrıyı tedavi etmek için kullanılan Kolşisin de alkaloid kökenli bir ilaçtır. Gut hastalarının eklemlerinde biriken ürik asit kristallerinin neden

olduğu iltihabı azaltarak çalışır. Bu aynı zamanda ağrının azalmasına da yardımcı olur (Golpour vd., 2021; Kurek, 2018; Leung vd., 2015).

1907 ile 2000 yılları arasında doğal ürünlerden izole edilen 171 alkaloidin antiinflamatuvar aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada 137 alkaloidin anti-inflamatuvar aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. İzokinolin alkaloidleri etkili biyolojik aktiviteleri sebebiyle en çok incelenen alkaloid grubu olmuştur. Alkaloidlerin dikkate değer derecede antiinflamatuvar aktivite göstermesi daha ileri araştırmalar için umut vaat etmektedir (Barbosa-Filho vd., 2006).



Şekil 1. 19. Doğal bir ürün olan kolşisin molekülünün yapısı

Protoberberin alkaloidleri içeren bitkilerin Çin halk hekimliğinde analjezik, antiseptik, sedatif ve stomatik olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Bu tür bitkiler bilinen kullanımlarına ek olarak Hint ve İslam halk hekimliğinde kanama ve göz hastalıklarında, antiseptiklerde, sakinleştiricilerde, stomatiklerde ve rahim kaslarını baskılayan ilaçlarda da kullanılmaktadır (Chen vd., 2011).

Ülkemiz bitki çeşitliliği ve tıbbi değeri olan bitki türlerinin merkezi olarak önemli bir konumdadır. Özellikle zengin alkaloid içeriğine sahip türler pek çok araştırmacının dikkatini çekmiştir. Bu türlerden biri de hiç kuşkusuz *Glaucium* türleridir. *Glaucium* türleri *Papaveraceae* familyasının üyesi olup, içerdiği alkaloidler sebebiyle sayısız çalışmaya konu olmuştur. *Glaucium* türleri hem tıbbi hem de gıda amaçlı olarak kullanılmaktadır. Bitkinin taç yapraklarından gelincik şerbeti yapılırken, yeşil yaprakları salata olarak veya kavrularak tüketilmektedir (Saraç vd., 2018). Türün eski çağlardan beri

nezle, bronşit ve soğuk algınlıklarının yanı sıra balgam söktürücü ve uykusuzluğa karşı etkili olması sebebiyle halk arasında yaygın bir kullanım alanına sahip olduğu da bilinmektedir (Kültür, 2007; Zeybek ve Zeybek, 2002).

Glaucium türlerinin insan sağlığı açısından birçok faydası rapor edilmiştir. Bitkinin, antitussif (öksürük kesici), uyku getirici, kabızlık önleyici, antidiyabetik, nörofarmakolojik, hipoglisemik, antibiyotik, antidermatit, antiinflamatuvar, antibakteriyel, analjezik, ödem attırıcı, varis tedavisi, yanıklar, sedatif ve cilt hastalıkları gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. (Altınkurt, 1969; Al-Snafi, 2018; Cabo vd., 2006; Deniz vd., 2010; Kocanci vd., 2017; Morteza-Semnani vd., 2002; Morteza-Semnani vd., 2003; Orhan vd., 2004; Zargari, 1991).

Glaucium türlerinden hazırlanan ekstrelerin sürme şeklinde kullanılmasıyla romatizma, baş ve eklem ağrılarının ortadan kaldıran güçlü bir doğal ağrı kesici olduğu da rapor edilmiştir (Al-Snafi, 2018; Kocanci vd., 2017).

Bitkiden hazırlanan ekstrelerin vücuttaki iltihaplanma sürecini yavaşlatarak anti-inflamatuvar aktivite gösterdiği bilinmektedir. Bu sebeple alerjik göz hastalıkları ve iltihabik göz problemleri gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Al-Snafi, 2018.; Kocanci vd., 2017).

Glaucium türleri üzerine yapılan birçok çalışma türlerin antikanser aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle göğüs, lösemi, servikal, mesane, meme, akciğer, kolon kanseri gibi çeşitli kanser hücrelerinin gelişimini yavaşlatmada etkili olduğu yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır (Alali vd., 2013; Hajı vd., 2013; Konda vd., 1990; Lei vd., 2013).

Türlerin tohumları, çiçekleri, gövdesi, yaprakları ve kök kısımları dahil olmak üzere tümü halk arasında birçok farklı hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Cinsin en iyi bilinen türü olan *Glaucium flavum* (sarı boynuzlu gelincik) bitkisinin tohumlarının toz haline getirilmesi ve bal ile karıştırılmasıyla laksatif tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir (Safa vd., 2013).

Türlerin oprak üstü kısımlarının öksürük kesici olarak kullanılmasının (Leporatti vd., 2003) yanında Cezayir’de siğillerin tedavisinde halk arasında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Bunun yanında, yüksek tansiyonun düşürülmesinde, göğüs ve akciğer rahatsızlıklarında tonik olarak kullanıldığı da bilinmektedir (Baba-Aissa, 2000; Bournine vd., 2013).

Bitkinin gövde kısmının antiseptik, küçük yaralar ve yangılar için iyileştirici ajan olarak kullanıldığı da rapor edilmiştir (Leporatti vd., 2003).

Yaprak ve çiçeklerinden zeytinyağında hazırlanan merhem, geç iyileşen yaraların tedavisinde oldukça fayda göstermiştir (İbn Sina, 1408). Ayrıca çiçeklerinden hazırlanan çayın boğmaca tedavisinde de kullanıldığı rapor edilmiştir (Günbatan vd., 2016; Sezik vd., 2001; Yeşilada vd., 1995).

Türlerin insan sağlığı açısından bilinen faydaları onların sağlık ürünleri ve ilaç endüstrisinde ticari olarak kullanımını desteklemiştir. Bitkinin içeriğinde bulunan Glausin isimli alkaloid öksürük kesici (antitussif), akut ve kronik bronşit tedavisinde ilaç olarak satılırken, antiselülit etkisinden dolayı da kozmetik sektöründe satışı yapılmaktadır (Al-Bader vd., 2012). Örneğin *Glaucium flavum* bitkisinden elde edilen glausin alkaloidinin etken madde olarak kullanıldığı Bronholitin antitussif etkili bir ilaçtır. Beş mililitre şurubun içeriği: 5 mg glausin, gibrobromür, 4 mg efedrin hidroklorür bulunmaktadır (Bkz. Şekil 1.20).



Şekil 1. 20. Antitussif ilaçların etken maddesi olan bir alkaloid; glausin

Bitkinin yüksek kan basıncını düşürücü etkisinden dolayı kan damarlarının genişlemesini sağlayarak dolaşım sistemine katkı sağladığı belirtilmiştir. Aynı zamanda kalp ritmini düzenlediği ve kalp kaslarını güçlendirici özellikleri gibi kardiyovasküler sistem üzerindeki etkisi de bildirilmiştir. Bu sonuç kardiyovasküler hastalıklarla mücadelede bitkinin önemini ortaya koymaktadır (Song vd., 2000).

Glaucium türlerinden çok sayıda sekonder metabolit tanımlanmış ve yapıları aydınlatılmıştır. Yapılan bu çalışmalar neticesinde bitkinin yüksek oranda alkaloid içerdiği ve güçlü biyoaktif özellikler sergilediği rapor edilmiştir. Bunlar aktiviteler arasında antitüsif (Arafa vd., 2016), antikanser (Konda vd., 1990), antiinflamatuar, antikolinesteraz, antifungal, antibakteriyel, anti-enfektif, ağrı kesici özellikleri öne çıkmaktadır (Al-Hasani vd., 2011; Dong vd., 2015; Fu vd., 2018; Gong vd., 2020; Mustafa ve Achike, 2000; Wei vd., 2020).

Doğal kaynaklardan sekonder metabolitlerin izolasyonu, bitkilerin ve diğer organizmaların biyolojik aktivitelerini anlamak ve potansiyel terapötik ajanlar geliştirmek için kritik bir adımdır. İlk adımda kimyasal analiz ve izolasyon çalışmaları yapılarak bitkilerde bulunan sekonder metabolitlerin saflaştırılması ve karakterizasyonu sağlanır. Daha sonra izole edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri değerlendirilir. Bu aşama, potansiyel ilaçların geliştirilmesi için kritik öneme sahiptir. Doğadan elde edilen bileşiklerin farmakolojik özellikleri incelendiğinde, bu bileşiklerin yeni ilaçların geliştirilmesinde kullanılabilir değerli kaynaklar olduğu kanıtlanmıştır. Bu, özellikle bitkisel tedavi yöntemlerinin modern tıpla entegrasyonu açısından da oldukça önemlidir.

Bu bağlamda, doğal kaynaklardan sekonder metabolitlerin araştırılması hem temel bilimler için hem de uygulamalı tıp alanında büyük bir potansiyele sahiptir. Bu tür çalışmalar, yeni tedavi yöntemlerinin keşfine ve mevcut tedavi protokollerinin iyileştirilmesine katkıda bulunabilir (Atanasov vd., 2015).

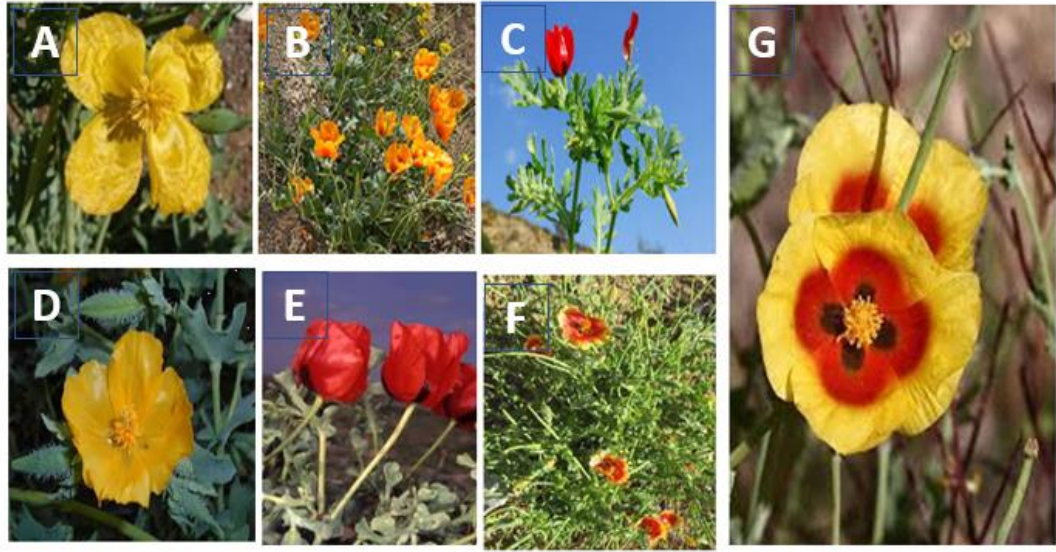
Bu amaç doğrultusunda; kimyasal içeriği henüz aydınlatılmamış, Erzincan iline endemik olan *Glaucium cappadocicum* türü çalışma konusu olarak seçilmiştir. Türden elde edilen ekstraler için antioksidan, antikolinesteraz, antiproliferatif ve antimikrobiyal aktiviteler *in vitro* deneylerle tespit edilmesi, aktiviteden sorumlu bileşiklerin kromatografik yöntemlerle izole edilmesi ve yapılarının aydınlatılması, ardından yukarıda bahsedilen biyolojik aktivitelerinin tamamlanmasıyla sonuçların literatüre kazandırılması tez çalışmasının kapsamını oluşturmaktadır.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

2.1. *Glaucium*

Glaucium, *Papaveraceae* (gelincikgiller) familyasına ait çiçekli bir bitkidir. Bitkiler, kabuklarının boynuza benzemesi nedeniyle boynuzlu haşhaş ya da boynuzlu gelincik olarak bilinir. Halk arasında boynuzlu gelinciğin yanı sıra boynuzlu haşhaş, çanak kıran, çömlek çatlatan, gülfatma, eşek lâlesi, gülhatun gibi isimlerle de bilinmektedir (Baytop 1997; Shu vd., 2022). *Glaucium* cinsine ait bitkiler tek yıllık veya çok yıllık çiçekli olarak bulunmaktadır. Keskin aromalı kokularıyla ve sarı, kırmızı, turuncu renkleri ile dikkat çekici çiçeklere sahiptir.

Glaucium cinsi, dünya üzerinde 28 tür ile temsil edilmekte olup türlerinin çoğunluğu Avrupa, Kuzey Afrika ve güneybatı ve orta Asya'da yayılış göstermektedir. Türkiye'de ise eklenen yeni taksonlar ile birlikte toplam 11 takson ile temsil edilmektedir (Akaberi vd., 2021; Aykurt vd., 2017; Seçmen vd., 1998; Yıldırım, 2012). Dünya üzerindeki *Glaucium* cinsine ait türlerin dağılım çizelgesine bakıldığında türlerin; Avrupa, Afrika, Asya, Tropik Asya ve Avustralya'da yayılış gösterdiği görülmektedir. İran 17 tür ile en çok yayılışın görüldüğü ülkedir (Bkz. Tablo 2.1). Türkiye'de ise dünya üzerinde yayılış gösteren türlerden dördü endemik olmak üzere dokuz tanesi doğal olarak yetişmektedir (Mohamed vd., 2013). Bunlar; *G. corniculatum* (çömlekçatan), *G. grandiflorum* (develalesi), *G. haussknechtii* (güllü gündürme), *G. flavum* (gündürmelalesi), *G. leiocarpum* (gavur haşhaşı), *G. caricum* (has çömlekçatan), *G. oxylobum* (yitik develalesi), *G. acutidentatum* (tavuk götü) ve *G. cappadocicum* (boynuzlu gelincik) türüdür (Brickell, 1984; Ülkar ve Bozkurt, 2019).



Şekil 2. 1. Türkiyede yetişen *Glaucium* türlerine ait görseller; A-*Glaucium acutidentatum*, B-*Glaucium cappadocicum*, C- *Glaucium corniculatum*, D- *Glaucium flavum*, E- *Glaucium grandiflorum*, F- *Glaucium leiocarpum*, G- *Glaucium oxylobum*

Tablo 2. 1. *Glaucium* cinsinin genel dağılımı (Mungan ve Yıldız, 2016).

Ülkeler	Türler
İran	<i>G. calycinum</i> Boiss., <i>G. contortuplicatum</i> Boiss., <i>G. corniculatum</i> (L.) Curtis, <i>G. elbursium</i> Mory, <i>G. elegans</i> Fisch. & C. A. Mey., <i>G. elegantissimum</i> Mobayen, <i>G. fimbriigerum</i> Boiss., <i>G. golestanicum</i> A. Gran & Sharifnia, <i>G. grandiflorum</i> Boiss. & A. Huet, <i>G. haussknechtii</i> Bornm & Fedde, <i>G. leiocarpum</i> Boiss., <i>G. mathiolifolium</i> Mobayen, <i>G. oxylobum</i> Boiss. & Buhse, <i>G. paucilobum</i> Freyn, <i>G. pulchrum</i> , <i>G. quadratifolium</i> Fedde, <i>G. refractocarpum</i> Gilli
Türkiye	<i>G. acutidentatum</i> Hausskn. & Bornm., <i>G. cappadocicum</i> Boiss., <i>G. corniculatum</i> (L.) Curtis, <i>G. flavum</i> Crantz, <i>G. grandiflorum</i> Boiss. & A. Huet, <i>G. leiocarpum</i> Boiss., <i>G. secmenii</i> Yild.
İsrail	<i>G. aleppicum</i> Boiss. & Hausskn., <i>G. arabicum</i> Fresen., <i>G. grandiflorum</i> Boiss. A. Huet, <i>G. leiocarpum</i> Boiss., <i>G. oxylobum</i> Boiss. & Buhse.
Irak	<i>G. aleppicum</i> Boiss. & Hausskn., <i>G. arabicum</i> Fresen., <i>G. cuneatum</i> Cullen, <i>G. grandiflorum</i> Boiss. & A. Huet, <i>G. haussknechtii</i> Bornm & Fedde

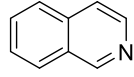
Tablo 2.1. (Devamı) *Glaucium* cinsinin genel dağılımı (Mungan ve Yıldız, 2016).

Suriye	<i>G. aleppicum</i> Boiss. & Hausskn., <i>G. grandiflorum</i> Boiss. & A. Huet, <i>G. leiocarpum</i> Boiss.
Yunanistan	<i>G. corniculatum</i> (L.) Curtis, <i>G. flavum</i> Crantz, <i>G. leiocarpum</i> Boiss., <i>G. oxylobum</i> Boiss. & Buhse
Filistin	<i>G. aleppicum</i> Boiss. & Hausskn., <i>G. arabicum</i> Fresen., <i>G. corniculatum</i> (L.) Curtis, <i>G. grandiflorum</i> Boiss. & A. Huet
Rusya	<i>G. corniculatum</i> (L.) Curtis, <i>G. flavum</i> Crantz, <i>G. grandiflorum</i> Boiss. & A. Huet, <i>G. leiocarpum</i> Boiss.
Ürdün	<i>G. aleppicum</i> Boiss. & Hausskn., <i>G. arabicum</i> Fresen., <i>G. grandiflorum</i> Boiss. & A. Huet
Ermenistan	<i>G. corniculatum</i> (L.) Curtis, <i>G. elegans</i> Fisch. & C. A. Mey., <i>G. flavum</i> Crantz
Türkistan	<i>G. fimbriigerum</i> Boiss., <i>G. insigne</i> Popov, <i>G. oxylobum</i> Boiss. & Buhse
Çin	<i>G. elegans</i> Fisch. & C. A. Mey., <i>G. fimbriigerum</i> Boiss., <i>G. squamigerum</i> Kar. & Kir.
Kırgızistan	<i>G. corniculatum</i> (L.) Curtis, <i>G. squamigerum</i> Kar. & Kir.
İngiltere, İsveç, İspanya, İtalya, Avustralya, Fransa, Tunus	<i>G. corniculatum</i> (L.) Curtis, <i>G. flavum</i> Crantz
Mısır	<i>G. arabicum</i> Fresen., <i>G. grandiflorum</i> Boiss. & A. Huet
Pakistan	<i>G. elegans</i> Fisch. & C. A. Mey., <i>G. fimbriigerum</i> Boiss.
Lübnan	<i>G. grandiflorum</i> Boiss. & A. Huet, <i>G. oxylobum</i> Boiss. & Buhse
Tacikistan	<i>G. elegans</i> Fisch. & C. A. Mey.
Fas, Gürcistan	<i>G. corniculatum</i> (L.) Curtis
Özbekistan, Kazakistan, Moğolistan	<i>G. squamigerum</i> Kar. & Kir.
Kıbrıs, Yugoslavya, Bulgaristan	<i>G. oxylobum</i> Boiss. & Buhse
Portekiz, Belçika, Hollanda, Almanya, Norveç, Meksika, Yeni Zelanda	<i>G. flavum</i> Crantz

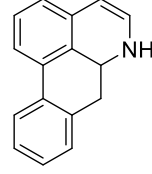
Glaucium türlerinden çeşitli spesifik metabolitler rapor edilmiş olmasına rağmen alkaloidler türün ana aktif bileşenlerini oluşturmaktadır (Arafa vd., 2016; Bhambhani vd., 2021; Peled vd., 1988). Özellikle içerdikleri izokinolin grubu alkaloidleri sayesinde oldukça güçlü farmakolojik etkiler sağladıkları bilinmektedir. İzokinolin grubundaki alkaloidler arasında aporfin, benzilizokinolin, benzofenantridin, protoberberin ve morfinan yer alırken, aporfin grubu alkaloidler bu bitkide en yaygın olanlardır (Israilov

vd., 1979; Singh vd., 2021). Bir aporfin grubu alkaloiti olan ve ismini bitkiden alan glausin türden izole edilmiş önemli bir sekonder metabolittir. Dehidroglausin, norglausin, oksoglausin, *N*-Me-sekoglausin, allokriptopin, katalin, salutaridin, protopin, koridin, izokoridin, kelidonin, boldin, izoboldin, korunin, sanguinarin, talikmidin (taliporfin), kelirubin, magnoflorin ve bokkonolin bitkide tespit edilen diğer önemli alkaloitlerdir (Arafa vd., 2016; Daskalova vd., 1988; Doncheva vd., 2016; Grundon, 2007; Ivanovska ve Philipov, 1996; Nikolov vd., 2018).

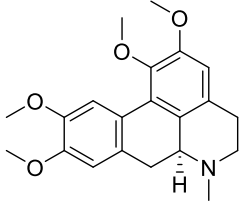
Glaucium türlerinin antitussif, antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antifungal, analjezik, antipiretik, hipoglisemik aktivite gibi güçlü farmakolojik özelliklere sahip olması zengin alkaloid içeriği ile ilişkilendirilmiştir. Son zamanlarda glausinin servikal, lösemi, melanom, mesane, kolon ve meme kanseri hücrelerinin de dahil olduğu birçok tümör hücresinin çoğalmasını engellemesiyle birlikte, türler çalışmaların merkezini oluşturmuştur (Bournine vd., 2013; Coşar vd., 1981; Doycheva vd., 2017; Halder ve Jha, 2023; Morteza-Semnani vd., 2003; Morteza-Semnani vd., 2004; Mohamed vd., 2014).



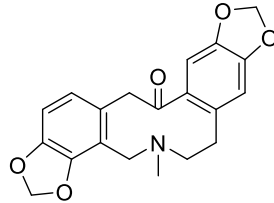
izokinolin iskelet



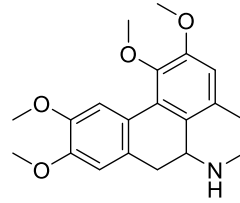
aporfin iskelet



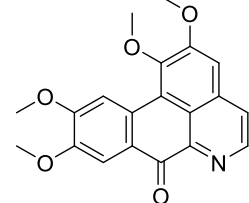
glausin



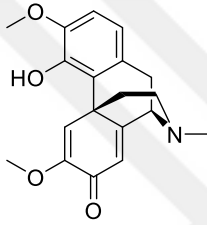
dehidroglausin



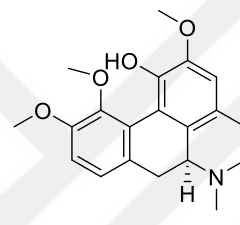
norglausin



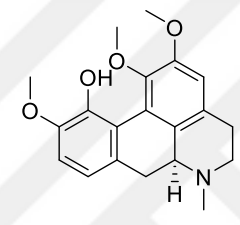
oksoglausin



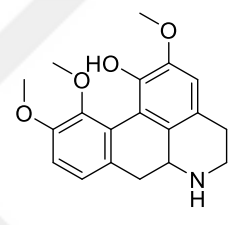
salutaridin



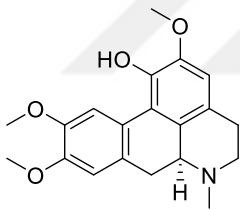
koridin



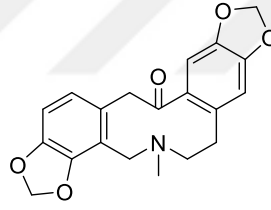
izokoridin



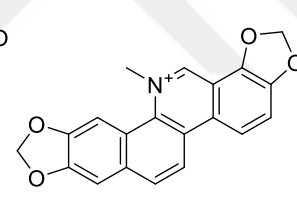
norizokoridin



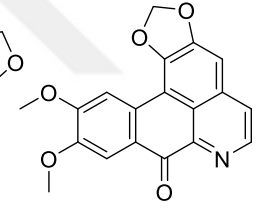
talikmidin



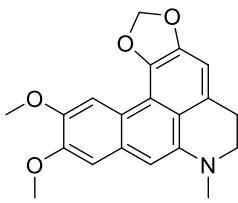
protopin



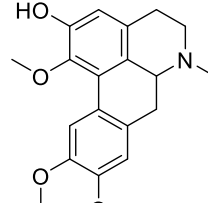
sanguinarin



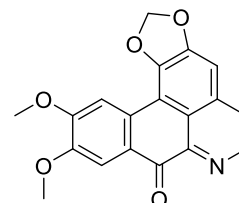
disentrin



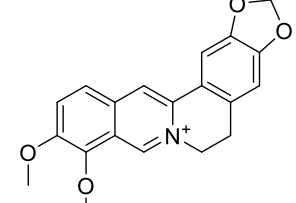
dehidrodisentrin



predisentrin

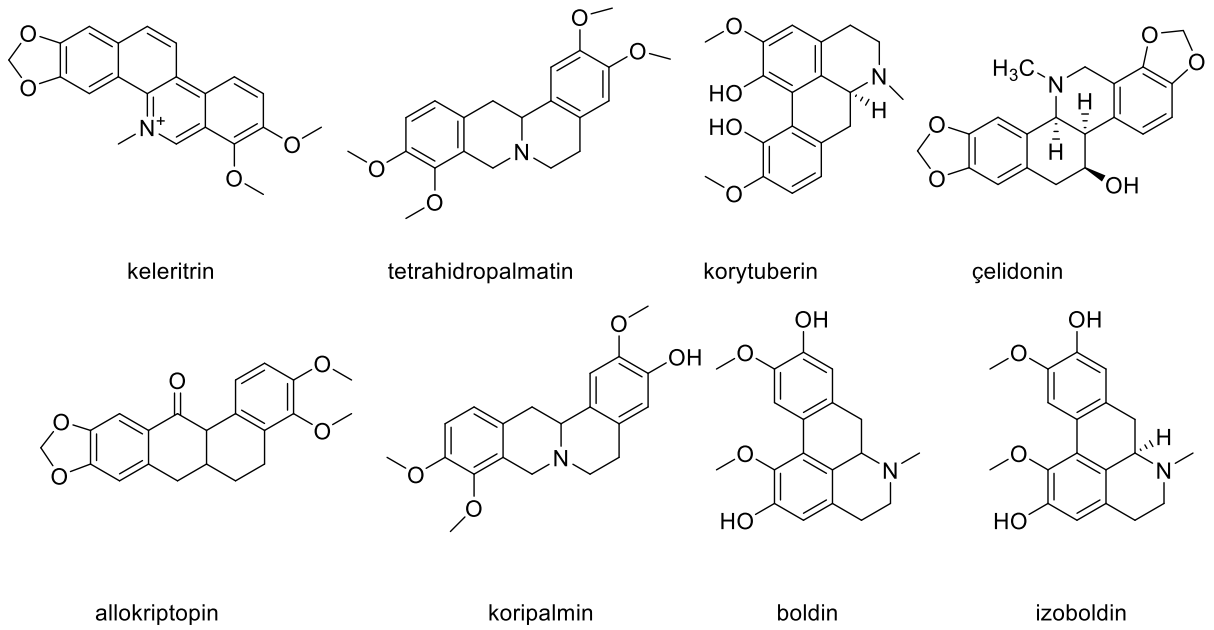


disentrinon



berberin

Şekil 2. 2. *Glaucium* türlerinden izole edilen bazı alkaloidler ve kimyasal formülleri



Şekil 2.2. (Devamı) *Glaucium* türlerinden izole edilen bazı alkaloidler ve kimyasal formülleri

G. flavum, *Glaucium* türleri içerisinde en çok araştırma yapılan türü olmuştur. Yapılan çalışmalar bu türün aporfin grubu alkaloidlerce zengin olduğunu ve dolayısıyla kuvvetli bir antitüsif ve güçlü bir antikanser etkiye sahip olduğunu doğrulamıştır. Bu sonuç türü araştırmaların merkezine koymuştur. *G. flavum* bitkisinin kök kısmından hazırlanan ekstreden protopin ve bokkonolin alkaloidleri izole edilmiş ve *in vitro* kanser çalışmaları denenmiştir. Deneyler için insan göğüs kanser hücresi ve sağlıklı hücreler üzerinde çalışılmıştır. Çalışma sonucunda bokkonolinin güçlü bir şekilde kanser hücrelerini inhibe ettiği (IC_{50} : 7,8 μ M) ancak protopinin anlamlı bir inhibisyonunun olmadığı belirlenmiştir (Bournine vd., 2013).

Alkaloid bakımından zengin olan *Glaucium* türlerinde izokinolin alkaloidleri, özellikle aporfin grubuna sahip olanlar, glausin, 6,7-dehidroglausin, didehidroglausin, koridin, izokoridin, katalin, allokriptopin, 1,2,9,10-tetrametoksioksoaporfin, izoboldin ve korunnin bulunmaktadır. Bunlar arasında özellikle antikanser aktiviteleriyle glausin ve türevleri oldukça dikkat çekmektedir (Akaberi vd., 2021; Al-Saleem vd., 2024).

Cezayir halk tıbbında yaygın olarak kullanılan *G. flavum* türünün içeriğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada koridin, izokoridin, izoboldin, korunnin, sanguinarin, keritin, talikmidini, protopin, allokriptopin, koripalmin, tetrahidropalmatin, norkelidonin alkaloidleri izole edilmiştir (Gözler, 1982; Kintsurashvili, 2000). *G. flavum* kökleri üzerine yapılan izolasyon

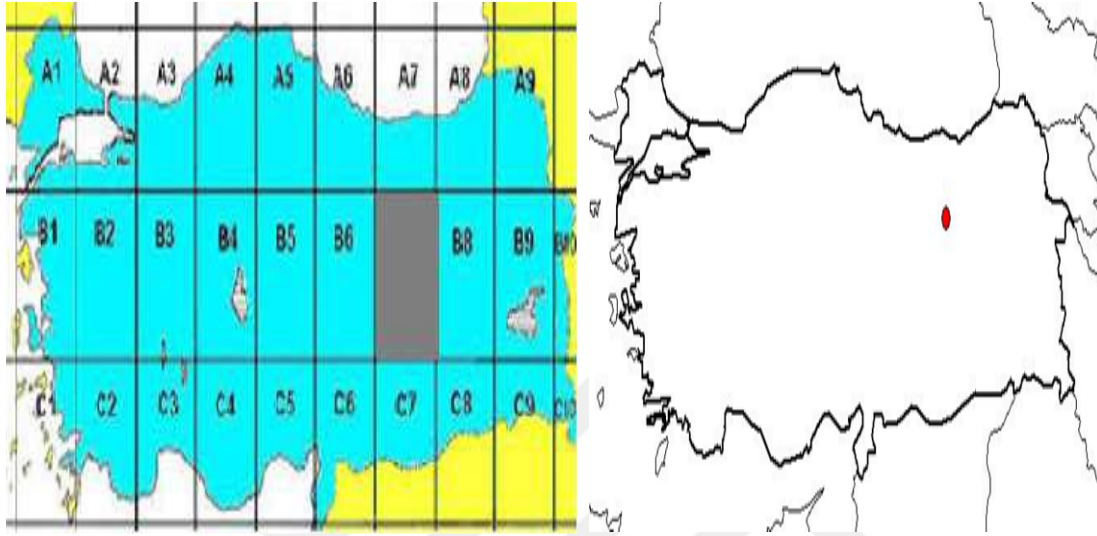
alışmasında ise bokokolin molekülü izole edilmiş ve antikanser etkisi incelemiştir. Çalışma sonucunda *G. flavum* alkaloidlerinin kanser kemoterapisi için yeni ve umut verici bir ajan olabileceği kaydedilmiştir (Bournine, 2013). Glausin alkaloidi ise bu cinsten ilk kez izole edilmiş bir moleküldür (Shafiee, 1977; Gözler, 1982; Daskalova, 1988). Glausin, yıllardır öksürük ve spazmolitik, nörofarmakolojik, hipotermik ve kan basıncını düşürücü aktiviteleri sebebiyle geleneksel halk ilacı olarak kullanılan bir alkaloiddir (Cortijo vd., 1999; Ruhle vd., 1984; Yakhontova, 1972; Bozkurt vd., 2022). Ayrıca lösemi, servikal, mesane, meme ve kolon kanser hücreleri dahil olmak üzere çeşitli tümör hücrelerinin proliferasyonunu inhibe edebilen yönüyle de antikanser çalışmaları için dikkat çekicidir (Akaberi vd., 2021; Bhatti vd., 2022; Konda vd., 1990; Lei vd., 2013).

İran'da yetişen *Glaucium flavum* ve *Glaucium grandifluom* türlerinin HT-29, Caco-2, T47D ve NIH3T3 kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin MTT yöntemi ile incelendiği çalışmada, *Glaucium flavum* alkaloid ekstraktının ve *Glaucium grandifluom* ekstraktının HT-29 hücre hattı üzerinde yüksek sitotoksik etki sergilediği (IC₅₀ değerleri sırasıyla; 22  g/mL ve 30  g/mL) ve diğer hücre hatlarında da yine önemli derecede sitotoksik etki gösterdiği ortaya konulmuştur (Hajı vd., 2013).

Alali vd. (2013) *Glaucium aleppicum* Boiss & Hausskn bitkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada, bitkinin metanolik özütü için izolasyon ve saflaştırma çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda protopin, (+)- koridin ve (+)- izokoridin ve (+)- norkelidonin alkaloidleri izole edilmiştir. İzole edilen bu alkaloidlerin insan kanser hücresi MV3 ve SW480 hattı üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmış ve (+)- norkelidonin, insan melanomu MV3 (IC₅₀:50  g/mL) ve kolorektal SW480 (IC₅₀:80  g/mL) kanser hücre hatlarına karşı önemli derecede antiproliferatif aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Kocancı ve ark. (2017) *G. acutidentatum* bitkisinin metanolik özütü üzerine yaptığı çalışmada ise HT-29 (%45 ± 5) ve HeLa hücrelerine (%64 ± 3) karşı maksimum antiproliferatif etki gösterdiği tespit edilmiştir. Tüm bu alışmalar *Glaucium* türlerinin güçlü antikanserojen aktiviteye sahip sekonder metabolitlerce zengin olduğunu göstermektedir (Zheng, 2020).

2.2. *Glaucium cappadocicum* Boiss.

Glaucium cappadocicum'un Türkiye'deki yayılış alanları haritada B7 koduyla gösterilen Doğu Anadolu Bölgesi, yukarı Fırat alanıdır. Kuruçay-İliç yolu üzerinde Kemah'a 20 km kala, kuzey yamaçlarında yetişmektedir (Bkz. Şekil.2.3).



Şekil 2. 3. *Glaucium cappadocicum*'un Türkiye'deki yayılış alanları

Glaucium cappadocicum boynuzlu gelincik olarak da bilinen endemik bir türdür. Genellikle iki yıllık, 30-75 cm boylarında dallanmış, tüysüz ya da seyrek tüylerle kaplı bir bitkidir. Taban yapraklar kalın geriye derin oymalı- ters yumurtamsı 15-25 x 6-10.5 cm, düzensiz testere dişli, uç yapraklar ise büyük geniş loblara sahip üçgensiy-yumurtamsı yapıdadır. Üst yapraklar 1-2 x 0.6-1.2 cm, geniş oymalı, kalp şeklinde ve gövdeyi sarıcı biçimdedir. Tomurcukları ise yumurtamsı-dikdörtgen şeklide, tüysüz çanak yaprakları 1.7-2.5 cm uzunluğundadır. Taç yaprakları 1.6-2.2 x 2-2.5 cm, tabanda koyu sarı beneklere sahiptir. Meyvelerin uzunluğu 10-16 cm, çiçek sapları ise 4-6 cm uzunluğunda, ince ve bazen bükümlüdür. Tohumlar siyahımsı kahverengi dikdörtgen şekildedir (Bkz. Şekil 2.4). Tohum yüzeyi ince çıkıntılı bölümler şeklinde bir yapıya sahiptir (Mungan, 2016).



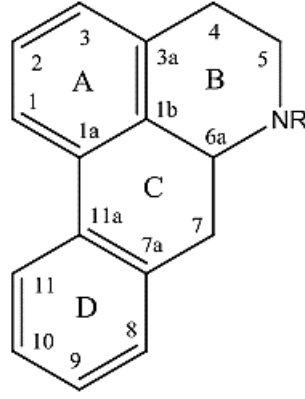
Şekil 2. 4. *Glaucium cappadocicum*, a. Genel görünüş, b. Çiçek

2.3. *Glaucium* Alkaloitlerinin Fitokimyası ve Farmakolojisi

Alkaloidler *Glaucium* türlerinin ana metabolitlerini oluşturur. Cinsten izole edilen alkaloidler: aporfinler, benzilizokinolinler ve protopinler dahil olmak üzere benzofenantridinler, morfinanlar ve protoberberinlerdir. Yapısal olarak en yaygın olanları izokinolin türevleridir (Bkz. Şekil 2.2).

2.3.1. Aporfinler

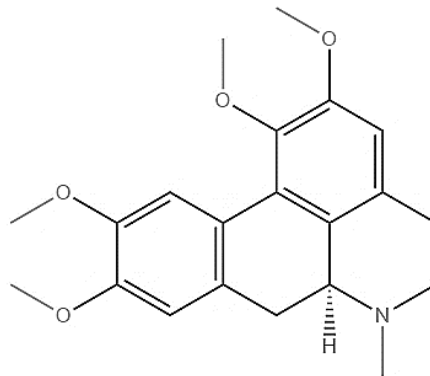
Aporfin alkaloidleri, izokinolin alkaloidleri içindeki en büyük gruptur. Bükülmüş bir bifenil sistemi ve A, B, C, D olmak üzere dört halkadan oluşur (Bkz. Şekil 2.5). *Glaucium* spp.'de bulunan alkaloid metabolitlerin birincil sınıfını aporfin alkaloidleri oluşturur (Bkz. Şekil 2.2). Bu cinsteki aporfin alkaloidleri, azot atomundaki metilasyon ve oksidasyon derecesine bağlı olarak dört gruba ayrılabilir: (a) N-metil-fonksiyonel aporfinler; (b) ikincil azot atomuna sahip noraporfinler; (c) kuaterner aporfin tuzları ve (d) N-oksit aporfinler (Shamma ve Slusarchyk, 1964). Aporfin alkaloidlerinin sağlıkla ilgili çeşitli aktiviteleri farmakolojik açıdan belgelenmiştir. *Glaucium* cinsinde en çok farmakolojik araştırmaya konu olan ve en aktif bulunan aporfin alkaloidleri glausin, izoboldin, disentrin, dehidrodisentrin, disentrinon, korytüberin ve norkoridindir (Bkz. Şekil 2.2).



Şekil 2. 5. Genel bir aporfin iskelet yapısı

2.3.2. Glausin

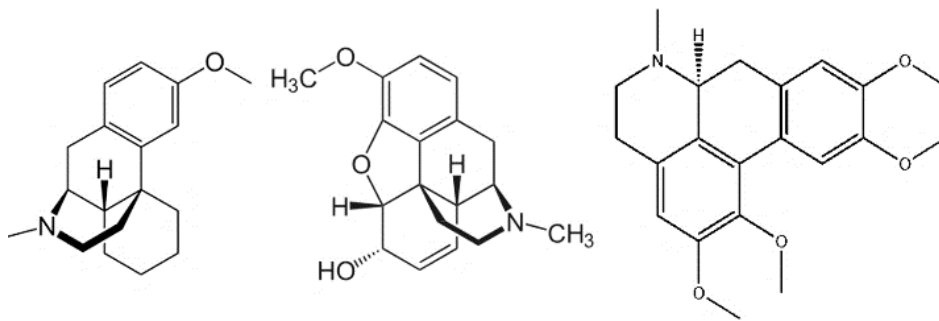
Glausin $C_{21}H_{25}NO_4$ formülüne sahip aporfin grubu bir alkaloiddir (Bkz. Şekil 2.6). Orijinal olarak *G. flavum*'dan türetilen Glausin, kodein benzeri bir öksürük bastırıcıdır. Öksürük önleyici etkisinden dolayı Doğu Avrupa'da uzun süre öksürük kesici olarak kullanılmıştır (Arafa vd., 2016; Kartaloğlu vd., 2001; Ruhle vd., 1984). Glausin öksürük kesici özelliğinin yanında güçlü antikanser etkisi ile de dikkat çekmektedir. Rahim ağzı kanseri HeLa (Hoet vd., 2004) ve agresif meme kanseri MDA-MB-231 hücre dizileri üzerine yapılan sitotoksik çalışmalarda güçlü bir ajan olduğu kanıtlanmıştır (Bournine vd., 2013). Glausininde içinde bulunduğu aporfin grubu alkaloidlerin antiproliferatif etkisinin fareler üzerinde araştırıldığı bir çalışmada, lösemi P388 ve L1210, melanom B16, mesane MBC2 ve kolon kanseri hücre hatlarında sitotoksik/ antiproliferatif etkisi doğrulanmıştır (Konda vd., 1990).



Şekil 2. 6. Glausin molekülünün yapısı

Yapılan çalışmalar Glausinin tümör hücrelerini bir dizi farklı yöntemle etkilediğini ortaya koymuştur. Glausinin, NF-kB aktivasyonunu baskılaması sonucunda MMP-9 gen ekspresyonunu inhibe ederek meme kanseri hücrelerinin istila etme ve göç etme yeteneğini azalttığı belirlenmiştir (Eid vd., 2013). Kanser hücreleri üzerinde P-glikoprotein (P-gp) ve çoklu ilaç direnci protein-1 (MRP1)'in etkisinin incelendiği bir çalışmada (Lei vd., 2013), Glausin molekülünün P-gp'ı kodlayan ABC genini baskıladığı ve MCF-7/ADR direncini tersine çevirebildiği rapor edilmiştir. P-gp'ler, spesifik kanser türlerinde daha sık görülürken çoklu ilaç direnci oluşturmaktadır. İlaça karşı gelişen bu direnç ise tedaviyi başarısız kılmaktadır. Bu çalışma glausin alkaloidinin, P-gp'nin rekabetçi bir inhibitörü olarak işlev gördüğünü ortaya koymuştur. Bu sonuçla birlikte glausin ve türevlerinin hem tedaviye olumlu katkısı hem de kemoterapi sürecinin başarılı sonuçlanmasında kullanılabilir olması oldukça umut vericidir (Eid vd., 2012).

Glausin'in antitussif etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, öksürük tedavisinde kullanılan dekstrometorfan ve afyondan türetilen kodein ile glausin karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda glausin'in antitussif etkisi dekstrometorfandan daha güçlü olarak belirlenmiş ve daha iyi tolere edilebilir olduğu ortaya konulmuştur (Gastpar vd., 1984; Kuşman, 2018; Ruhle vd., 1984). Kodein ile karşılaştırdığı başka bir çalışmada ise kodein kullanan hastalarda kabızlık, bulantı gibi yan etkiler görülmekle birlikte, glausin kullanan hastaların çoğunda bu yan etkiler görülmemiştir (Bkz. Şekil 2.7). Aynı zamanda glausin'in narkotik etkisinin olmadığı ve bağımlılık yapıcı etkisinin bulunmadığı da ortaya konulmuştur (Bortsov vd., 2012; Eid vd., 2012; Hoet vd., 2004; Kang vd., 2015; Kim vd., 2006; Konda vd., 1990; Lu vd., 2013; Ruhle vd., 1984).



Şekil 2. 7. Antitussif özelliği ile bilinen bazı moleküller; dekstrometorfan, kodein ve glausin

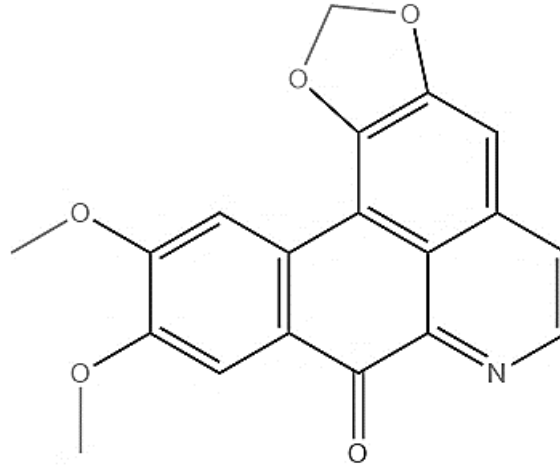
Güçlü antitussif özelliği ve tolere edilebilir yan etkisi nedeniyle Glausinden hazırlanan şuruplar ticari olarak mevcuttur. Türkiye'de bulunmamasına rağmen diğer ülkelerde satışı yapılmaktadır (Bkz. Tablo 2.2). Glausin öksürük kesici özelliğinin yanında selülit azaltıcı etkisinden dolayı da kozmetik sektöründe kullanılmaktadır (Al-Bader vd., 2012). *G. flavum*'un yaprak ekstraktından hazırlanan Phytosonic Fransa'da selülit tedavisinde ticari olarak kullanılmaktadır.

Tablo 2. 2. Satışı yapılan bazı Glausin etken maddeli preparatlar (Kuşman, 2018)

Preparat	İçerik	Etki	Firma/Ülke
Bronchitussen Vramed	Basit yağ, glaucine HCl (5 mg), efedrin HCl (4 mg)	Antitüsif, akut ve kronik bronşit	Unifarm (Bulgaristan)
Broncholytin Salvae	Sage yağı, glaucine HCl (5 mg), efedrin HCl (4 mg),	Antitüsif, akut ve kronik bronşit	Chimpharm (Kazakistan)
Brochoton	Basit yağ, efedrin HCl (4 mg), glaucine HCl (5 mg)	Antitüsif, akut ve kronik bronşit	Vetprom (Sırbistan)
Bronchosevt	Basit yağ, glaucine HCl (5 mg), efedrin HCl (4 mg),	Antitüsif, akut ve kronik bronşit	Bulgarian Rose (Bulgaristan)
Broncholytin	Basit şurup, glaucine HCl (5 mg), efedrin HCl (4 mg),	Antitüsif, akut ve kronik bronşit	Sopharma (Bulgaristan)
Phytosonic	<i>Euglena gracilis</i> Ekstresi, Kafein, <i>Glaucium flavum</i> yaprağı ekstresi	Anti selülit	Sederma (Fransa)

2.3.3. Disentrin, dehidrodisentrin ve disentrinon

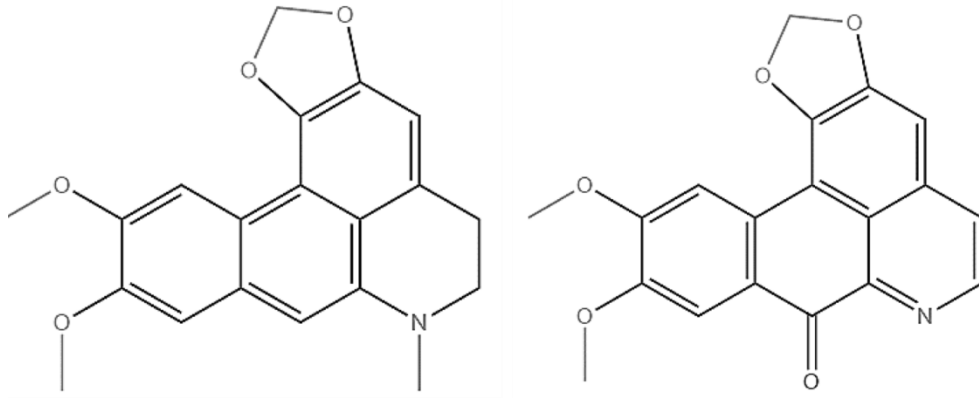
Disentrin $C_{20}H_{21}NO_4$ molekül formülüne ve 339,391 g/mol molekül ağırlığına sahip bir alkaloiddir (Bkz. Şekil 2.8). Disentrin iyi bilinen bir $\alpha 1$ -adrenoseptör antagonisti olmasının yanında iyi bir antiinflamatuvar ve antikanser özelliğe sahiptir. α -1 blokerleri olarak bilinen ilaçlar, kan damarı düz kaslarını gevşetir ve bazı kimyasalların kalbin alfa reseptörlerine bağlanmasını engeller, böylece kalp üzerindeki stresi azaltır. Disentrin'in $\alpha 1$ -adrenoseptör antagonisti olarak aort kasılmasına karşı dalak kasılmalarına göre yaklaşık 100 kat daha etkili olduğu gözlemlenmiştir (Mustafa ve Achike, 2000).



Şekil 2.8. Disentrin molekülünün yapısı

Disentrinin kanser etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, A549 akciğer adenokarsinomu hücrelerinde apoptozu güçlendirdiği ve bu kanserli hücrelerin istilasını baskıladığı bulunmuştur (Ooppachai vd., 2019). Başka bir çalışmada disentrin, apoptozu indükleyerek ve kaspaz-3'ü aktive ederek akciğer kanseri hücre dizisi olan A549 üzerinde güçlü bir antiproliferatif aktivite gösterdiği kaydedilmiştir (Liu vd., 2012).

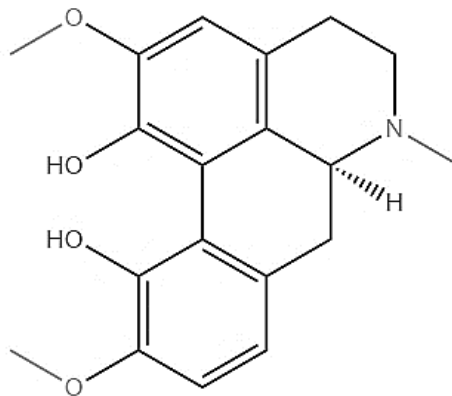
Disentrin ve dehidrodisentrin için yapılan bir anti-AChE çalışmasında, dehidrodisentrinin disentrinden daha güçlü inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir (Dong vd., 2015). Disentrin, AChE aktivitesini IC₅₀ 93,5 µg/mL değeriyle inhibe ederken (Kongkiatpaiboon vd., 2016), başka bir çalışmada dehidrodisentrin, IC₅₀ 2,98 µM değeriyle oldukça güçlü bir AChE inhibitör aktivitesi göstermiştir (Dong vd., 2015).



Şekil 2. 9. Dehidrodisentrin ve disentrinona ait molekül yapıları

2.3.4. Korytüberin

Korytüberin $C_{19}H_{21}NO_4$ formülü ve 327,4g/mol molekül ağırlığına sahip, 1 ve 11 pozisyonlarında hidroksil grupları, 2 ve 10 pozisyonlarında metoksi grupları bulunduran bir aporfin alkaloididir (Bkz. Şekil 2.10). *Glaucium* türünden izole edilen bu biyoaktif molekül sitotoksik ve anti-nosiseptif özellikleri ile tanınmaktadır. Sun ve arkadaşlarının (2014) yapmış olduğu bir çalışmada, korytüberinin SMMC-7721 hücre hattı üzerinde iyi derecede bir sitotoksik etkiye sahip olduğu (IC_{50} değerleri: $73,22 \pm 2,35$ M) raporlanmıştır. Deney hayvanları üzerine yapılan başka bir çalışmada ise korytüberinin 6,3 ve 12,5 mg/kg enjeksiyonunda çok güçlü bir anti-nosiseptif etkisinin olduğu da rapor edilmiştir (Nishiyama vd., 2010).



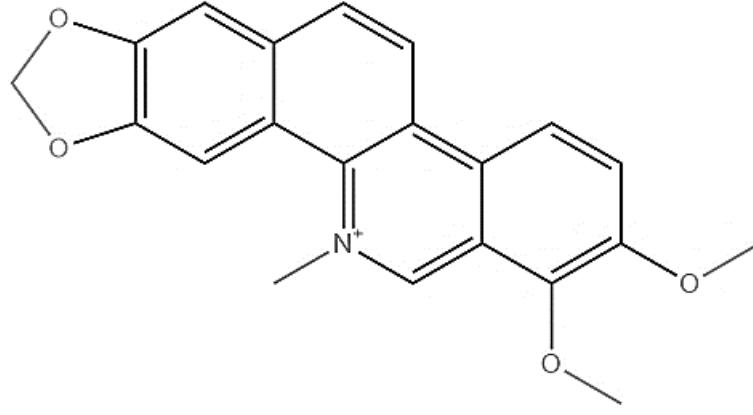
Şekil 2. 10. Korytüberin molekülünün yapısı

2.3.5. Benzofenantridinler

Benzofenantridinler, benzilizokinolin alkaloidlerinin bir sınıfıdır. *Fumariaceae*, *Papaveraceae* ve *Rutaceae* gibi familyalara ait bitkilerde yaygın olarak bulunan 120' den fazla alkaloid içerir. Benzofenantridinler, yapısal olarak aromatik olmayan bir heterosiklik sisteme sahip tetrasiklik bileşiklerdir (Laines-Hidalgo vd., 2022). *Glaucium* spp.'den tanımlanan en önemli benzofenantridin alkaloidleri; keleritrin, ($\pm$)-kelidonin, (-)-norkelidonin, dihidrokeleritrin, dihidrosanguinarine ve sanguinarindir (Tablo 2.2).

2.3.6. Keleritrin

Keleritrin antifungal, antibakteriyel, anti-kanser ve anti-AChE gibi önemli aktivitelere sahip olduğu yapılan çalışmalarla raporlanmıştır (Wang vd., 2019). Keleritrin ve sanguinarin kombinasyonunun *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans* üzerindeki antifungal aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada MİK değerleri sırasıyla 2 ve 16 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir (Qian vd., 2020). Başka bir çalışmada ise keleritrin, *C. albicans*'a karşı 2 ila 16 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişen MIC' lerle antifungal aktivite sergilediği raporlanmıştır (Gong vd., 2020). Keleritrin antifungal özelliklere sahip olmasının yanı sıra aynı zamanda güçlü antibakteriyel aktiviteye de sahiptir. Gram pozitif bakterilerden, *Staphylococcus aureus*'a, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a ve geniş spektrumlu β -laktamaz *Staphylococcus aureus*'a karşı güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir (MİK: 0,156 mg/mL). Farklı bir araştırmada keleritrin ile bitki patojenleri olan *Ustilaginoidea virens* ve *Cochliobolus miyabeanus* üzerine yapılan çalışmalarda, en yüksek inhibisyon *U. virens* üzerinde $7,5 \pm 10^{-3}$ mg/mL dozajda belirlenmiştir (Wei vd., 2020).

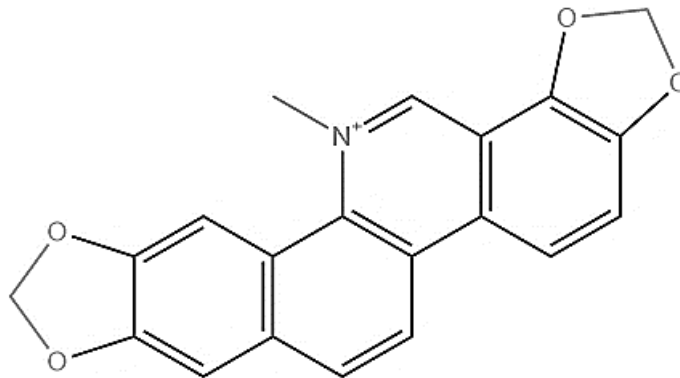


Şekil 2. 11. Keleritrin molekülünün yapısı

Anti-AChE ve anti-BChE etkileri, keleritrin ve türevleriyle ilişkili başka bir biyolojik sonuçtur. Çalışmalar keleritrinin, kanıtlanmış bir anti-AChE ve anti-BChE ajanı olduğunu doğrulamıştır (Li vd., 2017; Schiedel vd, 2017; Plazas vd, 2019). Referans ilaç olan galantamin ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, keleritrin ve yedi analogu, daha güçlü bir anti-AChE aktivitesi (IC_{50} 0,72 μ M) sergilemiştir (Zhou vd., 2020).

2.3.7. Sanguinarin ve dihidrosanguinarin

Sanguinarinin farmakolojik etkileri üzerine çok sayıda araştırma mevcuttur. Çeşitli malignitelere karşı umut verici sonuçlar göstermiştir. Ayrıca antiproliferatif, anti-enfektif, kardiyotonik bir ajan olarak etki gösterdiği de bildirilmiştir (Fu vd., 2018).

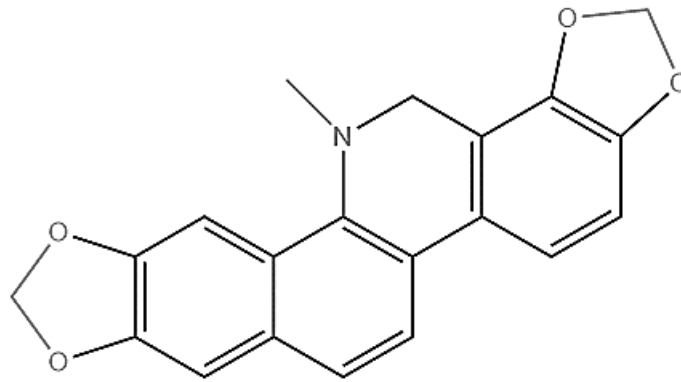


Şekil 2. 12. Sanguinarin molekülünün yapısı

Yapılan *in vitro* bir çalışmada sanguinarinin tiroid kanser hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını doz ve zamana bağlı olarak büyük ölçüde azalttığı da kanıtlanmıştır (Khan vd., 2020).

Sanguinarinin diğer kanser önleyici ilaçlarla faydalı etkileşimleri olduğuna dair raporlar da bulunmaktadır. Örnek olarak tiroid kanseri hücrelerini kemoterapi ilacı sisplatine karşı daha duyarlı hale getirdiği çalışmalarla kanıtlanmıştır (Khan vd., 2020). Buna benzer şekilde, sisplatine dirençli yumurtalık kanseri hücreleri üzerinde yapılan başka bir *in vitro* araştırmada sanguinarin, sisplatin duyarlılığını iyileştirdiği de kaydedilmiştir (Sarhosh-Inanlou vd., 2020). Bulgulara göre, sanguinarin hem tek başına hem de sisplatin ile birlikte dirençli yumurtalık kanseri hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını önemli ölçüde yavaşlatabilir olduğu rapor edilmiştir (Yang vd., 2020).

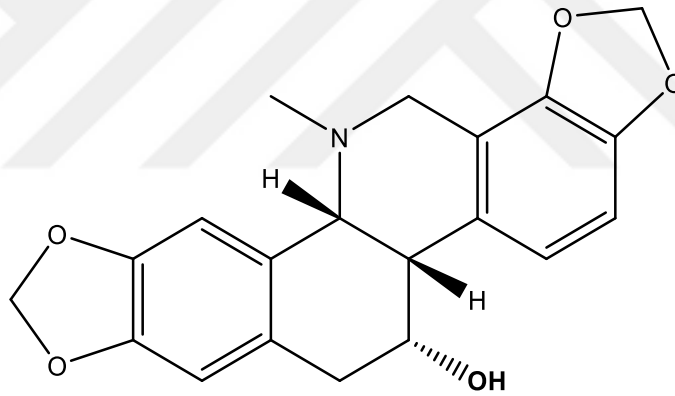
Dihidrosanguinarin üzerine yapılan çalışmalar onun da sanguinarin gibi kanser karşıtı aktivitelere sahip olduğunu göstermektedir. Hücre çoğalmasını, göçünü ve istilasını sınırladığı, ayrıca hücre döngüsünün durdurulması ve ölümü yoluyla pankreas kanseri hücrelerini azalttığı da kaydedilmiştir (Wu vd., 2019). Sanguinarin ve dihidrosanguinarin üzerinde zamana ve doza bağlı yapılan *in vitro* bir araştırmada sanguinarinin IC_{50} değeri 0,9 μM (4 saat sonra), dihidrosanguinarinden IC_{50} 20 μM (24 saat sonra) daha güçlü bir inhibitör olduğu ortaya konulmuştur (Vrba vd., 2009).



Şekil 2. 13. Dihidrosanguinarin molekülünün yapısı

2.3.8. Kelidonin

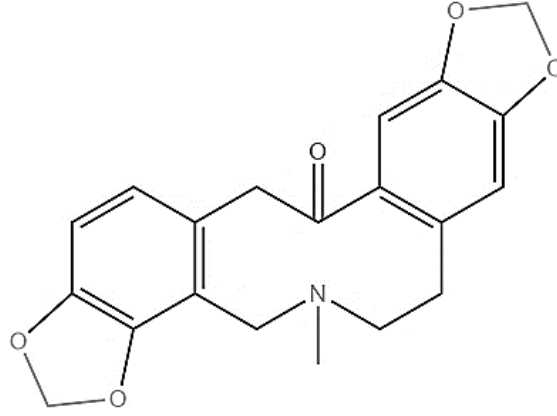
Kelidonin *Papaveraceae* familyasının üyelerinden *Glaucium* cinsinde bulunduğu gibi diğer bir üyesi olan *Chelidonium majus* bitkisinde de bol miktarda bulunan izokinolin alkaloidlerinden biridir (Bkz. Şekil 2.14). Kelidoninin antiinflamatuvar antiproliferatif ve antikanser aktiviteleri hakkında rapor veren çok sayıda makale mevcuttur (Liao vd., 2018; Zhang vd., 2018). Özellikle çeşitli hücre hatlarında hücre proliferasyonunun inhibisyonu, apoptozun güçlendirilmesi ve hücre göçünün ve istilasının baskılanması dahil olmak üzere antitümör özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Kelidonin, NF-κB sinyal yolunu inhibe ederek HCT116 insan kolon kanseri hücre hattında apoptozu güçlendirdiği ve MDA-MB-231 insan meme kanserinin göçünü ve istilasını baskıladığı da çalışmalarla ortaya konmuştur (Qian vd., 2020). Bunun yanında kelidoninin Caco-2 hücrelerinin tedavisinde kullanıldığı bir çalışmada, Kaspaz-3, kaspaz-8 ve kaspaz-6/9 aktivitesi seviyelerinin Caco-2 hücrelerinde önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Kelidonin kaspaz-3 ve kaspaz-6/9 indüksiyonunda pozitif kontrole göre daha aktif olduğu belirtilmiş ve çoklu ilaç direnci olan MDR1'i de inhibe ettiği görülmüştür (El-Readi vd., 2013).



Şekil 2. 14. Kelidonin molekülünün yapısı

2.3.9. Protopin

Protopin, bir karbonil grubuyla birlikte nitrojen içeren 10 üyeli bir halkaya sahip, izokinolin sınıfından doğal olarak oluşan bir alkaloiddir (Wada vd., 2007).



Şekil 2. 15. Protopin molekülünün yapısı

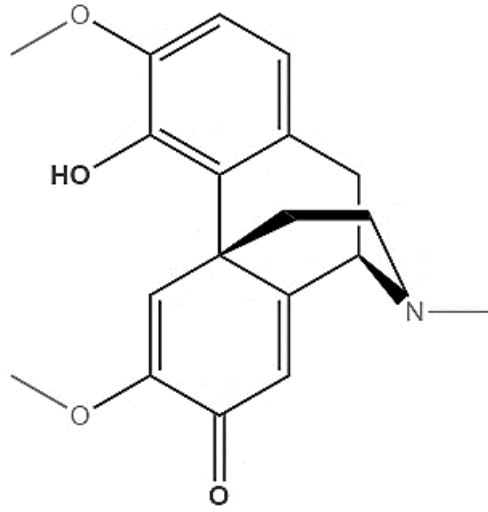
Protopin üzerine yapılan çalışmalar, anti-kanser (Xiao vd., 2008) etkilerinin yanı sıra, kan basıncını düşürücü (Wang, 1986) ve bağırsaklardaki düz kasları gevşetici (Huang vd., 1991) etkisinin olduğunu da ortaya koymuştur. Ek olarak analjezik ve trombosit agregasyonunun inhibitörü olarak da görev yapmaktadır. Kardiyak aritmi, aşırı kan basıncı ve zayıflayan kalp kasılma gücünün önlenmesi gibi kardiyovasküler sistemler üzerinde çeşitli faydaları olduğu belirlenmiştir (Song vd., 2000). Bunların yanında anti-inflamatuvar, anti-viral, anti-bakteriyel, anti-fungal ve anti-parazitik aktiviteler gibi çok çeşitli biyolojik etkiler de kaydedilmiştir (Vacek vd., 2010).

2.3.10. Morfinanlar

Morfin alkaloidleri olarak bilinen geniş bir kimyasal psikoaktif bileşik grubu, öksürük baskılayıcıları, opioid analjezikleri ve dissosiyatif halüsinojenleri içerir. Ağrı ve buna bağlı hastalıkların tedavisinde analjezik faydaları olduğu bilinen *Papaveraceae* familyası bitkileri, morfin ve benzer özelliklere sahip diğer ilaçların kaynağıdır. Bu ilaçlar etkilerini opioid reseptörleri aracılığıyla üretirler. Opioidler ağrıyı hafifletmek için sıklıkla kullanılan analjeziklerdir. Aynı zamanda öksürük, ishal, cerrahi ağrı ve kanser tedavisinde de kullanılmaktadır (Al-Hasani vd., 2011). Orta ila şiddetli kronik ağrıları tedavi etmek için şu anda kullanılan en güçlü narkotik analjezikler morfin türevleridir. *Glaucium* spp.'den en sık bildirilen morfinanlardan biri de salutaridindir (Nikolova vd., 2018)

2.3.11. Salutaridin

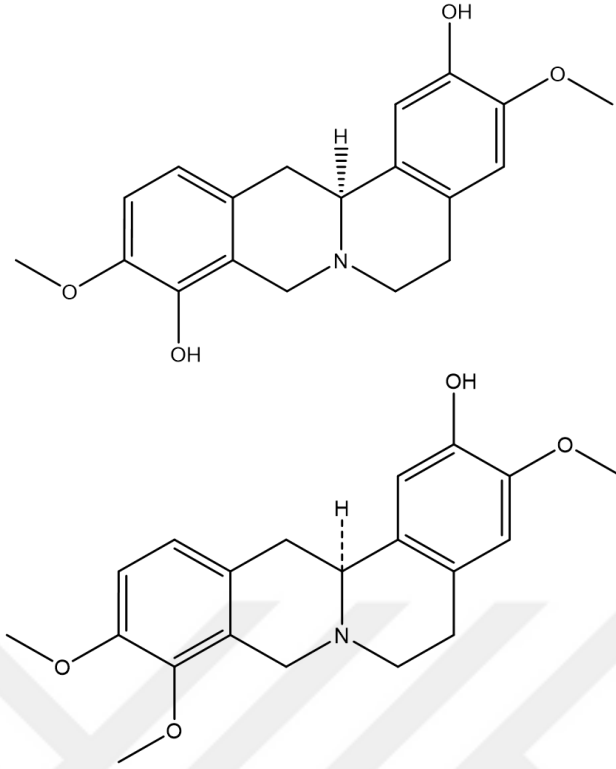
Floripavine olarak da bilinen salutaridin, $C_{19}H_{21}NO_4$ formülüne sahiptir (Bkz. Şekil 2.6). Afyon haşhaşından elde edilmiş ve 5,6,8,14-tetradehidromorfinan-7-on iskeletinin 4 konumunda bir hidroksil grubu, 3 ve 6 konumlarında metoksi grupları ve N-17 konumunda bir metil grubu ile ikame edildiği bir morfinan alkaloididir. Morfin ve kodein gibi narkotik analjeziklerin biyosentezinde bir ara madde olarak görev alır.



Şekil 2. 16. Bir morfinan türevi olan salutaridinin yapısı

2.3.12. Tetrahidroprotoberberin

Tetrahidroprotoberberinler, dört halkalı omurganın her iki ucunda iki benzen halkası bulunan bir izokinolin yapısına sahiptir. Benzen halkalarının C2, C3, C9, C10 ve C11 lokasyonlarındaki metoksil veya hidroksil gruplarının substitüsyonuna göre nonhidroksil, monohidroksil ve dihidroksil tetrahidroprotoberberinler olarak sınıflandırılırlar (Nesbit ve Phillips, 2020). *Glaucium* spp.'den bildirilen iki önemli tetrahidroprotoberberin skulerin izokoripalmindir (Bkz. Şekil 2.17).



Şekil 2. 17. Skulerin ve izokoripalminin yapısı

Güçlü antiproliferatif, pro-apoptotik, anti-AChE ve antipsikotik (Gao vd., 2016) etkiler de dahil olmak üzere skulerin için çok sayıda biyolojik özellik açıklanmıştır. Özellikle antikanser aktivitesi oldukça umut vericidir (Tian vd., 2020).

Glaucium türüyle ilişkili farmakolojik etkiler Tablo 2.3’de listelenmiştir. Anti-AChE, analjezik, anti-nosiseptif, nöroprotektif ve antikonvülsan gibi bildirilen aktivitelerin çoğunluğu sinir sistemiyle bağlantılıdır. Ancak aynı zamanda anti-tümör, anti-bakteriyel ve anti-mantar özelliklere sahip olduğuna dair raporlar da mevcuttur.

Tablo 2. 3. *Glaucium* spp.'de bulunan alkaloit sınıfları ve biyolojik bilgileri (Akaberi vd., 2021)

İsim	Kaynak	Formül	Aktivite
Glausin	<i>Glaucim</i> spp.	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄ (355.4)	Antitussif, Antioksidan, Parasempatoli ti, Antiviral (IC ₅₀ :21 µM), Sitotoksik (IC ₅₀ : 22 µM)
Disentrinon	<i>Glaucim</i> spp.	C ₁₉ H ₁₃ NO ₅ (335.3)	Sitotoksik (IC ₅₀ :100 µM), Büyüme inhibitörü Topoizomerez-I inhibitör
Disentrin	<i>Glaucim</i> spp.	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄ (339.4)	Sitotoksik, Vazo gevşetici IC ₅₀ : 0,08 µM
Koridin	<i>G. aleppicum</i>	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄ (341.4)	Farelerde toksik (115 mg/kg)
Korytüberin	<i>Glaucium</i> spp.	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄ (327.4)	Antiproliferasyon
İzokoridin	<i>G. aleppium</i>	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄ (341.4)	İn vivo toksik (LD ₅₀ 50–100 mg/kg)
Keleritrin	<i>Glaucium</i> spp.	C ₂₁ H ₁₈ NO ₄ (348.4)	Antineoplastik, antibakteriyel, sitotoksik, antagonistler
Kelidonin	<i>G. elegans</i>	C ₂₀ H ₁₉ NO ₅ (353.4)	Anti-kanser IC ₅₀ :3,2 µM, antienflamatuvar aktivite IC ₅₀ : 7,3 µM

3. YÖNTEM

3.1. Materyal

Tez çalışmasında kullanılan bitkisel materyalin kurutulması, öğütülmesi, meserasyonu, izolasyon ve yapı aydınlatma çalışmaları, ekstreler ve izole edilen bileşikler için biyolojik aktivite çalışmaları Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezi ve Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları ise Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapılmıştır.

3.2. Bitkisel Materyalin Toplanması ve Kurutulması

Bitkisel materyal çiçeklenme döneminde Erzincan ili sınırlarından toplanarak Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyesi Pof. Dr. Ali KANDEMİR tarafından tanımlanmıştır.

Bitki örnekleri çiçeklenme dönemini takiben doğal ortamlarına ve üremelerine zarar verilmeyecek şekilde yeterli miktarda tedarik edildi. Bitkinin toprak üstü kısımları havalandırma sistemine sahip, serin, nemden ve güneş ışığından uzak laboratuvar ortamında oda sıcaklığında kurutuldu. Kurutulan bitki örneği blender ile toz haline getirildikten sonra kese kağıtları içerisinde kullanılıncaya kadar muhafaza edildi (Bkz. Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *Glaucium cappadocicum* bitkisinin kurutulması ve öğütülmesi

3.3. Bitkisel Materyal İçin Ekstraksiyon İşlemleri

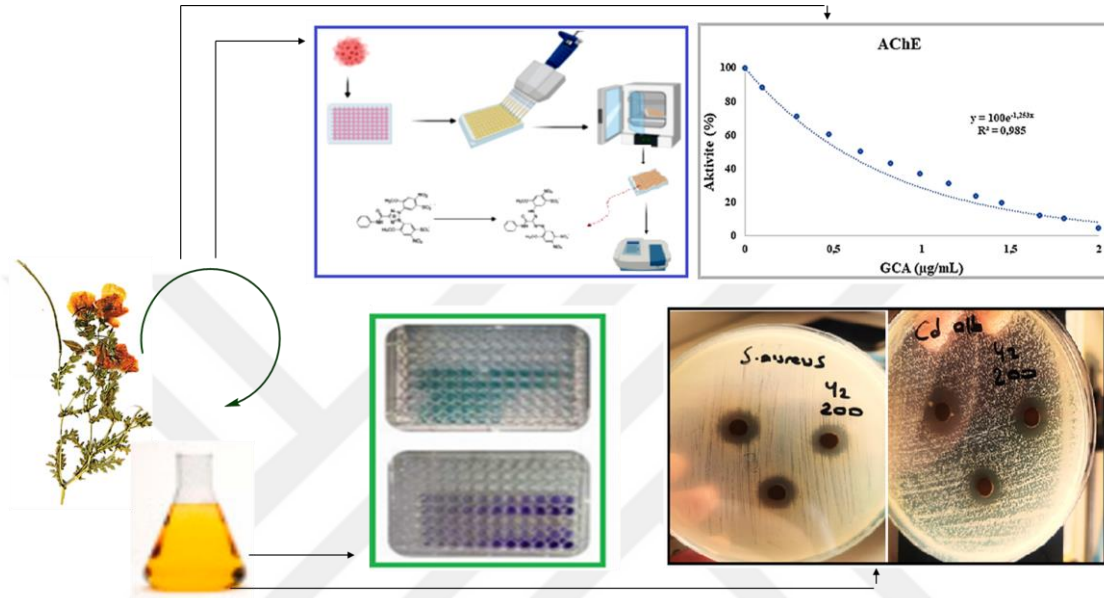
Biyolojik aktivite çalışmaları için bitkinin toprak üstü kısımları sırasıyla n-hekzan, etil asetat, metanol ve su ile ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. Kurutulmuş bitkinin toprak üstü kısımlarından 1 kg tartılarak başlangıç olarak 2x2 L hekzan ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Böylelikle bitkinin yağ bileşimi ve düşük polariteye sahip molekülleri ayrıştırıldı. Ardından sırasıyla 2x2 L etil asetat, 2x2 L metanol ve 2x2 L su ile ekstraksiyon işlemleri devam edildi. İlk ekstraksiyon sonucu süzülen bitki posası aynı çözücü ile üçer defa daha ekstraksiyona tabii tutulup, elde edilen bütün ekstraktlar kendi aralarında birleştirildi ve çözücüler evaporasyonla (30-40 °C) uzaklaştırıldı (Bkz. Şekil 3.2). Bu şekilde sıralı ekstraksiyon ile dört adet ham ekstre elde edildi (GCH; hekzan ekstresi, GCE; etil asetat ekstresi, GCM; metanol ekstresi, GCS; su ekstresi).



Şekil 3. 2. *Glaucium cappadocicum* bitkisi için ekstraksiyon işlemleri

Bitkinin ayrıca zengin alkaloid içeriğine ulaşmak için selektif ekstraksiyon yöntemi kullanılarak alkaloid ekstresi de hazırlandı. Bu adımda bitkinin toprak üstü kısımları MeOH ile ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. 100 g *Glaucium cappadocicum* 500 mL MeOH ile 3x30 dk ultrasonik banyo kullanılarak ekstrakte edildi. Ekstrakt süzöldükten sonra kalan katı kısma tekrar MeOH eklenerek aynı işlem 3 kez tekrarlandı. Daha sonra süzme işlemi yapılarak çözücü

evaporatör ile uzaklaştırıldı. Kalan katı kısım 100 mL HCl ile çözüldü. Filtre kağıdından süzildükten sonra NaOH ile pH 8,5'e ayarlandı. Bu işlemin ardından diklorometan ile ayırma hunisinde 3 kez ekstrakte edildi. Diklorometan su fazından ayrıldıktan sonra uçurularak kalan alkaloid ekstresi (GCA) üzerinden biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirildi (Bkz. Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *G.cappadocicum* bitkisi için tasarlanan biyolojik aktivite çalışmaları

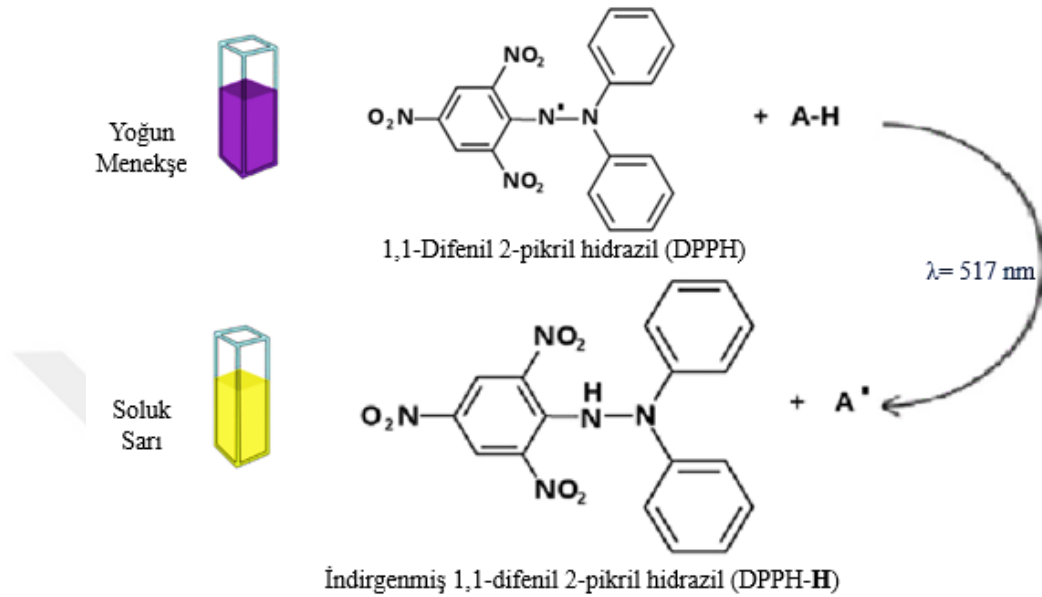
3.4. Ham Ekstrelerin Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.4.1. Antioksidan aktivite

3.4.1.1. DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi

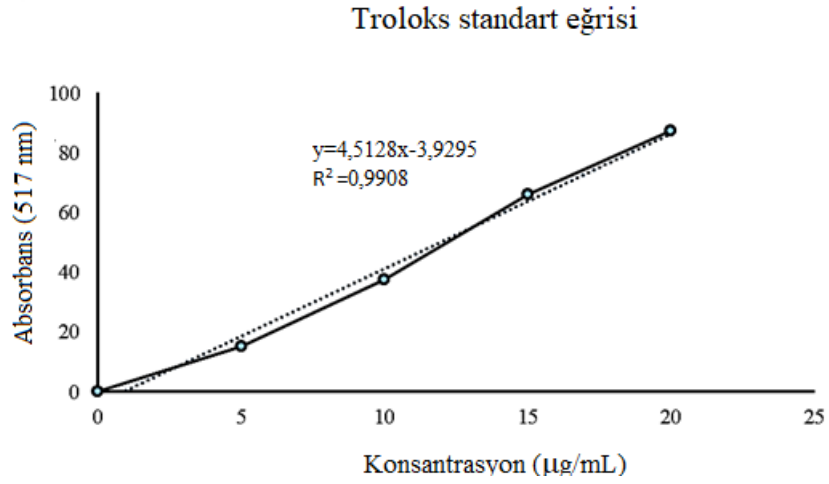
DPPH yöntemi, bir antioksidan molekülün serbest radikal temizleme potansiyelinin değerlendirilmesi ve saf bileşiklerin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi için standart olarak kullanılan kolorimetrik yöntemlerden biridir. DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) serbest radikal testi, antioksidan aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. DPPH, koyu menekşe rengi ile bilinen bir serbest radikaldir ve antioksidanlar, bu moleküle elektron veya hidrojen atomları vererek onun serbest radikal özelliklerini nötralize etmektedir. Bu süreçte, DPPH'ın rengi sarıya dönüşür (Bkz. Şekil 3.4) ve bu değişim, UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak 517 nm dalga boyunda absorbans ölçümü ile izlenir.

Absorbansın azalması, ortamda bulunan antioksidanların DPPH ile etkileşime girdiğinin bir göstergesidir. Bu nedenle, absorbans değişimi, antioksidan aktivitesinin bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır (Mishra vd., 2012).



Şekil 3.4. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) reaksiyon mekanizması

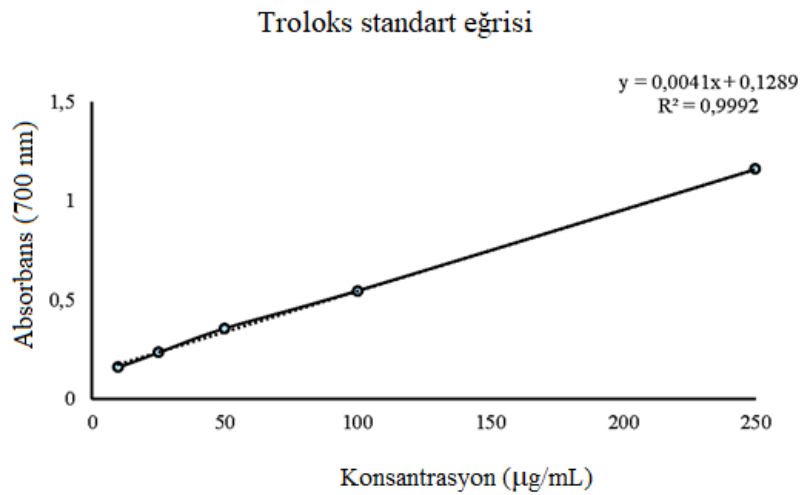
Ekstrelerin serbest radikal (DPPH•) giderme aktiviteleri (Blois, 1958) tarafından önerilen metotda bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirildi. 0.26 mM'lık DPPH• (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) çözeltisi metanol ile çözülerek hazırlandı. Denemeler için 1 mg/mL konsantrasyonda ekstre ve standartların stok çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltilerin farklı konsantrasyonları (20, 40, 80, 120, 160, 240, 320 ve 400 µg/mL) hazırlanarak son hacimleri 3 mL olacak şekilde metanol ilave edildi. Ardından 1 mL DPPH• çözeltisi ilave edilerek karışım vortekslendi. 25 °C'de karanlıkta yarım saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından 517 nm'de ölçümler alındı ve bu absorbans değerlerinden yararlanılarak IC₅₀ (µg/mL) değerleri hesaplandı. Sonuçlar troloks ile karşılaştırmalı olarak verildi (Bkz. Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Troloks standart eğrisi

3.4.1.2. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme gücü aktivitesi

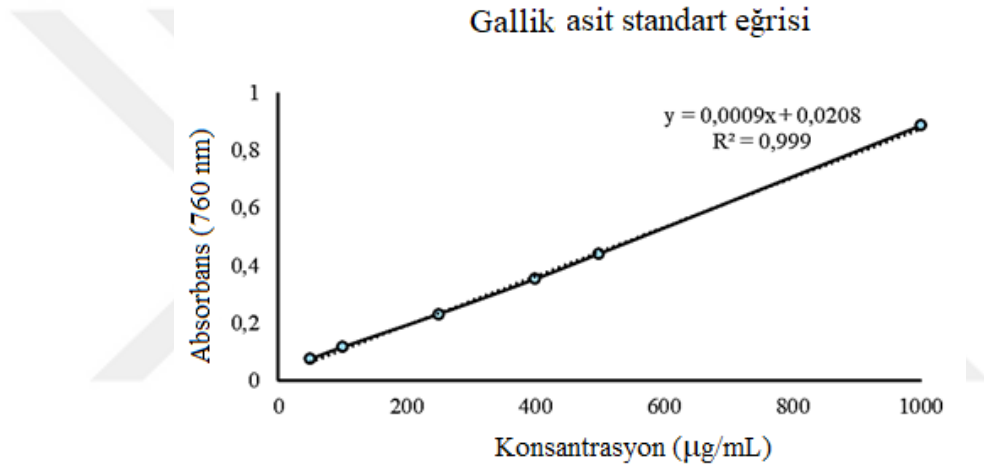
Demir indirgeme gücü aktivitesi (Oyaizu, 1986) tarafından önerilen yöntemde bazı değişiklikler yapılarak çalışıldı. Ekstrelerden 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözeltiler hazırlandı. Test tüplerine hazırlanan bu stok çözeltilerden 100 µL eklenerek hacmi fosfat tamponu (0.2 M, pH 6,6) ile 1,25 mL'ye tamamlandı. Ardından karışıma %1'lik potasyum ferrik siyanür [$K_3Fe(CN)_6$]'den 1,25 mL eklendi ve karışım 20 dakika boyunca 50 °C'de inkübe edildi. İnkübasyonun akabinde, sırasıyla trikloroasetik asit (%10)'ten 1,25 mL ve $FeCl_3$ (%0,1)'den 0,25 mL reaksiyon ortamına eklenerek 700 nm'de karışımın absorbansı ölçüldü.



Şekil 3.6. Demir indirgeme için Troloks standart eğrisi

3.4.1.3. Toplam fenolik miktarı

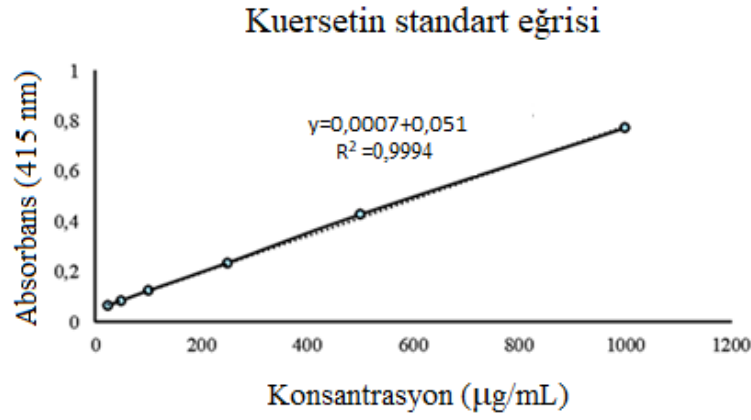
Ekstrelerin toplam fenolik madde içeriği, Folin-Ciocalteu reaktifi ile spektrofotometrik olarak tayin edildi (Slinkard ve Singleton, 1977). Bu bağlamda, test tüplerine 1 mg/mL stok ekstre çözeltilerden 100 µL eklenerek üzerine 4,5 mL distile su eklendi. Ardından 100 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilerek 10 dakika oda koşullarında bekletildi. Sonrasında 300 µL Na₂CO₃ (%2'lik) çözeltisi ilave edildi. Karışım vortekslendi ve 2 saat oda koşullarında inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda 760 nm'de absorbans ölçümleri okundu. Referans madde olan gallik asitin farklı derişimleri ile kalibrasyon eğrisi (Bkz. Şekil 3.7) oluşturuldu ve ekstrelerin fenolik madde miktarı mg gallik aside eşdeğer fenolik madde/g ekstre olarak verildi (Slinkard ve Singleton, 1977).



Şekil 3.7. Gallik asit standart eğrisi

3.4.1.4. Toplam flavonoid miktarı

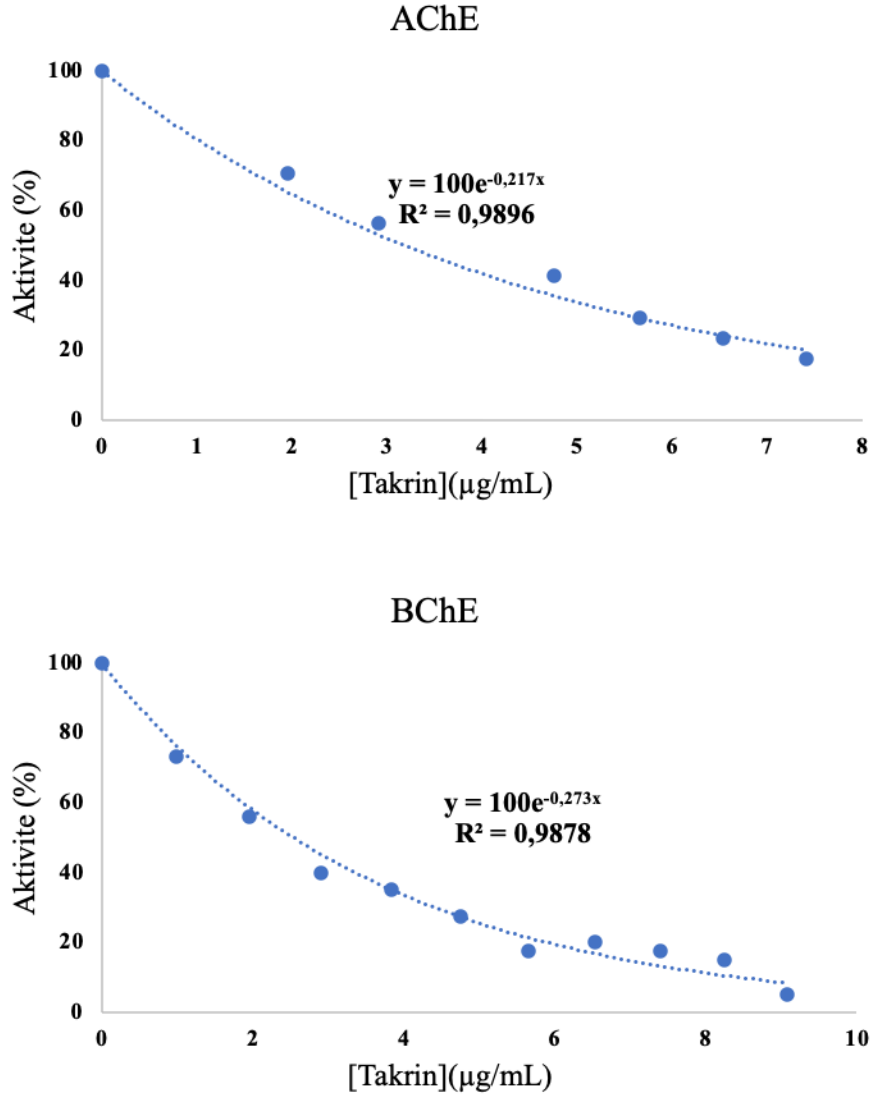
Ekstrelerin toplam flavonoid içeriği alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi ile belirlendi (Chang vd., 2002). Test için ekstrelerden ve standartlardan 1 mg madde alınarak 1 mL metanol içinde çözüldü. Hazırlanan bu derişimden 100 µL alınarak test tüplerine eklendi ve üzerine 4,7 mL metanol ilave edildi. Karışıma sırasıyla 100 µL NH₄CH₃COO (1M) ve 100 µL AlCl₃ (%10'luk) solüsyonu eklenip vortekslendi. Karışım 45 dakika oda koşullarında inkübe edildi. Ardından 415 nm'de spektrofotometrede absorbansları ölçüldü. Standart olarak kullanılan kuersetinin farklı derişimleri ile kalibrasyon eğrisi (Bkz. Şekil 3.8) oluşturuldu ve ekstrelerin flavonoid madde miktarı mg kuersetin eşdeğeri/g ekstre olarak verildi.



Şekil 3.8. Kueretin standart eğrisi

3.4.2. Antikolinesteraz aktivite

Glaucium cappadocicum (GC) bitkisinin hekzan (GCH), etil asetat (GCE), metanol (GCM), su (GCS) ve alkaloid (GCA) ekstralarının antikolinesteraz aktiviteleri Ellman yöntemi kullanılarak belirlendi (Ellman vd., 1961). Referans ilaç olarak takrin kullanıldı. Her bir ekstreden 10 mg alınarak 1 mL DMSO içerisinde çözüldü. Daha sonra çeşitli konsantrasyonlardaki deiyonize su ile seyreltilerek stok çözeltileri hazırlandı. Kolinesteraz inhibitör aktivitesini belirlemek için sırasıyla 100-1000 µL inhibitör numunesi, 100 µL tampon (1 M, pH 8,0: AChE testi için Tris-HCl tamponu ve BChE testi için fosfat tamponu), 50 µL DTNB (0,5 mM), 10 µL enzim (AChE testi için 0,385 U/mL ve BChE testi için 0,880 U/mL) ve 50 µL asetiltiyokolin iyodür/bütiriltiyokolin iyodür (10 mM) eklendi. Reaksiyon substratın eklenmesiyle başlatıldı. Reaksiyon karışımının absorbansı, reaksiyonun başlamasından sonraki 3 dakika içinde 412 nm'de spektrofotometre üzerinde ölçüldü (Bkz. Şekil 3.9). IC₅₀ değerleri, ekstraların konsantrasyonuna karşı aktivite (%) grafikleri kullanılarak hesaplandı (Cavdar vd., 2019; Gülçin vd., 2016).



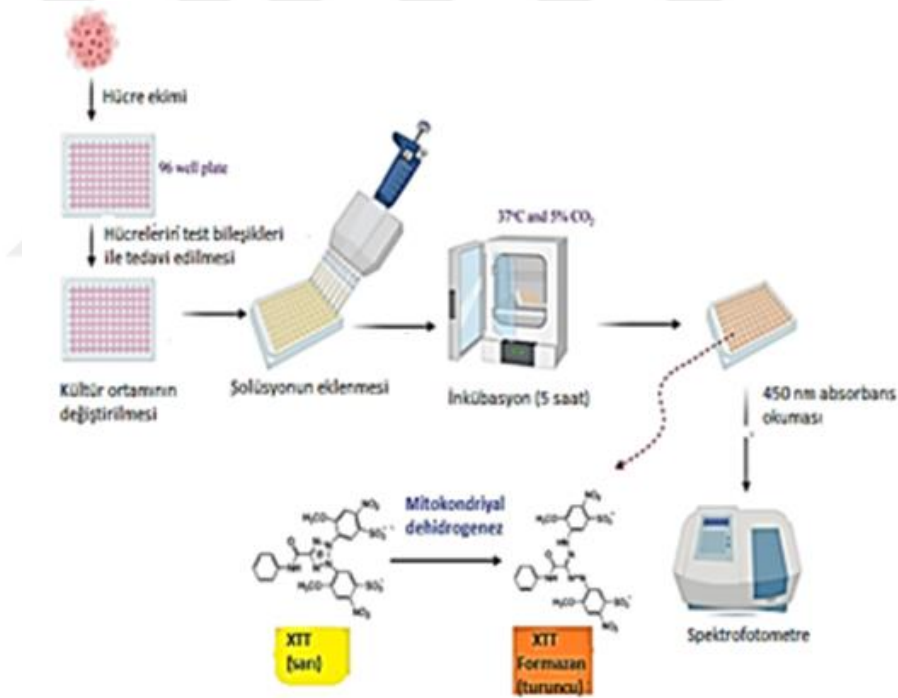
Şekil 3. 9. AChE/BChE enzimleri için standart takrin grafiği

3.4.3. Antiproliferatif aktivite

Ham ekstrelerin antiproliferatif aktivitesine yönelik testler Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Uygulama ve Araştırma Merkezi Hücre Kültür laboratuvarında yapılmıştır.

Bitkilerden elde edilen ekstrelerin antiproliferatif aktivitelerinin değerlendirilmesinde XTT [(2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide)] yöntemi önemli bir rol oynamaktadır. Bu yöntem, hücrelerin proliferasyonunu belirlemek için kullanılan, formazan boyalarının ya da XTT azalmasına dayanan enzimatik aktivitenin

kolorimetrik bir analizdir. XTT tuzu, hücrelerin çoğalmasıyla artan dehidrojenaz enzim aktivitesi tarafından turuncu renkli ve suda çözünebilen formazan ürününe dönüştürülmektedir (Bkz. Şekil 3.10). Bu dönüşüm, hücrelerin canlılık ve proliferasyon durumunu yansıtır. Hücre proliferasyonundaki değişimler, gözlemlenen renk değişiminin bir ELISA okuyucu veya spektrofotometre ile ölçülmesi yoluyla belirlenir (Mani ve Swargiary,2023). Bu sayede, bitkisel ekstraktların antiproliferatif etkileri nicel olarak değerlendirilebilir. XTT yöntemi özellikle kanser araştırmalarında ve hücre biyolojisi alanında yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu tür çalışmalar, bitkisel kaynakların potansiyel terapötik etkilerini anlamak için önemli veriler sunmaktadır (Scudiero vd., 1988). Bu analizlerin sonuçları, bitkisel ekstraktların hangi mekanizmalarla hücre proliferasyonunu etkilediğini anlamak için kritik öneme sahiptir. Ayrıca, bu yöntem sayesinde, bitkisel kaynakların sağlık alanındaki uygulamaları hakkında daha fazla bilgi edinme fırsatı sunulmaktadır.



Şekil 3. 10. Tetrazolyumun indirgenmesiyle oluşan renkli formazan türevi (Mani ve Swargiary, 2023)

3.4.3.1. Dondurulmuş hücrelerin çözündürülmesi ve hücrelerin açılması

Dondurularak saklanan MDA-MB- 453 (insan meme kanseri), MCF-7 (insan meme kanseri),

HT-29 (kolorektal adenokarsinoma), A549 (Akciğer kanseri) ve PC-3 (insan prostat kanseri) hücreleri çalışmaya başlamadan önce -80 °C' lik soğutucudan çıkarılarak sıcaklığı 37 °C' ye ayarlanmış su banyosunda hızla çözündürüldü. Tamamen çözündükten sonra hücre vialleri alkol ile silindikten sonra hava akışlı kabin içerisinde taze besiyeri ile dilüe edildi. Çözündürülen hücreler içerisine 7 mL besiyeri eklediğimiz T75'lere (A549 ve PC-3 için RPMI, HT-29 için McCoy's 5A Medium, MDA-MB- 453 ve MCF-7 için DMEM) ilave edildi. T75'lerin üzerine hücrenin adı, besiyeri, açılma tarihi ve dondurulduğu tarihteki pasaj sayısı yazıldı. Görüntüleme cihazında hücrelerin morfolojilerini kontrol ettikten sonra hücrelerin büyümesi için 72 saat boyunca 37 °C' de % 5 CO₂'li inkübatörde inkübasyona bırakıldı.

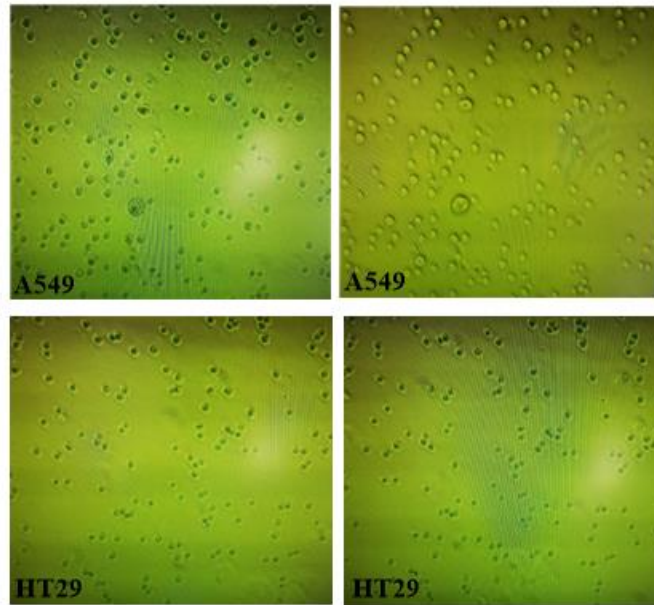
3.4.3.2. Hücrelerin pasajlanması

Hücreler hücre yoğunluğu besi ortamının kapasitesini aştığında (hücreler T75'lerin tüm yüzeyi kapladığında) kültürü bölündü. Bunu için ilk adım olarak inkübatörden aldığımız hücreleri alkolleleyip steril kabin içine alındı. Daha sonra T75'lerde bulunan besiyerlerini atığa atıldı. Hücreler 3 mL PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) tamponu ile yıkandı. Daha sonra tamponu da atığa atıldı. Ardından hücre kültür ortamına 2 mL tripsin/EDTA ekleyip 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra kültüre 3 mL (A549 ve PC-3 için RPMI, HT-29 için McCoy's 5A Medium, MDA-MB- 453 ve MCF-7 için DMEM) ilave edildi. T75'deki tüm kültürü falkon tüplere aktardıktan sonra 5 dk 4500 rpm'de santrifüj yapıldı (Bkz. Şekil 3.11). Santrifüj sonunda süpernatant atığa atıldı. Kalan hücre peleti üzerine 1:2 oranında pasajlanmak üzere 2 mL besiyeri ilave edilerek pipetaj yapılarak homojenizasyonu sağlandı.



Şekil 3.11. Tripsinizasyon ve santrifügasyon işlemi sonrası hücrelerin görüntüsü

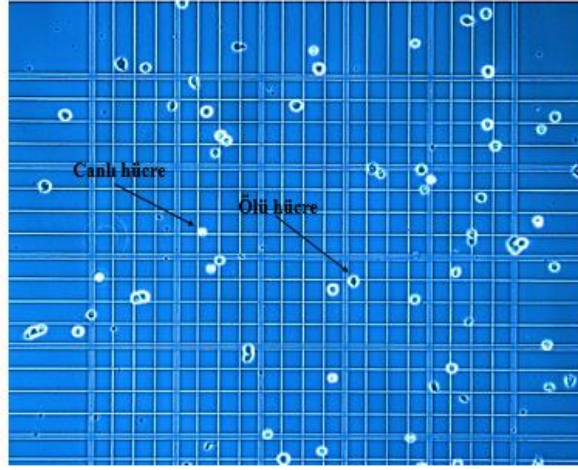
Her bir hücre grubu için iki ayrı T75 alınarak 1'er mL homojenizasyonu sağlanan hücreden eklendi ve üzerine 7 mL besiyeri ilavesinin ardından pasajlanan her bir kültür kabının üzerine o günün tarihi, pasaj sayısı ve hücre adı yazılarak görüntüleme cihazında hücrelerin morfolojisi kontrol edildi. Ardından hücrelerin yeterli büyümeye ulaşması için 48 saat süreyle 37 °C'de % 5 CO₂'li inkübatörde inkübasyona bırakıldı.



Şekil 3. 12. Pasajlama sonrası A549 ve HT-29 hücrelerinin genel bir görüntüsü

3.4.3.3. Hücrelerin sayımı

48 saat boyunca inkübasyona bırakılan hücreler görüntüleme cihazında kontrol edildikten sonra steril kabine alındı. Hücrelerin besiyerleri atığa atıldıktan sonra hücreler 3 mL PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) tamponu ile yıkandı. Daha sonra bu tampon da atığa atıldı. Ardından MCF-7, MDA-MB 453, PC-3, A549 ve HT-29 kültür ortamına 2 mL tripsin/EDTA eklenip 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra kültüre ilave edilen tripsin/EDTA 'nın üzerine(A549 ve PC-3 için RPMI, HT-29 için McCoy's 5A Medium, MDA-MB- 453 ve MCF-7 için DMEM) ilave edildi. T75'deki tüm kültürü falkon tüplere aktardıktan sonra 5 dk 4500 rpm'de santrifüj yapıldı. Santrifüj sonunda süpernatant atığa atıldı. Kalan hücre peleti üzerine 1 mL besiyeri eklenerek (A549 ve PC-3 için RPMI, HT-29 için McCoy's 5A Medium, MDA-MB- 453 ve MCF-7 için DMEM) pipetleme ile hücreler çözüldü ve üzerine 9 mL daha besiyeri ilave edildi. Ependorf tüplere 50'şer μ L MCF-7, MDA-MB 453, PC-3, A549 ve HT-29 hücrelerinden eklenerek üzerlerine trypan blue boyasından eklendi. Trypan blue canlılık testi dondurma, pasajlama veya çözme travmatik işlemlerden sonra canlı hücrelerin miktarlarını belirlemeye yarayan bir testtir. Canlılık testlerinin çoğu normalde geçirgen olmadığı bir boyayı membran bütünlüğünün bozulması sonucu alması esasına dayanır. Zarar görmüş hücre membranının boya ile etkileşmesi sonucu hücre içine giren boya stoplazmayı boyar. Böylece mikroskop altında bakıldığında ölü hücreler trypan blue boyasıyla dilüe edildiğinde büyük ve koyu mavi renkte görünürken, canlı hücreler küçük, yuvarlak ve parlak sarı renkte görünmektedir (Bkz. Şekil 3.13).



Şekil 3. 13.Thoma Lamı ile hücrelerin sayılması

Hücre sayımı için genellikle pratik ve güvenilir bir yöntem olduğu için hemositometre kullanılmaktadır. Thoma lamı, bu işlem için yaygın olarak tercih edilen bir hemositometre türüdür. İlk olarak, sayılacak hücrelerin bulunduğu süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyonun doğru sonuçlar vermesi için homojen olmasına dikkat edildi. Thoma lamı, belirli bir hacimdeki hücreleri saymak için tasarlanmış özel bir geometriye sahiptir. Lamın üzerine yerleştirilen lamel, hücrelerin mikroskop altında gözlemlenebilmesi için bir alan oluşturmaktadır. Hazırlanan hücre süspansiyonu, lam ve lamel arasındaki alana dikkatlice yerleştirildi. Bu aşamada, hava kabarcıklarının oluşumunu önlemek için dikkat edilmelidir. Lamın altına yerleştirilen hücreler, mikroskop altında gözlemlendi. Belirli bir kare alan içindeki hücreler sayıldı. Sayım işlemi tamamlandıktan sonra, sayılan hücre sayısı kullanılarak süspansiyonun mililitre başına hücre konsantrasyonu hesaplandı.

$$C = n \times 10^4$$

C= Hücre konsantrasyonu (hücre/mL), n= Sayılan hücre sayısı



Şekil 3. 14.Trypan blue canlılık testi

Sayımı yapıp konsantrasyonu hesaplanan hücrelerden 200 µL alınarak 96 well plate ekimi yapıldı. % 5 CO₂'li inkübatörde 24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

3.4.3.4. İlaç uygulaması

Ekimi yapılan hücreleri 24 saatlik inkübasyonun ardından ilaç uygulaması için streil kabin içerisine alındı. Hücrelerin ekili olduğu kuyucuklarda bulunan besiyerleri pipetle çekilerek atıldı. Bu kuyucuklara farklı konsantrasyonlarda (1-250 µg/mL) hazırlanmış olan ekstrelerden 200 µL eklenerek % 5 CO₂' li inkübatörde 37 °C' de 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı.

3.4.3.5. XTT testi

İlaç uygulamasının ardından 24 saatlik inkübasyon süresi tamamlanan hücreler streil kabin içerisine alınarak kuyucuklarda bulunan ilaçlar pipetle çekilerek atıldı. Üzerlerine 100 µL taze besiyeri eklendikten sonra 50 µL XTT solüsyonundan (5 mL XTT kiti için 100 µL aktivatör) ilave edildi. Ardından 5 saat süreyle 37 °C' de % 5 CO₂' li inkübatörde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından 490 nm'de absorbands okuması yapılarak % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri hesaplandı. Hücre proliferasyonundaki azalma aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

% inhibisyon = 100- [Abs (izole edilen molekül/ekstre ile muamele görmüş hücreler) – Abs (hücresiz ortamdaki izole molekül)] / [Abs (kontrol grubu hücreler)-Abs (hücresiz ortam)]×100

3.4.4. Antimikrobiyal aktivite

Glaucium cappadocicum bitkisinin etil asetat, metanol, su ve alkaloid ekstralarının antimikrobiyal aktivite testleri 7 standart bakteri (Gram negatifler: *Pseudomonas aeruginos* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922, kolistin dirençli *Escherichia coli* ATCC 19846; Gram pozitifler: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 45616) ve bir klinik izolat mantarı (*Candida albicans*) üzerinde test edildi.

3.4.4.1. İnokulum hazırlanması

Bu uygulama ile mikroorganizma kültürlerinin inkübasyon ve pasaj (transfer) işlemleri gerçekleştirilmektedir. Uzun süreli kullanımlar için bakterilerin metabolizmasını durdurulması ve hücrelerin zarar görmemesi için standart suşlar, -80 °C'de muhafaza edilmektedir. Çalışmayla birlikte -80 °C'den çıkarılan suşlara % 5 koyun kanlı besiyeri (Biomerieux, Fransa) ekilerek 37 °C'de 16-18 saat inkübe edildi. Koyun kanlı besiyeri, bakterilerin büyümesini desteklemek için gerekli olan besin maddelerini ve büyüme faktörlerini sağlamaktadır. Inkübasyon sonrası, besiyerinde üreyen kolonilerden yeni bir % 5 koyun kanlı besiyerine saf pasaj yapıldı. Bu işlem, bakteri izolatlarının saflığını artırmak ve büyüme koşullarını optimize etmek için yapılır. Pasaj işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Üretilen bakteri izolatlarının 0.5 McFarland standardına (yaklaşık 1×10^8 CFU/mL) ulaşması sağlanır. Bu, bakteriyel çözeltilerin yoğunluğunu standardize etmek için kullanılan bir yöntemdir. DensiCHEK Plus (Biomerieux,Fransa) gibi densitometre cihazları ile bakteriyel çözeltinin yoğunluğu ölçülür ve istenen seviyeye ayarlanır. Bu aşama, deneylerin tekrarlanabilirliği ve doğruluğu için kritik öneme sahiptir. Bu süreç, mikrobiyolojik çalışmalarda bakteri izolasyonu ve karakterizasyonu için standart bir protokoldür ve çeşitli deneylerde kullanılacak bakteriyel çözeltilerin hazırlanmasında büyük önem taşımaktadır.

3.4.4.2. Disk difüzyon testi

Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi, antimikrobiyal aktivitelerin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu çalışmada, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere yönelik antimikrobiyal etkinliklerin belirlenmesi amacıyla bu yöntem uygulanmıştır.

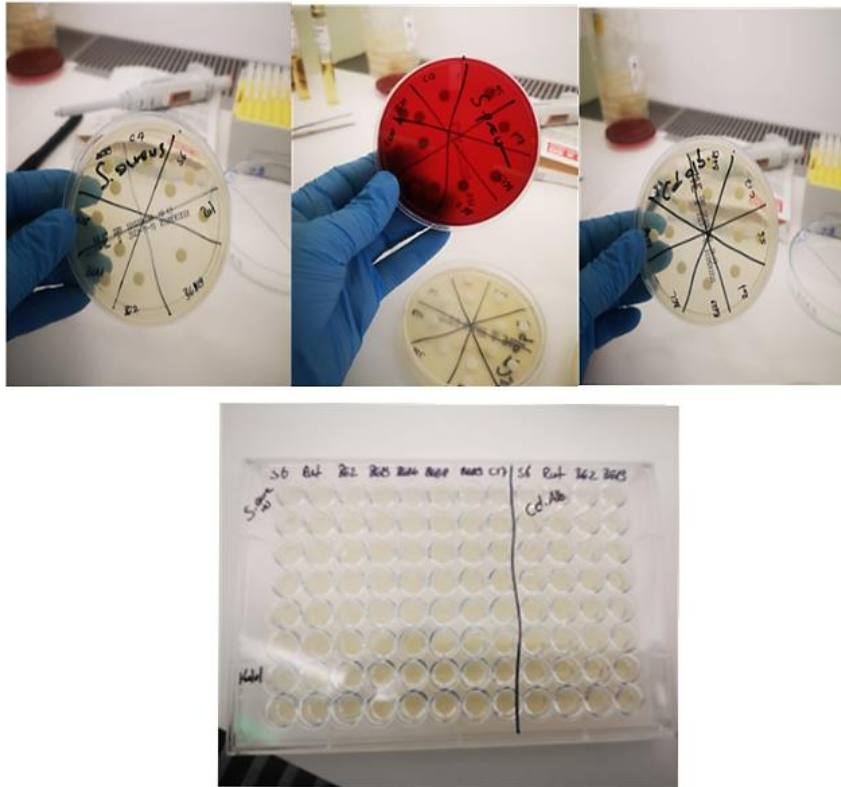
Öncelikle, hazırlanan bakteriyel solüsyonlar Mueller Hinton Agar (MHA) (Biomerieux, Fransa) besiyerine steril eküvyon çubuk (Fıratmed, Türkiye) yardımıyla sürüldü, *S. pneumoniae* için özel olarak hazırlanmış % 5 defibrine at kanı ve 20 mg/L β -NAD eklenmiş Mueller Hinton-F agar kullanıldı. Her bir ekstre için 200 mg/mL (saf molekül için 5 mM'lık) stok çözeltiler hazırlandı ve 6 mm çapındaki steril diskler bu çözeltilerden 20 μ L emdirildi. Disklerin, besiyerine yerleştirilmeden önce 15 dakika bekletilip kuruması, antimikrobiyal etkinliğin daha iyi gözlemlenebilmesi için önemlidir. İnkübasyon süresi boyunca (37 °C'de 24 saat), bakterilerin büyümesi ve antimikrobiyal bileşenlerin etkisi gözlemlendi. Pozitif kontrol olarak Gram pozitif bakteriler için Vankomisin (5 μ g/disk) ve Eritromisin (5 μ g/disk) ve Gram negatif bakteriler için Amikasin (30 μ g/disk), bakterilerin antimikrobiyal direnç profillerinin belirlenmesinde referans olarak alınmıştır. Negatif kontrol olarak distile su kullanılması, sonuçların güvenilirliğini artırmaya yardımcı olması açısından kullanılmıştır. İnhibisyon zonları ölçülerek, ekstrelerin antimikrobiyal etkinliği belirlenmiş ve etkili izolatlar sıvı mikrodilüsyon testine alınmıştır.

Bu metodoloji, antimikrobiyal bileşiklerin etkinliğini değerlendirmek için standart bir yaklaşım sunmakta olup, elde edilen veriler bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek yeni antimikrobiyal ajanların keşfine yönelik önemli bilgiler sağlamaktadır.

3.4.4.3. Mikrodilüsyon

Disk difüzyon testinde zon oluşturan moleküllerin, izolatlar üzerindeki minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) belirlenmesi için EUCAST tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Standart antimikrobiyal olarak tetrasiklin ve ketokonazol kullanıldı (Arendrup vd., 2020). *S. aureus* için katyonu ayarlanmış Mueller Hinton Broth, *S. pneumoniae* için %5 hemolizli at kanı ve 20 mg/L β -NAD eklenmiş MH-F sıvı besiyeri ve *C. albicans* için RPMI-1640 (L-glutaminli, bikarbonatsız, glukoz % 2) kullanıldı. Mikrodilüsyon testi için steril U tabanlı 96 kuyucuklu mikropleytler kullanıldı. Öncelikle bir izolat için tüm kuyucuklara (7. kuyucuk hariç) 100 μ L besiyeri dağıtıldı. İlk kuyucuğa 300 μ M konsantrasyonunda stok olarak hazırlanmış molekülden 100 μ L ilave edilerek 6. kuyucuk da dahil 100'er μ L dilüsyon yapıldı (150-75-37.5-18.75-9.375-4.688 μ M) ve 6. kuyucuktan 100 μ L dışarı atıldı. Son iki kuyucuğa dilüsyon yapılmadı. Tüm 7. kuyucuklara 50 μ L besiyeri ve 50 μ L molekül eklendi. Mikrodilüsyon testi için 0.5 McFarland (1x10⁸ CFU /mL)

bulanıklığında hazırlanmış taze bakteri/maya kültüründen 100 µL alınarak 900 µL serum fizyolojik içerisinde 10 kat dilüe edildi (10^7 CFU/mL). Bu solüsyondan 5 µL alınarak son inokulum konsantrasyonu 5×10^5 CFU /mL olacak şekilde içerisinde bir seri moleküllerin dilüe edildiği tüm kuyucuklara eklendi. Yedinci kuyucuk sterilite kontrolü için (besiyeri+deneme molekül) kullanıldı ve bakteri/maya süspansiyonu eklenmedi. 8. kuyucuk ise üreme kontrolü için (besiyeri+bakteri solüsyonu içeriği) kullanıldı. Plateler 37 °C’de 18-24 saat inkübe edildi. Değerlendirme sonrasında bulanıklığın olmadığı en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak belirlendi (Morales vd., 2008).



Şekil 3.15. İzole edilen moleküller için antimikrobiyal aktivite çalışmaları

3.4.5. Antidiyabetik aktivite

α -Glikozidaz enzim aktivitesi, Tao ve arkadaşlarının (2013) yapmış oldukları prosedürlere göre çalışıldı. Substrat olarak p -Nitrofenil- α -D-glukopiranosid (p-NPG) kullanıldı. İzole edilen saf moleküllerden farklı konsantrasyonlarda örnekler hazırlandı. Daha sonra küvete sırasıyla 720 µL saf su, fosfat tamponu (pH: 6.9, 0,1 M) 200 µL, 50 µL p-NPG, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan saf maddelerden 10 µL eklendi ve son olarak 20 µL enzim ilave edilerek 405 nm’de absorbsanları spektrofotometrik olarak ölçüldü. % aktivite-konsantrasyon grafikleri

hazırlanarak IC₅₀ değerleri belirlendi.

3.5. Kromatografik Analizler

Tez alışmasında *Glaucium cappadocicum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin izolasyon çalışmalarında; Flash Kromatografisi, Sefadeks LH- 20, İnce Tabaka Kromatografisi ve HPLC tekniklerinden faydalanılmıştır. Ayırma ve saflaştırma aşamalarında; ekstrenin miktarına ve moleküllerin etkileşimlerine göre, farklı ebatlarda kolonlar kullanılmıştır.

3.5.1. Kolon kromatografisi

Kromatografi, karışım içindeki bileşenleri ayırmak ve saflaştırmak için kullanılan en etkili yöntemlerden biridir. Karışım halindeki örneğin sabit bir faz (adsorban) zerinden hareketli faz (eluent) yardımıyla ayrılması prensibine dayanır. Analizi yapılacak örnekler kolona yüklendikten sonra sabit bir faz ile hareketli faz arasındaki etkileşime göre ayrılır. Bu etkileşimlere bağlı olarak karışımın bileşenleri sabit fazda daha uzun süre kalarak kromatografi sisteminde yavaş hareket ederken, bazıları ise hızlı bir şekilde mobil faza geçerek sistemi daha hızlı terk ederler. Sabit faz olarak silikajel ve alümina gibi adsorban maddeler kullanılırken, mobil faz olarak kullanılacak solvent veya solvent karışımı ince tabaka kromatografisi ile belirlenir.

Maddeler sabit fazla olan etkileşimlerine ve hareketli fazdaki znrlklerine göre kolondan farklı zamanlarda ayrılırlar. Sabit fazın polaritesi ile ayrılacak madde arasındaki etkileşim, maddelerin kolondan çıkış hızını belirlemektedir Sabit fazla en çok etkilen bileşik kolondan en son ayrılan bileşiktir.

Ekstraktların fraksiyonlandırılmasında ve bu fraksiyonlardaki biyoaktif moleküllerin izolasyon işlemlerinde silika jel, sefadex LH-20 ve C18 (Merck, Kiesegel 60, 70-230 Mesh) gibi özel kolon dolgu maddeleri kullanıldı. Kullanılacak kolonun ebatları ise ekstraktın miktarına ve ince tabaka kromatografi sonuçları referans alınarak belirlendi.

3.5.1.1. Normal faz silika jel kolon kromatografisi

Silika jel ve alümina kolon kromatografisinde en sık kullanılan dolgu maddeleridir. Her iki maddede polar özellik gösterdiği için polar olmayan bileşenlerin kolondan erken çıkmasını sağlayarak avantaj sağlamaktadırlar. Alümina silika jele göre daha polar olup kimyasal reaksiyonlara girme eğilimi daha fazladır. Silikajel ise, hem geniş polarite aralığı hem de reaksiyonlara girme eğiliminin düşük olması sebebiyle daha fazla tercih edilmektedir.

Kolon kromatografisine başlamadan önce ilk basamak uygun çözücü sistemlerinin belirlenmesidir. Bu aşamada ince tabaka kromatografisi kullanılarak ekstrakt içerisindeki maddeler için uygun çözücüler belirlendi. Hareketli fazın belirlenmesinin ardından ekstrenin miktarına göre ideal kolon seçildi. Kolon ve hareketli faz seçiminin ardından dolgu maddesi olarak kullanacağımız silika jel tartıldı. Tartılan silika jel kolon elüsyonunda kullanılacak hareketli faz içerisinde süspanse edildi. Ayrırma ve saflaştırmada kullanılacak kolon spora sabitlendikten sonra kolonun içine küçük bir pamuk parçası dikkatlice yerleştirildi. Kolonun musluğu açılarak içerisinden hareketli faz geçirildi. Ardından kolonda hiç hava kabarcığı kalmayacak şekilde silika jel kolona yüklendi. Süspansiyon kolona parça parça konuldu ve dökme işlemi sırasında hava kabarcıklarının oluşmasını önlemek için sütuna plastik bir boruyla hafifçe birkaç kez vuruldu. Kolondan bir süre hareketli faz geçirilerek kolonun şartlanması sağlandı. Çözücü dolgu maddesi üzerinde 1-2 mm yüksekliğine geldiğinde kolonun musluğu kapatıldı ve numune enjeksiyonuna hazır hale getirildi. Saflaştırılacak ekstre elüsyon için seçilen çözücü sistemi içerisinde çözüldü ve ardından kolona yüklendi. Polar olmayan ve kolonla etkileşime girmeyen moleküllerin ayrılması için önce düşük polariteli çözücü sistemi ile başlandı, daha sonra artan polarite ile işleme devam edildi. Çıkılabilecek maksimum polariteye ulaşıldıktan sonra izolasyon işlemleri sonlandırıldı. Elüsyon sonunda belirli hacimlerde topladığımız fraksiyonlar için İTK çalışması yapıldı. İTK ile belirlenen R_f (yürüme hızı) sonuçlarına göre benzer fraksiyonlar birleştirildi. Kolondan karışım halinde alınan fraksiyonları ayırmak için ters fazlı silika jel ve sefadeks gibi kolonlar kullanıldı.

3.5.1.2. Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi

Sephadex LH-20, organik solventlerdeki doğal ürünlerin moleküler boyutlandırılması için özel olarak tasarlanmış bir reçinedir. Matrisin ikili hem hidrofilik hem de lipofilik doğasından kaynaklanan güçlü kromatografik seçiciliği ile maddelerin fraksiyonlara ayrılması ve izolasyonunda kullanılan oldukça avantajlı kromatografik yöntemlerden biridir. Çoğu sulu

karışımında ve polar organik çözücülerde geniş stabilitesi, yüksek kimyasal ve fiziksel dayanıklılığı ve yüksek tekrarlanabilirliği sayesinde büyük miktardaki ekstraktların ayrılmasında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle ekstraktlar hem molekül kütlelerine göre hem de içerisinde bulunan yağlar, steroidler, terpenler ve fenolikler gibi çeşitli polaritelere sahip kimyasalların ayrılmasında çok önemli bir rol oynar.

Tez çalışması kapsamında elde edilen karışım fraksiyonlarının yakın polariteye sahip bileşenler ihtiva etmesi üzerine silika jel ile ayrılamayan fraksiyonların izolasyonunda ve saflaştırılmasında Sefadeks LH-20 kolon kromatografisi kullanıldı. Metanol içinde bir gece şişirilen 50-100 g dolgu maddesi hava kabarcığı kalmayacak şekilde kolonlara paketlenildi. Kolonun şartlanması için bir süre metanol geçirildi. Adsorban üzerinde yaklaşık 2 mm yüksekliğinde çözücü olacak şekilde ayarlanarak kolon numunelerin tatbikine hazırlandı. İzolasyonu yapılacak olan fraksiyonlar yeterli oranda metanol ile çözülerek adsorban madde yüzeyine ilave edildi. Kolondaki tüm maddeyi alana kadar metanol ilavesine devam edildi. Kolon sonunda belirli hacimlerde toplanan fraksiyonlar için İTK yapılarak, benzer R_f değeri sergileyenler birleştirildi.

3.5.2. İnce tabaka kromatografisi (İTK)

İnce tabaka kromatografisi izolasyon çalışmalarının her adımında yararlandığımız bir tekniktir. İzolasyon çalışmalarına başlarken kromatografik uygulamalar için uygun çözücülerin belirlenmesinde, kromatografik çalışmalar sırasında elde ettiğimiz fraksiyonlarının yorumlanmasında, kromatografik çalışmaların sonunda elde ettiğimiz maddelerin saflık kontrollerinde ticari olarak mevcut İTK tabakaları (Merck, Kiesegel 60 F254) kullanılmıştır. Fraksiyonlar ve saflık kontrolü yapılacak maddeler İTK plakalarının tabanından 1 cm kadar yukarıya cam pipet yardımıyla ekildikten sonra uygun çözücü sistemlerinde kromatografi tankında yürütülerek incelenmiştir. Plakada yürüyen maddelerden UV aktif olanlar 254 ve 366 nm dalga boyunda gözlenirken, UV aktif olmayan maddeler için 9:1 oranında hazırlanan sülfürik asit ve etanol karışımı kullanılarak ısıtıldı ve böylelikle lekeler görünür hale getirilerek belirlendi. Aynı şekilde İTK sonucuna göre benzer yürüyen fraksiyonlar birleştirildi ve karışım halinde bulunan fraksiyonlar için izolasyon işlemlerine devam edildi.

3.5.3. Preperatif HPLC

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi hassas ayrımı ve küçük miktardaki numunelerin analizine olanak sağlayan çok amaçlı bir kromatografi türüdür. Analizi yapılacak örnek uygun çözücüde çözüldükten sonra 0.45 µm por büyüklüğündeki filtrelerden geçirildi ve kolona enjeksiyon için hazır hale getirildi. Mobil faz olarak; ultra saf su ve HPLC-grade metanol kullanılırken, sabit faz olarak C18 ters faz dolgu maddesi içeren Intersil Prep C-18 2025 (10 µm) ve Intersil Prep C-18 2025 (5 µm) kolonları kullanıldı. Uygun kolon seçimi ve yöntem geliştirildikten sonra 2 mL’lik loop kullanılarak enjeksiyonlar manuel olarak yapıldı. Çalışma sonucunda elde edilen fraksiyonlar İTK ile incelenerek saf olan maddelerin yapı aydınlatma çalışmaları için ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve gerekli durumlarda 2D NMR spektroskopileri çalışılarak net yapılar ortaya koyuldu.

3.5.4. Flash kromatografisi

Tez çalışması kapsamında izolasyonu yapılacak bitkisel materyalden hazırlanan ekstraların kaba ayrımı ve fraksiyonlandırma işlemleri için Buchi Reveleris-X2 UV Flash Kromatografi cihazı kullanıldı. Hem flash kartuşları hem de Prep HPLC kolonlarını kullanımına olanak sağlayan, 3 kanallı değişken UV-Vis ve ELSD dedektör sistemine sahip, yüksek miktarda madde ayırımına olanak sağlayan avantajlarıyla doğal numunelerin ekstraktından saf bileşiklerin izolasyonunda yaygın olarak kullanılan kromatografi çeşididir. Saflaştırma işlemi için Ecoflex 330 g hazır C18 kolonu kullanıldı. Analizde mobil faz olarak ise su-metanol (100:0-0:100) çözücü gradienti kullanılırken, piklerin seçiciliği için UV 330, 280 ve 254 nm aralıkları seçildi.

3.5.5. GC-MS

GC-MS analizleri, Thermo Trace 1310 MS dedektörü ve bir HP-5MS kapiler kolon (30 m x 0,25 mm ve 0,25 µm) ile birleştirilmiş bir Thermo Scientific GC-MS cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstreler diklorometan ile çözülerek hazırlandı (1:10) ve ardından HP-5MS kolonuna (30 m x 0,25 mm ve 0,25 µm) enjekte edildi. Kolon sıcaklığı 50 ila 120 °C arasında 3 °C /dakika, 120 ila 220 °C 5 °C /dakika olarak programlandı ve başlangıç ve son sıcaklıklar 0,64 dakika (toplam 44 dakika) tutuldu. Helyum, 5 psi giriş basıncında taşıyıcı gaz olarak kullanıldı. Hem enjektör hem de detektör (FID) için sıcaklık 250 °C olarak belirlendi. Numuneler (1,0 µL), bölünmüş/bölünmemiş (50:1 bölünmüş) modda enjekte edildi.

3.6. Spektroskopik Analizler

3.6.1. Nükleer manyetik rezonans (NMR)

NMR, doğal ürünlerden izole edilen moleküllerin yapı aydınlatma çalışmaları için kullanılan önemli bir spektroskopik analizdir. NMR Spektroskopisi, atom çekirdeğinin manyetik karakterine bağlı olarak, molekülün iskeleti hakkında bilgi verir. Bu yöntemle, bir molekülde hidrojen ve karbon içeren grupların sayılarının yanında, bu gruba komşu olan gruplar da tespit edilebilmektedir. İki boyutlu NMR spektroskopisi özellikle karmaşık yapıdaki moleküllerin net yapıları için oldukça faydalıdır. Bir hidrojene komşu olan diğer hidrojenlerin belirlenmesinde (^1H - ^1H COSY), hidrojenin tek bağ üzerinden hangi karbonlara ait olduğu (^{13}C - ^1H -NMR HETCOR), hidrojenin 2 veya 3 bağ üzerinden hangi karbonlarla ya da karbonun hangi hidrojen veya hidrojenlerle etkileştiğinin belirlenmesinde (HMBC) iki boyutlu NMR spektroskopisi muazzam bir analiz sunar. Bu nedenle NMR dataları diğer spektral yöntemlere göre daha kesin ve değerli bilgi sunmaktadır.

Bu çalışmada; çeşitli kromatografik tekniklerle izole edilen bileşiklerin; ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HETCOR, COSY, DEPT ve HMBC spektrumları döterolu uygun çözücüler kullanılarak Bruker Avance II NMR (400 MHz, ^1H ve 100 MHz, ^{13}C) cihazında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi'nde alınmıştır.

4. BULGULAR

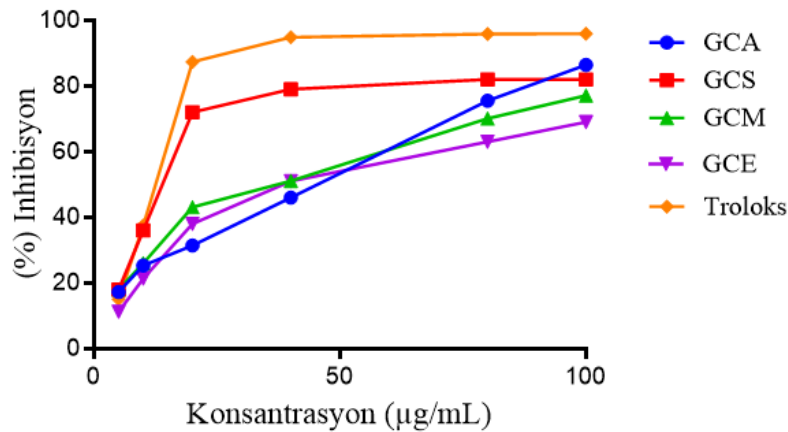
4.1. Ham Ekstrelerin Biyolojik Aktiviteleri

4.1.1. Antioksidan aktivite sonuçları

Çalışmamızda bitki ekstratlarının antioksidan gücünü belirlemek için yaygın olarak kullanılan DPPH ve demir indirgeme yöntemlerinden yararlanılmıştır.

4.1.1.1. DPPH' serbest radikal giderme aktivitesi

Farklı konsantrasyonda hazırlanan ekstratların serbest radikal giderme aktiviteleri, DPPH radikali üzerinden, troloks ile mukayese edilerek hesaplandı. Çalışma sonuçları Tablo 4.1'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre, toprak üstü ekstratlarında en yüksek DPPH radikali giderme aktivitesi sırasıyla GCS ($IC_{50}:1373\pm0,17 \mu\text{g/mL}$), GCA ($IC_{50}:34,14\pm0,4 \mu\text{g/mL}$), GCE ($IC_{50}:44,87\pm0,40 \mu\text{g/mL}$), GCM ($IC_{50}:48,79\pm0,12 \mu\text{g/mL}$) olarak belirlendi. Ekstrele ait aktivite değerleri standart olarak kullanılan troloks ile kıyaslandığında, standartta en yakın aktiviteyi su ekstresi gösterirken, diğer ekstratların troloksa göre daha yüksek IC_{50} değerleriyle daha düşük inhibisyon sergilediği belirlendi (Bkz. Şekil 4.1).



Şekil 4. 1. *G. cappadocicum* ekstratlarının DPPH radikal temizleme aktiviteleri

Glaucium türleri üzerine yapılan çalışmalar incelendiği zaman, *Glaucium acutidentatum* Hausskn. ve Bornm. metanol ekstresi için IC_{50} : $41,42 \pm 0,62 \text{ mg TE/g}$, *Glaucium grandiflorum*

var. *Grandiflorum* etanol ekstresi IC₅₀: 0,25 mg/mL metanol ekstresi IC₅₀: 0,055 mg/mL olarak belirlenmiştir (Önder vd., 2020; Yagi vd., 2024).

Yapılan çalışmalar alkaloit özlerinin güçlü antioksidan özelliklere sahip birincil bir doğal antioksidan kaynağı olabileceğini öne sürmüştür. Özellikle alkaloidlerin kloroform ekstresinin DPPH radikal temizleme için üstün sonuçlar sergilediği belirlenmiştir. İzokinolin alkaloitlerinin güçlü antioksidan potansiyelleri, azot atomlarındaki tek bir elektron çiftinin varlığına atfedilmektedir (Polterait, 1997). Ayrıca izokinolin alkaloitlerinde bulunan hidroksil grubunun antioksidan özelliklerini artırdığı da bildirilmiştir. Bu antioksidan aktivitenin anahtarı, alkaloit yapısındaki aromatik hidroksil grupları olarak belirtilmiştir (Macáková vd., 2019). Yapılan çalışmalarla izokinolin alkaloitlerinin hidroksil radikal temizleme kapasiteleri ile metal iyon şelatlama yetenekleri arasında güçlü bir korelasyon olduğunu, hidroksil ve metilendioksi gibi fonksiyonel grupların bu özellikleri artırdığını göstermiştir (Jang vd., 2009). Yine izokinolin alkaloidlerinden olan berberinin belirgin antioksidan ve şelatlama aktiviteleri sergilediğini belirlenmiştir (Shirwaikar vd., 2006; Niğdelioğlu vd., 2023).

Çalışmamızda su ekstresinden sonra en yüksek DPPH radikal temizleme aktivitesi alkaloid ekstresinde ve ardından etil asetat ve metanol ekstrelerinde belirlenmiştir. Bu anlamda sonuçlarımız bu çalışmalarla uyumlu olup, araştırılan alkaloitlerdeki hidroksil gruplarının antioksidan etkilerine katkıda bulunduğunu öne sürmektedir. Bu varsayımları doğrulamak için ileri basamaklarda izolasyon ve saflaştırma çalışmaları yapılarak alkaloid ekstresinin ihtiva ettiği alkaloidler belirlenerek antioksidan aktiviteye katkıları ortaya konulmuştur.

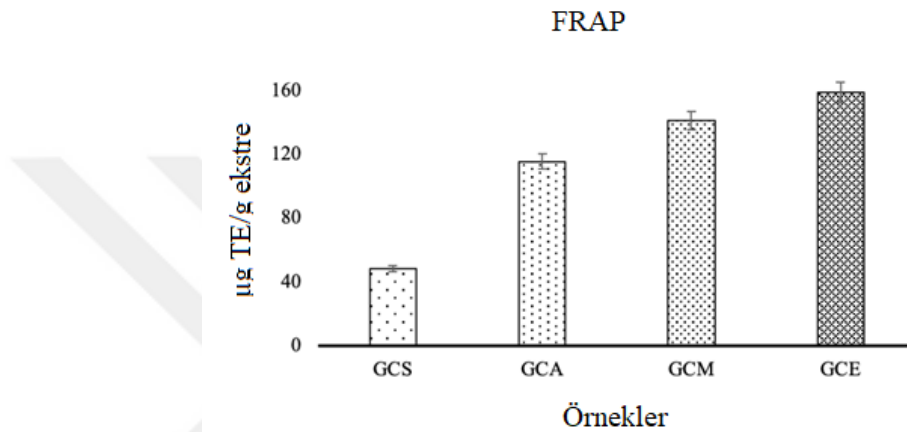
Tablo 4. 1. Bitki ekstrelerinin ve Troloks'un DPPH radikal giderme aktiviteleri

Örnek	DPPH IC ₅₀ (µg/mL)
GCH	-
GCE	44,87±0,40
GCM	48,79±0,12
GCS	13,73±0,17
GCA	34,14±0,40
Troloks	11,95±0,15

GCH: Hekzan ekstresi; GCE: Etil asetat ekstresi; GCM: Metanol ekstresi; GCS: Su ekstresi; GCA: Alkaloid ekstresi; Troloks: Standart madde

4.1.1.2. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme gücü aktivitesi

Ekstrelerin Fe^{3+} indirgeme gücü aktiviteleri, troloksun için hazırlanan standart grafik denklemi kullanılarak μg TE/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya ait sonuçlar Tablo 4.2’de verilmiştir. Ekstrelerin demir iyonlarını indirgeme gücü en yüksek aktiviteden en aza doğru sırasıyla; GCE ($159,17 \pm 1,40$ μg TE/g ekstre), GCM ($141,70 \pm 0,63$ μg TE/g ekstre), GCA ($115,39 \pm 0,20$ μg TE/g ekstre), GCS ($48,85 \pm 0,83$ μg TE/g ekstre) hesaplanmıştır.



Şekil 4. 2. *G. cappadocicum* ekstraktlarının demir indirgeme gücü aktiviteleri.

Glaucium türlerinin antioksidan özelliklerinin araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde *Glaucium acutidentatum* Hausskn. ve Bornm. metanol ekstresi için Fe^{3+} indirgeme aktivitesi $74,52 \pm 4,74$ mg TE/g olarak belirlenirken, *Glaucium flavum* etanol ekstresi için EC_{50} : 800 $\mu g/mL$ olarak belirlenmiştir (Boulaaba vd., 2019; Yagi vd., 2024). Sonuçlarımız literatürdeki tüm bu verilerle uyumluluk göstermektedir.

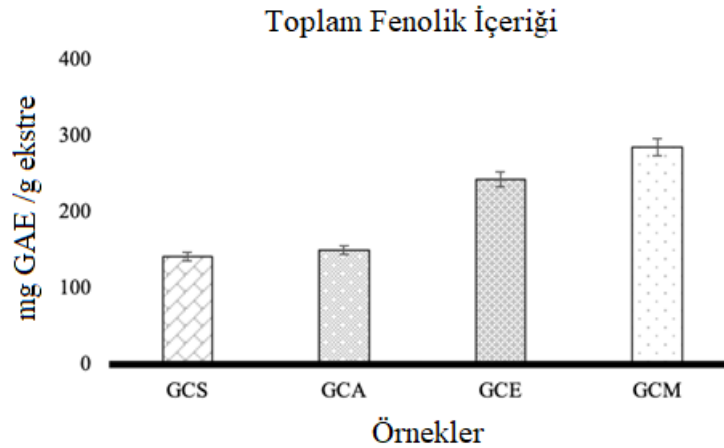
Tablo 4. 2. Bitki ekstratlarının demir indirgeme aktiviteleri

Örnek	Demir İndirgeme Gücü (μg TE/g ekstre)
GCH	-
GCE	159,171,40
GCM	141,70±0,63
GCS	48,85±0,83
GCA	115,39±0,20

GCH: Hekzan ekstresi; GCE: Etil asetat ekstresi; GCM: Metanol ekstresi; GCS: Su ekstresi; GCA: Alkaloid ekstresi; TE: Troloksa ait eşdeğeri

4.1.1.3. Toplam fenolik miktarı

Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak tayin edildi. Sonuçlar farklı derişimlerde hazırlanan gallik asitin kalibrasyon eğrisinin denklemi kullanılarak mg gallik aside eşdeğer fenolik madde/g ekstre olarak hesaplandı (Bkz. Şekil 4.3). Analiz sonucunda hesaplanan bitki ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri Tablo 4.3'te verilmiştir. Tablo 4.3'te ekstraktlar fenolik madde içeriği bakımından kıyaslandığında, en yüksek aktivite sırasıyla GCM ($285,04 \pm 0,71$ mg GAE/g ekstre), GCE ($243,19 \pm 1,89$ mg GAE/g ekstre), GCA ($149,67 \pm 0,12$ mg GAE/g ekstre), GCS ($140,96 \pm 0,14$ mg GAE/g ekstre) olarak belirlenmiştir. Beklendiği gibi, ekstraktlerdeki fenolik içerik miktarı çözücünün polaritesi ile doğru orantılı olarak artmıştır. Metanol ekstresi en yüksek fenolik içeriğini sahipken, su ekstresi metanol ekstresine kıyasla daha az miktarda fenolik içeriğe sahiptir. Bu, fenollerin çoğunun metanole kadar özütlenmesine ve bu nedenle çözücü olarak su kullanılarak özütlenecek çok fazla fenolik maddenin kalmamasına bağlanabilir.



Şekil 4. 3. *G. cappadocicum* ekstraktlarının toplam fenolik miktarlarına ait grafik

Glaucium flavum bitkisinin petrol eteri, etil asetat ve etanol ekstraktlarının toplam fenolik, flavonoid içeriklerinin belirlendiği ve antioksidan kapasitelerinin araştırıldığı bir çalışmada en yüksek fenolik içeriği $158,3$ mg GAE/g kuru ağırlık miktarı ile etanol ekstresinde belirlenmiştir. Ardından sırasıyla etil asetat ve petrol eteri izlemiştir ($132,72$ ve $96,24$ mg GAE/g kuru ağırlık) (Boulaaba vd., 2019). *Glaucium acutidentatum* Hausskn. ve Bornm bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanol ve sulu özütleri üzerine yapılan başka bir çalışmada en yüksek toplam fenolik içeriğinin ($53,22 \pm 0,10$ mg GAE/g) metanol özütünden elde edildiği belirtilmiştir (Yagi

vd., 2024). İran'da farklı coğrafi bölgelerden *G. mathiolifolium*, *G. pulchrum*, *G. integrima*, *G. elegans*, *G. pulchrum* türleri toplanarak meyve, kök ve toprak üstü kısımlarındaki toplam fenolik içeriğini belirlenmiştir. Çalışmada, toplam fenolik madde içeriği, 23,89 ila 77,6 mg GAE/g kuru ağırlık bitki olarak bulunmuştur (Shaghaghi vd., 2019).

Çalışmamızda fenolik madde içeriği bakımından en yüksek değer metanol ekstresinde belirlenmiştir (Bkz. Tablo 4.3). Bu anlamda çalışmamız literatür ile uyumludur. Bitkimiz diğer türleri ile karşılaştırıldığında fenolik içerik bakımından daha zengin bulunmuştur. Bu sonuç da genetik çeşitlilik, bitkinin yaşı, farklı çevre koşulları ve hasat mevsimi ile çözücü ekstraksiyon ve ekstraksiyon işleminin türü dahil olmak üzere birçok faktörden etkilendiğini doğrulamaktadır.

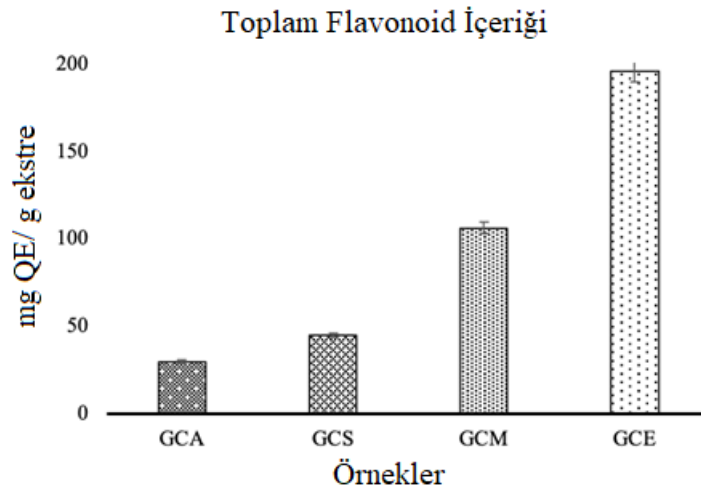
Tablo 4. 3. Bitki ekstratlarının toplam fenolik miktarları

Örnek	TFM GAE mg/ g ekstre
GCH	-
GCE	243,19±1,89
GCM	285,04±0,71
GCS	140,96±0,14
GCA	149,67±0,12

GCH: Hekzan ekstresi; GCE: Etil aetat ekstresi; GCM: Metanol ekstresi; GCS: Su ekstresi; GCA: Alkaloid ekstresi; GAE: Gallik ait eşdeğeri

4.1.1.4. Toplam flavonoid miktarı

Ekstrelerin ihtiva ettiği flavonoid madde miktarları, standart olarak kullanılan kuersetinin kalibrasyon eğrisinin denklemi kullanılarak mg kuersetine eşdeğer flavonoid/g ekstre hesaplandı. Çalışma sonucunda ekstratlarının toplam flavonoid içerikleri Tablo 4.4'de verilmiştir. Sonuçlara bakıldığı zaman çözücü polaritesi orta polariteye (yani etil asetat) yükseldikçe flavonoidlerin içeriğinde artış gözlemlenmiştir. Etil asetat kullanımının suya kıyasla neredeyse üç kat daha yüksek flavonoid içeriğiyle sonuçlanması dikkat çekicidir. Çözücünün (yani metanol ve su) polaritesindeki daha fazla artış, ilgili ekstratların flavonoid içeriğinde bir azalmaya neden oldu. Bu, hem flavonoidlerin daha düşük polaritesine, orta polaritedeki çözücülerle daha iyi ekstraksiyona işaret ettiği gibi, hem de etil asetat ile ekstraksiyonunun artmasına bağlanabilir.



Şekil 4. 4. *G. cappadocicum* ekstraktlarının toplam flavonoid miktarlarına ait grafik

Glaucium flavum bitkisinin petrol eteri, etil asetat ve etanol ekstraktlarının toplam flavonoid içeriklerinin belirlendiği bir çalışmada en yüksek flavonoid içeriği, petrol eteri (128,43 mg CE/g DR)'de gözlenirken, ardından etil asetat ve etanol (sırasıyla 85,05 ve 36,7 mg CE/g DR) ekstraktları gelmektedir (Boulaaba vd., 2019). *Glaucium acutidentatum* Hausskn. ve Bornm.'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ve su ekstraktlarının kimyasal bileşenlerini belirlendiği başka bir çalışmada en yüksek toplam flavonoid içeriğinin $30,28 \pm 0,51$ mg RE/g değeri ile elde edilen metanol özütlerinden elde edilmiştir (Yagi vd., 2024). Çalışmamızda fenolik madde içeriği bakımından en yüksek değer etil asetat ekstresinde belirlenmiştir (Bkz. Tablo 4.4). Bu anlamda çalışmamız diğer *Glaucium* türlerine göre flavonoid içeriği olarak daha zengin bulunmuştur. Bu farklılık genetik çeşitlilik, çevresel koşullar, hasat mevsimi ile kullanılan çözücülerin özellikleri ve ekstraksiyon işleminin türü gibi birçok faktörden etkilenebilmektedir.

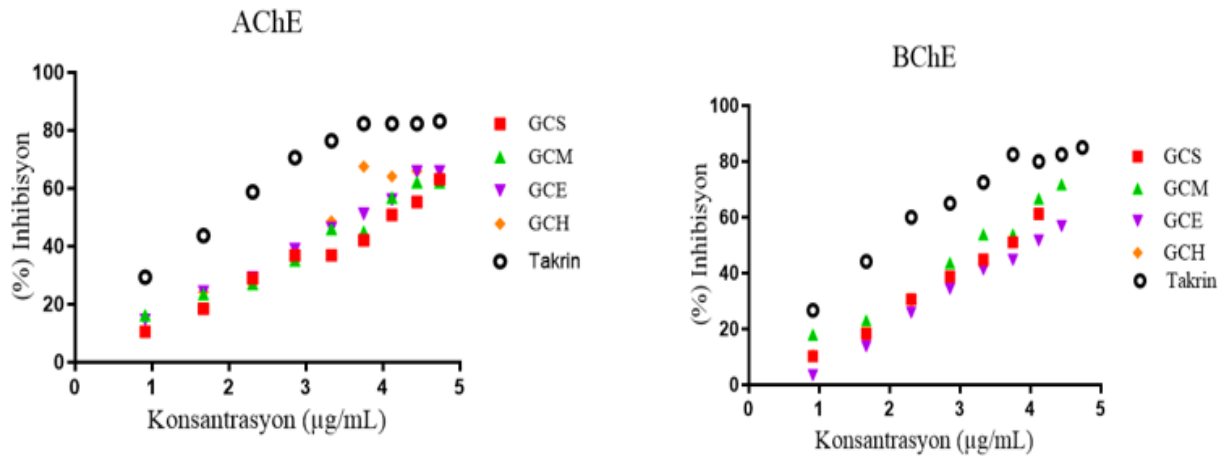
Tablo 4. 4. Bitki ekstraktlarının toplam flavonoid miktarları

Örnek	TF mg QE / g ekstre
GCH	-
GCE	195,52±0,70
GCM	106,47±1,03
GCS	44,57±0,43
GCA	29,57±0,14

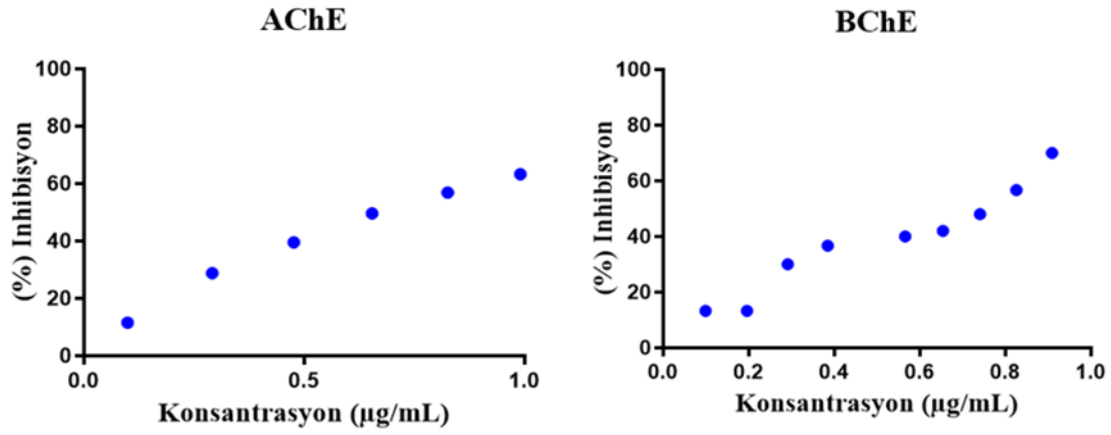
GCH: Hekzan ekstresi; GCE: Etil asetat ekstresi; GCM: Metanol ekstresi; GCS: Su ekstresi; GCA: Alkaloid ekstresi; QE: Kuersetine ait eşdeğeri

4.1.2. Antikolinesteraz aktivite sonuçları

Bitkilerde aktiviteden sorumlu bileşiklerin belirlenmesi ve akabinde saflaştırma çalışmalarının gerçekleştirilebilmesi için ekstrelerin antikolinesteraz enzim inhibisyon çalışmaları yapıldı. En yüksek aktiviteye sahip ekstreler tespit edildi. İnhibisyon denemelerinde alzheimer tedavisinde kullanılan, bir antikolinesteraz inhibitörü olan takrin pozitif kontrol olarak kullanıldı (Bkz. Şekil 4.5-4.6). Analiz sonucunda bitki ekstrelerinin antikolinesteraz aktiviteleri Tablo 4.5'te özetlendi. Çalışmada antikolinesteraz enziminin inhibitörü olarak kullanılan takrinin AChE ve BChE için IC₅₀ değerleri sırasıyla 3,19 ve 2,54 µg/mL olarak hesaplandı. Tablo 4.5'te ekstreler için kıyaslama yapıldığında, tüm ekstreler içerisinde en yüksek aktiviteyi alkaloid ekstresi göstermiştir. Alkaloid ekstresi hem AChE hem de BChE enzimleri üzerinde standart ilaç olan takrinle kıyaslandığında çok daha yüksek aktivite göstermiştir. Ayrıca bitkinin hekzan, etil asetat, metanol ve su ekstreleri de takrine oldukça yakın aktivite göstermiştir.



Şekil 4. 5. *G.cappadocicum* ekstrelerinin için AChE/BChE (%) inhibisyon grafiği



Şekil 4. 6. *G.cappadocicum* alkaloid ekstresi için AChE/BChE (%) inhibisyon grafiği

G. corniculatum subsp. *refractum*'un alkaloidal özütünün antikolinerjik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, AChE enzimi üzerinde 1,25 µg/mL'lik bir IC₅₀ değeriyle güçlü bir inhibisyon aktivitesi ve 7,02 µg/mL'lik bir IC₅₀ değeriyle BChE enzimi üzerinde inhibisyon aktivitesi gösterdiğini ortaya koydu. *G. corniculatum* subsp. *refractum* özütünde allocryptopin, protopin ve kanadin en yüksek orana sahip alkaloidler olarak belirlenmiştir. Önceki biyolojik aktivite çalışmaları göz önüne alındığında, allocryptopin, protopin ve kanadin gibi bileşiklerin literatürde güçlü bir AChE inhibitörü olduğu raporlanmıştır (Bozkurt vd., 2022). *G. grandiflorum* var. *grandiflorum* metanol özütünün AChE enzimi üzerindeki inhibisyon etkisi EC: 0,12 ± 0,01 mg/mL iken galantamin için EC: 7,07 ± 0,5 µg/mL olarak belirlenmiştir (Ozsoy vd., 2018). *G. corniculatum* ve *G. acutidentatum* türlerinin antikolinesteraz aktivite çalışmalarında su ve metanol özütlerinin doza bağlı bir şekilde AChE üzerinde inhibitör etkisi gösterdiği belirlenmiştir.

Sonuçlar, 1000 µg/mL' de *G. corniculatum* metanol özütü daha yüksek bir AChE inhibitör etkisi (%90±2) ve *G. acutidentatum* su özütü 1000 µg/mL' de daha düşük bir AChE inhibitör etkisi (%78±1) göstermiştir (Kocanci vd., 2017). Çalışmamız literatür verileriyle uyumlu olup, sonuçların güçlü antikolinesteraz özelliklere sahip bileşiklerin önemli bir kaynağı olduğunu göstermektedir.

Tablo 4. 5. *G. cappadocicum* ait ekstreler için AChE ve BChE enzimleri üzerindeki IC₅₀ inhibisyon değerleri

İnhibitör	IC ₅₀ (µg/mL)			
	AChE	R ²	BChE	R ²
GCH	3,27	0,8741	4,15	0,9665
GCE	3,48	0,9660	3,81	0,9294
GCM	3,74	0,9499	2,92	0,9409
GCS	4,05	0,9574	3,65	0,9576
GCA	0,55	0,9850	0,65	0,9353
Takrin	3,19	0,9896	2,54	0,9878

GCH: Hekzan ekstresi, GCE: Etil asetat ekstresi, GCM: Metanol ekstresi, GCS: Su ekstresi, GCA: Alkaloid ekstresi, Takrin; referans inhibitör ilaç.

4.1.3. Antiproliferatif aktivite sonuçları

Ekstrelerin 250 µg/mL konsantrasyondaki antiproliferatif aktivite çalışmaları XTT testi ile MDA-MB-453 (insan meme kanseri), MCF-7 (insan meme kanseri), A549 (insan akciğer kanseri), PC3 (insan prostat kanseri) ve HT-29 (insan kolon kanseri) hücre hattı üzerinde incelendi. Hekzan ekstresi çözünme problemi sebebiyle antiproliferatif aktivite çalışmalarında değerlendirilemedi.

XTT çalışma sonucunda MDA-MB 453 insan meme kanseri hücre hattında %89'luk inhibisyon ile en yüksek aktiviteyi metanol ekstresi sergilemiştir. MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı için en yüksek aktivite %80'lik inhibisyonu ile alkaloid ekstresinde gözlenirken bunu takiben %49'luk inhibisyon ile etil asetat ekstresi, %44'lük inhibisyonu ile su ekstresi izlemektedir. A549 insan akciğer kanser hücresi üzerine yapılan antiproliferatif aktivite sonucunda ekstreler için anlamlı bir inhibisyon bulunamamıştır. PC-3 insan prostat kanseri hücre hattı için denenen tüm ekstreler antiproliferatif özellik göstermiş olup, değerler birbirine oldukça yakındır. HT-29 kolon kanseri hücre hattı için XTT sonuçları etil asetat, metanol ve su ekstresinin yakın inhibisyon sonuçlarıyla iyi birer antiproliferatif aktivite sergilediğini gösterirken, en yüksek antiproliferasyonu %70 inhibisyonu ile alkaloid ekstresi sergilemiştir. Ekstrelerin farklı hücre hatları üzerindeki antiproliferatif aktivite değerleri Tablo 4.6' da verilmiştir.

Tablo 4. 6. Bitki ekstrelerinin farklı hücre hatları üzerindeki %inhibisyon değerleri

% İnhibisyon (250 µg/mL)					
İnhibitör	MDA-MB-453	MCF-7	A549	PC-3	HT-29
GCH	*	*	*	*	*
GCE	7	49	23	59	61
GCM	89	15	11	60	62
GCS	14	44	-	62	62
GCA	*	80	14	*	70

MDA-MB 453 (meme kanser hücre hattı); MCF-7 (meme kanser hücre hattı); A549 (akciğer kanser hücre hattı); PC-3 (prostat kanseri hücre hattı); HT-29 (kolon kanser hücre hattı)

*(-) ile gösterilenlerde herhangi bir inhibisyon gözlemlenmemiştir.

() ile gösterilenlerde deneme yapılamamıştır.

G. acutidentatum ve *G. corniculatum* su ve metanolden hazırlanan alkaloid özütlerinin HT-29 ve HeLa kanser hücre hattındaki anti-proliferatif aktivitesinin araştırıldığı çalışmada, *G. acutidentatum*'un metanol özütü, 1000 µg/mL' de HT-29 hücrelerine karşı hücre canlılığında %55±5 azalma ile orta düzeyde aktivite sergilemiştir. Hem metanol hem de su özütlerinin, 1000 µg/mL dozunda HeLa hücrelerinde maksimum antiproliferatif etki göstererek hücre canlılığında %64±3 azalma sağlamıştır. Metanol özütleri her iki hücre hattı üzerinde de su özütlerinden daha fazla antiproliferatif aktivite göstermiştir (Kocanci vd., 2017). *Glaucium flavum* crantz ve *Glaucium grandifluom* Boiss.'in alkaloid özütlerinin sitotoksik etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada, *Glaucium flavum* alkaloid ekstraktının en iyi sitotoksik etkisi HT-29 hücre hattı üzerinde IC₅₀ :22 µg/mL ile belirlenirken, *Glaucium grandifluom* ekstraktının aynı hücre hattı üzerinde IC₅₀ :30 µg/mL olarak belirlenmiştir (Haji vd., 2013).

Glaucium flavum özütünün A549 kanser hücreleri üzerindeki apoptozis indüksiyonunun fosfoinozitol 3-kinaz (PI3K) inhibitörü olan S14161 molekülü ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, *G. flavum* özütünün hücre ölümünü ve kanser hücresi canlılığını S14161 molekülüne göre daha fazla azalttığını göstermiştir. *G. flavum*' un kanser hücreleri üzerindeki ölümcül etkisi içerdiği alkaloit bileşiklerine atfedilmiştir. Bu nedenle, *G. flavum*' un akciğer kanserinin tedavisi için ilaç adayı olarak önerilmiştir (Kalantari vd., 2021).

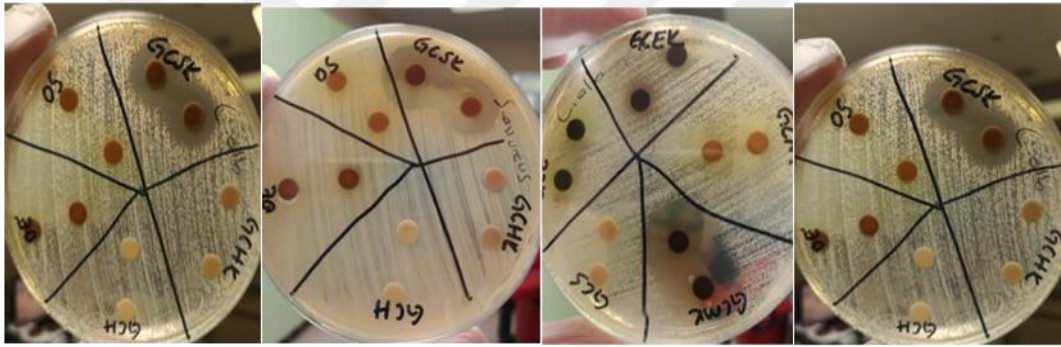
Yapılan literatür araştırması sonucunda *G. flavum* bitkisinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstreleri için çeşitli hücre hatları üzerinde antiproliferatif potansiyellerinin araştırıldığı belirlenmiştir. Bitkinin etil asetat ekstresi MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde, IC₅₀: 135 (Boulaaba vd., 2019), diklorometan ekstresi MDA-MB-435, MDA-MB-231 ve Hs578T hücre hatları üzerinde IC₅₀: 7.9–13,6 µg/mL (Bournine vd., 2013), metanol ve alkaloid özütleri ise

HT-29, IC₅₀ :22,32 µg/mL; Caco-2, IC₅₀: 52,8 µg/mL (Haji vd., 2013) hücre hatları üzerinde güçlü sitotoksik etkiler sergilemiştir (Mohammed vd., 2023).

Tüm bu sonuçlar ve çalışma bulgularımız *Glaucium* türlerinin özellikle alkaloid ekstraktlarının benzer sitotoksik potansiyellere sahip olduğunu göstermektedir. Bu sebeple önceki ve mevcut çalışmalar, alkaloidlerin kanser kemoterapisi için yeni ve umut verici ajanlar olarak değerlendirilmesine katkı sağlamaktadır.

4.1.4. Anmikrobiyal aktivite sonuçları

G. cappadocicum bitkisinin etil asetat, metanol, su ve alkaloid ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite testleri 7 standart bakteri ve bir klinik izolat mantarı (*Candida albicans*) üzerinde disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir.



Şekil 4. 7. *G. cappadocicum* ekstraktları için antimikrobiyal aktivite sonuçları

Çalışma sonucunda bitkinin alkaloid ekstresinin *S. aureus*, *S. pneumoniae* ve *Cd.alb.* üzerinde önemli derecede inhibisyon sergilediği belirlenmiştir (Bkz. Şekil 4.7). Metanol ve su ekstraktları *S. aureus* ve *Cd. albicans* üzerinde etkili olurken, etil asetat ekstresi sadece *S. aureus* üzerinde inhibisyon sergilemiştir. Tablo 4.7’de gösterildiği gibi ekstraktların bakteriler üzerindeki inhibisyon alanları üçer tekrar yapılarak sonuçlar mm ± SD olarak verilmiştir.

Tablo 4. 7. *G. cappadocicum* ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları

Standart Suşların Zon Alanları (mm±SD)				
İnhibitör/Standart	Konsantrasyon (mg/disk)	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>C. albicans</i>
GCA	4	13,6±0,23	12,3±0,57	13,0±0,57
GCE	4	10,5±0,57	-	-
GCM	4	10,5±0,20	-	10,0±0,21
GCS	4	-	-	-
Kontrol	mgc/disk			
Eritromisin	15	21,3±0,57	-	-
Vankomisin	5	-	25,3±0,57	-

*(-) ile gösterilenlerde herhangi bir inhibisyon gözlemlenmemiştir.

GCH: Hekzan ekstresi, GCE: Etil asetat ekstresi, GCM: Metanol ekstresi, GCS: Su ekstresi; GCA: Alkaloid ekstresi, Eritromisin: Gram-pozitif bakteri grubu antibiyotığıdır. Vankomisin: Gram- pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bir antibiyotiktir.

Glaucium alakirensis bitkisinin bakteri ve mantarlar üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, test bakterileri olarak *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* kullanılırken, *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* test mantarları olarak kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite testleri, *G. alakirensis* etanol özütlerinin 50 µg/mL konsantrasyonda *E. coli*, *C. albicans* ve *C. tropicalis*' e karşı etkili olduğu belirlenmiştir. 100 µg/mL konsantrasyonda *S. aureus* ve *E. faecalis*' e karşı etkili olurken, 200 µg/mL konsantrasyonda *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Özcandır vd., 2024).

Türün diğer üyelerinden *G. grandiflorum* Boiss. A. Huet, *G. oxylobum* Boiss. & Buhse ve *G. paucilobum* türlerinin metanol ve kloroform özütleri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*' ye karşı etkili olduğu bulunmuştur (Morteza-Semnani vd., 2005). *G. grandiflorum* var. *grandiflorum* metanol özütünün *Candida krusei*'ye karşı etkili olduğu bildirildi (Tosun vd., 2006). *G. elegans* metanol özütlerinin *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus anthracis* ve *Proteus* türlerine karşı etkili olduğu bildirildi (Soureshjani ve Heidari, 2014). Ayrıca, *G. vitellinum* Boiss. & Buhse türlerinin alkaloid fraksiyonunun *S. typhimurium*' a karşı aktif olduğu gösterilmiştir (Mehrara vd., 2017).

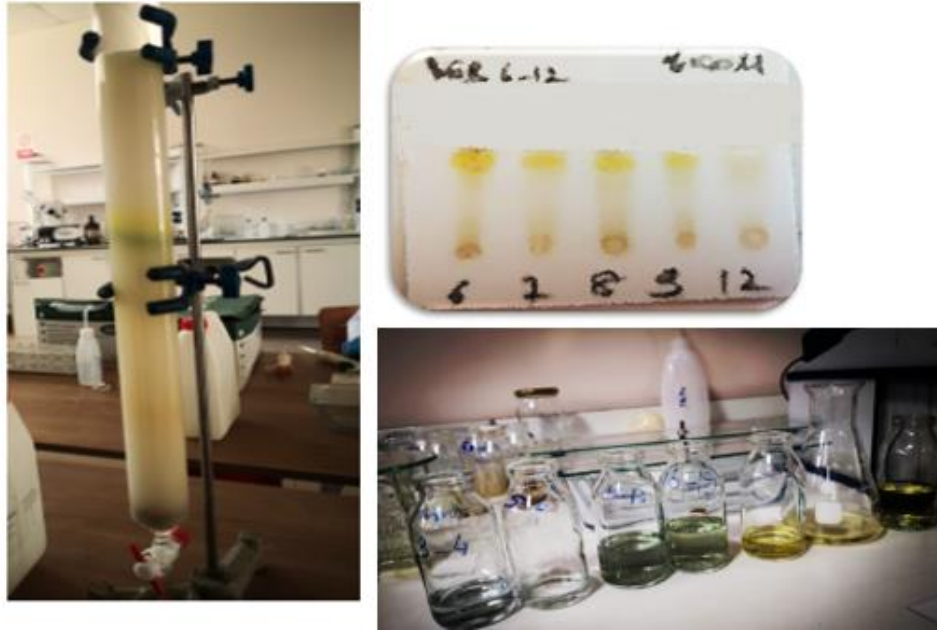
Ekstreler üzerine yapılan biyolojik aktivite testleri, bu ekstrelerin antioksidan, antikolinesteraz, antiproliferatif ve antimikrobiyal yönden aktif olan sekonder metabolit ya da metabolitlerce zengin olduğunu göstermektedir. Bu adımdan sonra biyolojik aktiviteden sorumlu olan sekonder metabolitlerin saflaştırılması için izolasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

G. cappadocicum'dan hazırlanan ekstreler çalışılan tüm biyolojik aktivite testlerinde anlamlı sonuç verdiği için bitkinin tek bir ekstresinin hazırlanarak izolasyon çalışmalarının bu ekstre üzerinden yürütülmesi planlandı. Kromatografik ayırım için, bitkinin toprak üstünden hazırlanan metanol ekstresi (24 g) ilk fraksiyonlandırma ve ön ayırım çalışmaları flash kromatografisinde C18 (ters faz) kolon kullanılarak gerçekleştirildi. Mobil faz olarak ise su-metanol (100:0→0:100) çözücü gradienti kullanılırken, kolon olarak Ecoflex 330 g hazır C18 kolonu kullanıldı. Piklerin seçiciliği için UV 330, 280 ve 254 nm aralıkları seçildi (Bkz. Şekil 4.8). Çalışma sonucunda yaklaşık 22 fraksiyon toplandı ve etil asetat: metanol (1:1) çözücü sisteminde İTK ile analizleri gerçekleştirildi. Rf değeri benzer olan fraksiyonlar birleştirildi (Bkz. Şekil 5.1). Birleştirme işlemleri sonucunda; Fr. 1-6 (GC-1), Fr. 7-12 (GC-2), Fr. 13-18 (GC-3), Fr. 18-22 (GC-4) birleştirilerek toplam 4 alt fraksiyon elde edildi.



89

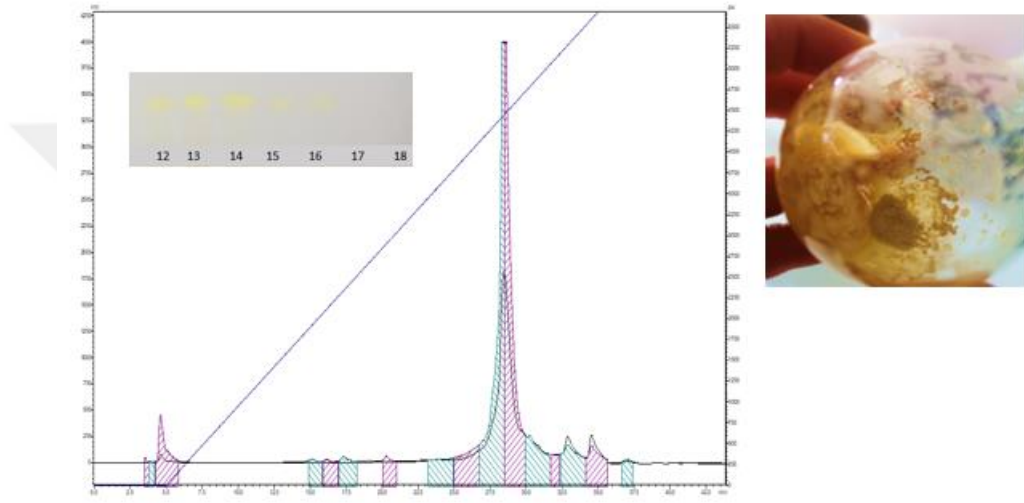
20 tekniği ile saflaştırma işlemine tabi tutuldu. Sefadeks LH-20 dolgu maddesi bir gece metanol ile şişirildi ve hava kabarcığı kalmayacak şekilde kolona paketlenildi. Kolonun şartlanması için belirli bir süre kolondan metanol geçirildi. Metanol ile çözülen GC-2 (7-12. Fr) izole edilmek üzere kolona tatbik edildi. Hareketli fazın akış hızı stabil ve yavaş olacak biçimde ayarlanarak 15 mL'lik hacimlerde 85 fraksiyon toplandı. Mobil faz evaporatör ile uzaklaştırıldıktan sonra fraksiyonların İTK ile kontrolleri gerçekleştirildi. Rf değeri benzerlik gösteren fraksiyonlar birleştirildi. Çalışma sonucunda UV sinyallerine göre; 17-27, 38-42, 43-60, 61-74, 75-78, 79-85 birleştirilerek toplam 6 alt fraksiyon elde edildi. 43-60, 61-74, 75-78 ve 79-85 alt fraksiyonları haricindeki diğer fraksiyonlarda anlamlı bir sinyal belirlenemediği için izolasyon işlemlerine bu fraksiyonlar üzerinden devam edildi. 43-60 fraksiyonun izolasyonu için preparatif HPLC kullanıldı. Hareketli faz olarak metanol-su gradient sistemi kullanıldı (%30 metanol-su, %50 metanol-su, %100 metanol). Toplanan fraksiyonların İTK ile kontrolünün ardından benzer Rf değerine sahip olanlar birleştirildi. 43-60 fraksiyonundan alkaloid yapısındaki **BGB-6** "Salutaridin (45 mg)"(Bkz. Şekil 4.9)., **BGB-8** "Norizokoridin (4 mg)", **BGB-9** "Norglausin (3 mg)" saf olarak elde edildi.



Şekil 4. 9. BGB-6 (Salutaridin) molekülüne ait İTK görünümü

61-74 fraksiyonu sefadeks LH-20 kolonuna tatbik edilerek metanol ile elüe edildi. Fraksiyonların İTK ile incelemesinin ardından benzer olanlar birleştirildi. 61-74 fraksiyonundan bir alkaloid bileşiği olan **C-17** "İzokoridin (50 mg)" saf olarak elde edildi. 75-

78 fraksiyonu için C-18 kolon kullanılarak HPLC cihazında preparatif ayırım yapıldı. Numune prep-HPLC cihazına 2 mL hacime metanol: su sisteminde çözülüp 0,45 µm'lık filtreden süzüldü. Uygun metot geliştirildikten sonra (akış hızı: 8 mL/dk, analiz süresi: 60 dakika, UV 280 ve 330 nm, kolon sıcaklığı: 25 °C) fraksiyon cihaza enjekte edildi ve çalışmada ikili gradient olarak %30 metanol-su ile başlanarak kademeli olarak metanol miktarı arttırıldı. Cihazın programından tüp hacmi 15 mL'ye ayarlandıktan sonra fraksiyonlar tüplere toplandı ve elde edilen fraksiyonların İTK ile analizleri yapıldı. Analiz sonucunda 9-10.fraksiyonların flavonoid türevi olan **GC-1** "Rutin (100 mg)" bileşiği saf olarak izole edildi (Bkz. Şekil 4.10).



Şekil 4. 10. GC-1 (Rutin) molekülünün izolasyonuna ait çalışma bulguları

79-85 fraksiyonu için HPLC cihazında C-18 kolon kullanılarak preparatif ayırım yapıldı. Numune prep-HPLC cihazına son hacim 2 mL olacak şekilde su ile çözülüp 0,45 µm'lık gözenek büyüklüğüne sahip filtrede süzüldü. Uygun metot geliştirildikten sonra (akış hızı: 8 mL/dk, analiz süresi: 30 dakika, UV 280 ve 330 nm, kolon sıcaklığı: 25 °C) fraksiyon cihaza enjekte edildi ve çalışmada ikili gradient olarak (100:0→0:100) su-metanol ile başlanarak kademeli olarak metanol miktarı arttırıldı. Fraksiyonların İTK ile analizleri yapıldı. Analiz sonucunda bir şeker olan **GH-58** "Sükroz (1.62 g)" bileşiği saf olarak izole edildi (Bkz. Şekil 4.11).



Şekil 4. 11. İzolasyon sonucu elde edilen süktroz molekülüne ait kristaller

Alkaloid ekstresi İTK sonucuna göre silika jel kolonu kullanılarak saflaştırma işlemine tabi tutuldu. Numune etil asetatda çözüldükten sonra hekzan ile şartlandırılan kolona yüklendi. Hekzan- etil asetat gradient elüsyonu ile toplam beş fraksiyon elde edildi. İTK sonuçları doğrultusunda saf olan iki numunenin yapı aydınlatma çalışmaları için NMR spektroskopisi ile analizi yapıldı (Bkz. Şekil 4.12). Analiz sonucunda bir alkaloid türevi olan **BG-2** "Korytüberin (2,5 mg)" ve **BG-19** "Glausin (4 mg)" bileşikleri izole edildi.

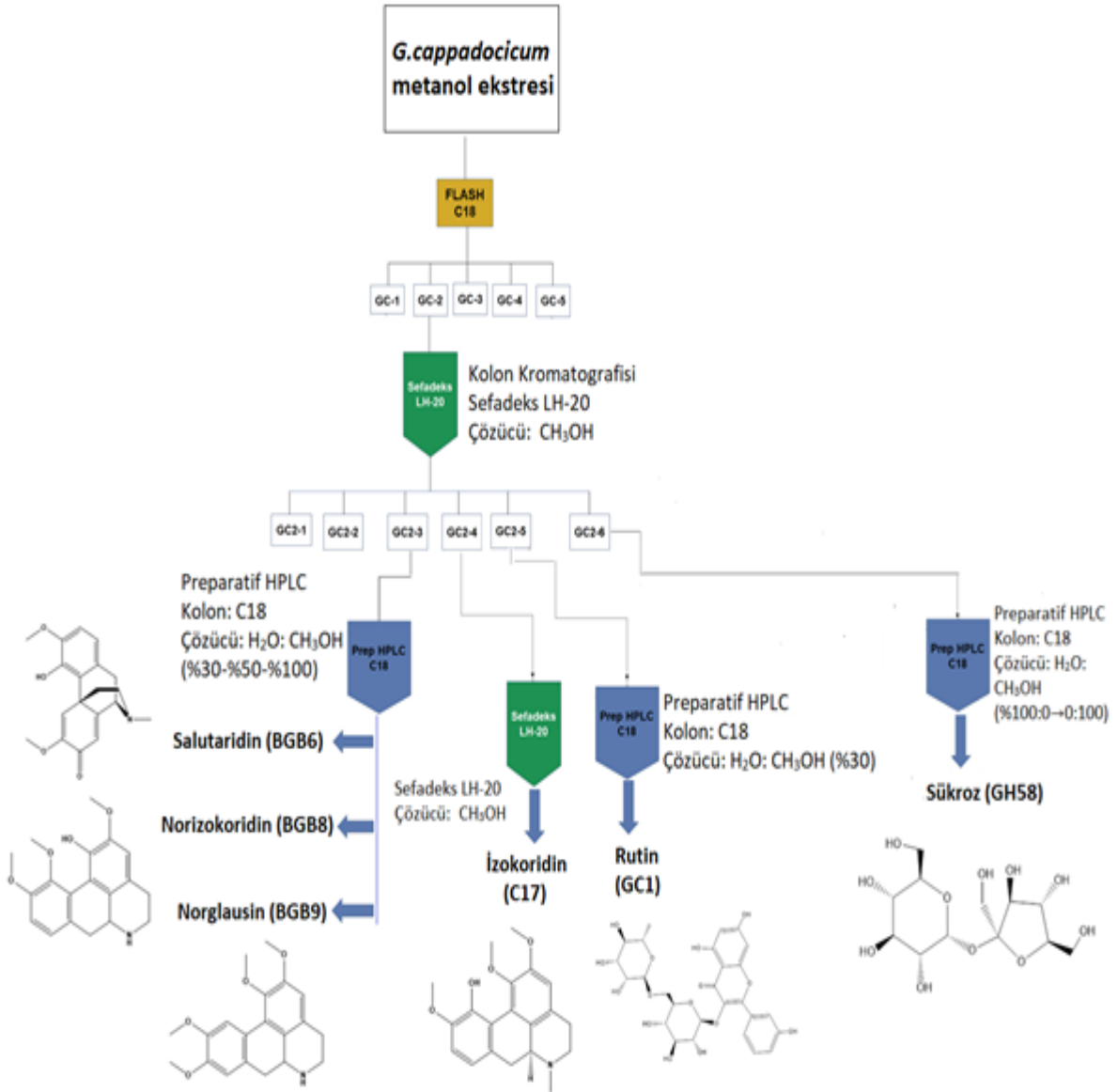


Şekil 4. 12. Alkaloid ekstresine ait izolasyon çalışmaları

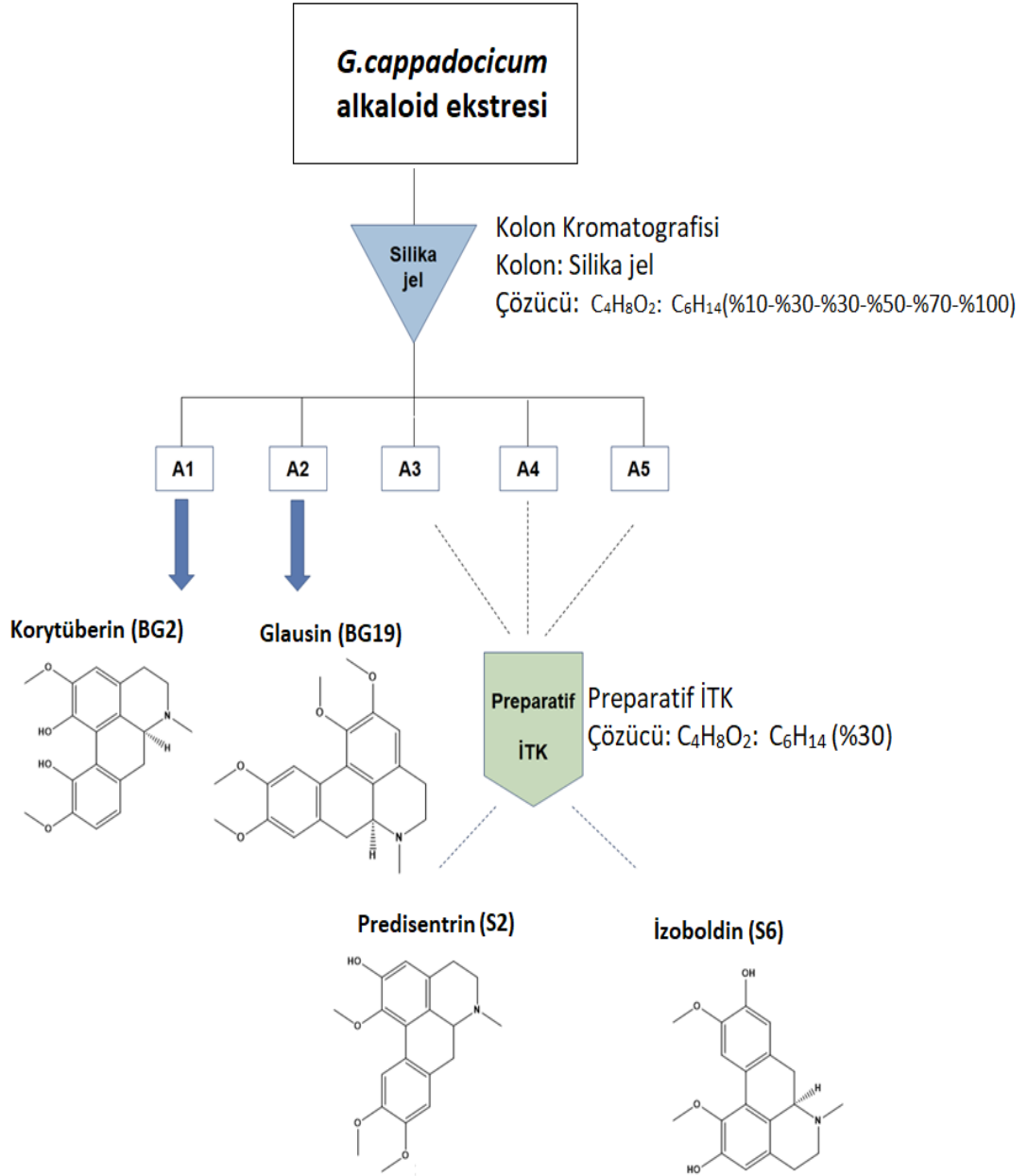
Silika kolon kromatografisi ile ayrılamayan fraksiyonlar için preparatif ince tabaka kromatografisi kullanılarak saflaştırma işlemine devam edildi. Karışım halinde bulunan fraksiyon İTK plağına tatbik edildi ve uygun çözücü sistemleri kullanılarak yürütüldü. Yürütme sonunda plak UV (254 nm) ışığı altında alınarak maddelere ait olan bantlar işaretlendi. Ardından bantlar dikkatli bir şekilde kazınarak erlenlere aktarıldı. Uygun çözücü ile erlenle 15–30 dakika bekletilen maddeler silikadan ayrılması için süzüldü (Bkz. Şekil 4.13). Elde edilen fraksiyonların NMR spektroskopisi ile analizi sonucunda bir alkaloid türevi olan S-2 "Predisentrin (1.5 mg)" ve S-6 "İzoboldin (4 mg)" bileşikleri izole edildi.



Şekil 4. 13. Preparatif İTK ile alkaloid izolasyon çalışmaları



Şekil 4. 14. *Glaucium cappadocicum* ekstraktları için izolasyon prosesleri

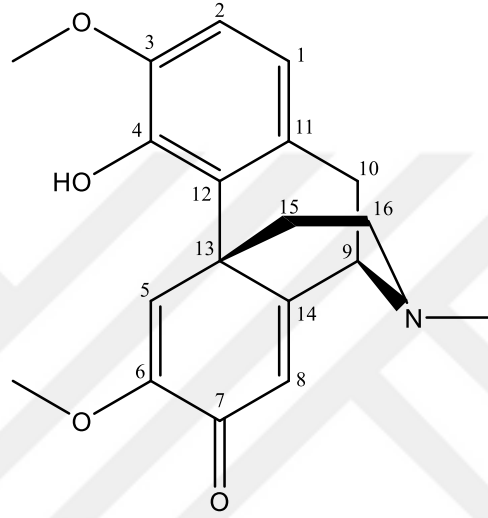


Şekil 4. 15. *Glaucium cappadocicum* ekstraktları için izolasyon prosesleri

4.3. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini

Salutaridin (BGB-6): Afyon haşhaşından elde edilen ve 5,6,8,14-tetradehidromorfinan-7-on iskeletinin 4 konumunda bir hidroksil grubu, 3 ve 6 konumlarında metoksi grupları ve N-17 konumunda metil grubu bulunduran bir morfinan alkaloididir. Floripavine olarak da bilinen salutaridin 327,4 g/mol molekül ağırlığı ve C₁₉H₂₁NO₄ molekül formülüne sahiptir. İzolasyon

ve saflaştırma çalışmamızda bu bileşik kahverengi katı formda elde edildi ve MeOH-*d*₄ ile çözülerek NMR spektrumları kaydedildi. *Glaucium cappadocicum* bitkisinden ilk kez izole edilen Salutaridin daha önce *Glaucium vitellinum*, *Glaucium flavum*, *Croton balsamifera* Jacq., *Papaver somniferum* gibi çeşitli bitki türlerinden izole edilmiştir (Chambers vd., 1966; Doncheva vd., 2016; Hodges vd., 1982; Nikolova vd., 2018; Shafiee vd., 1979). Bileşiğe ait spektrumlar EK-(1-6)'de, bileşiğin kimyasal yapısı Şekil 4.16' da, ¹H ve ¹³C-NMR verileri Tablo 4.8'de kimyasal kayma değerleri ise aşağıda verilmiştir.



Şekil 4. 16. Salutaridin (BGB-6)bileşiğinin kimyasal yapısı

¹H-NMR (400 MHz, MeOH-*d*₄) δH 7,86 (s, 1H, H8), 6,85 (d, 1H, H1), 6,67 (d, 1H, H2), 6,35 (s, 1H, H5), 3,86 (s, 3H, OCH₃), 3,80 (d, 1H, H9), 3,75 (s, 3H, OCH₃), 3,33 (m, 1H, H10_α), 3,01 (ddd, 1H, H10_β), 2,65-2,47 (m, 1H), 2,44 (s, NCH₃), 1,72 (dt, 1H, H15_α), 2,46 (m, 1H, H15_β).

¹³C-NMR (100 MHz, MeOH-*d*₄) δ=181,93 (C-7), 163,38 (C-14), 150,41 (C-6), 146,62 (C-3), 144,15 (C-4), 128,75 (C-11), 123,69 (C-12), 122,29 (C-8), 121,67 (C-5), 118,19 (C-1), 110,18 (C-2), 60,81 (C-9), 55,34 (3-OCH₃), 53,93 (6-OCH₃), 46,58 (C-16), 43,85 (C-13), 40,25 (NCH₃), 36,78 (C-15), 32,21 (C-10). ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (MeOH-*d*₄ 400 MHz, MeOH-*d*₄ 100 MHz): Tablo 4.8.

Tablo 4. 8. Salutaridin bileşiğinin ^1H ve ^{13}C -NMR verileri

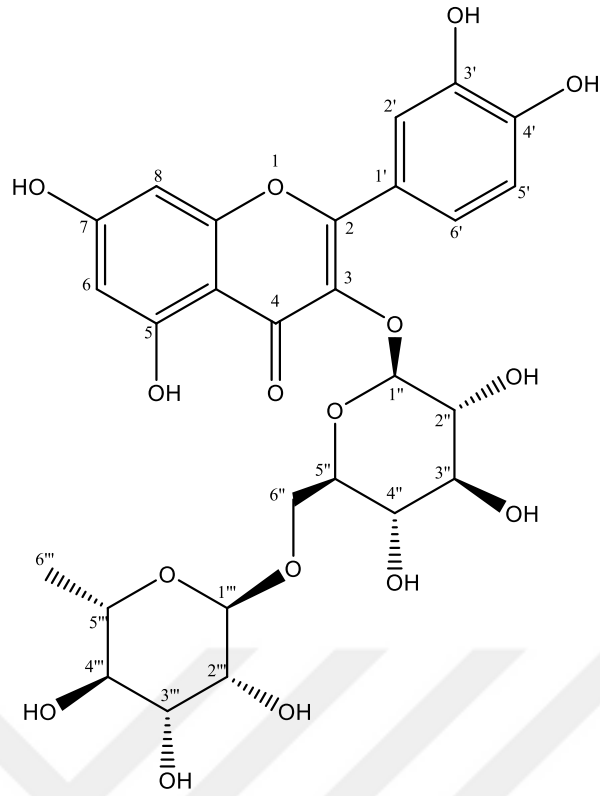
No	^1H -NMR	^{13}C -NMR
1	6,67 (d, 1H)	118,19
2	6,85 (d, 1H)	110,18
3	-	146,62
4	-	144,15
5	6,35 (s, 1H)	121,67
6	-	150,41
7	-	181,93
8	7,86 (s, 1H)	122,29
9	3,80 (d, 1H)	60,81
10 α	3,33 (m, 1H)	32,21
10 β	3,01 (ddd, 1H)	
11	-	128,75
12	-	123,69
13	-	43,85
14	-	163,38
15 α	1,72 (dt, 1H)	36,80
15 β	2,46 (m, 1H)	
16 α	2,65 (m, 1H)	46,58
16 β	2,47 (m, 1H)	
3-OCH ₃	3,86 (s, 3H)	55,34
6-OCH ₃	3,75 (s, 3H)	53,93
NCH ₃	2,44 (s, 3H)	40,25

^1H -NMR: 400 MHz, MeOH-*d*4 ; ^{13}C -NMR: 100 MHz, MeOH-*d*4

Salutaridin molekülünün yapısının aydınlatılmasında ^{13}C -NMR, ^1H -NMR, HETCOR, COSY ve HMBC spektrumlarından yararlanılmıştır. Rezonanslarının kesin olarak belirlenmesi NMR, HETCOR ve COSY spektrumlarının incelenmesiyle gerçekleştirildi. Protonlanmış karbonların tümünün rezonansları, NMR ve HETCOR spektrumlarının yorumlanması yoluyla kolaylıkla belirlendi. HMBC spektrumu ile uzak mesafe kuaterner karbon sinyalleri belirlendi. 146,62'deki rezonans, H-1 ile 3-bağ bağlanmasına dayalı olarak C-3' le etkileşirken, 144,15'deki rezonans, H-2 ile 3-bağ korelasyonu nedeniyle C-4 ile etkileştiği belirlenmiştir. C-3' ün aynı zamanda 3-OCH₃ protonlarıyla 3-bağ üzerinden bağlanmasıyla da desteklendi. Öte yandan, 150,41' deki karbon, 6-OCH₃ ile CH korelasyonu sergilediği ve bu nedenle C-6 ile etkileşimde

bulunduğu analiz edildi. 181,93' deki rezonansın, C-7' ye ait olduğu H-5 ve C-7 arasındaki 3-bağ etkileşimiyle desteklendi. 128,75' deki karbon ile H-9 arasındaki 3 bağ birleşimi, bu karbonun C-11'e ait olduğunu gösterdi. 123,69 'deki sinyalin, H-10 ve H-15 ile 3-bağ eşleşmesinden dolayı C-12' ye ait olduğunu doğruladı. 43,85' deki rezonansın HMBC spektrumu ile H-8 ve H-16 uzak mesafe etkileşimini gösteren C-13'e ait olduğunu belirlendi. Son dördüncül karbon, H-5 ve H-15β ile 3-bağ etkileşmesinden dolayı C-14' e ait olduğu belirlenirken, yapı aydınlatma çalışmaları bu molekülün salutaridine ait olduğunu göstermektedir. Elde edilen spektral veriler literatür ile uyum içerisinde (Likhitwitayawuid vd., 1993).

Rutin (GC-1): Rutin diğer bir adıyla Kuersetin 3-O-rutinosid, $C_{27}H_{30}O_{16}$ formülü ve 610,5 g/mol molekül ağırlığına sahip bir flavonoiddir. C-3 pozisyonundaki hidroksil grubunun glikoz ve ramnoz ile bağlanmasıyla oluşan bir kuersetin rutinozididir. Rutin molekülü çalışmamızda sarı toz formunda elde edildi ve MeOH-*d*4 ile çözülerek NMR spektrumları kaydedildi. Rutin *Glaucium cappadocicum* bitkisinden ilk kez izole edilmiş olup, daha önce *Paliurus spinachristi* Mill, *Glaucium corniculatum*, *Asparagus officinalis*, *Rubus occidentalis*, *Ruta graveolens* gibi türlerde rapor edilmiştir (Al-Mahdawe vd., 2018; Al-Saleem vd., 2024; Makris ve Rossiter, 2001; Koçancı ve Aslim, 2017; Wada ve Boxin, 2002; Zor vd., 2017). Bileşiğe ait spektrumlar EK-(7)'de bileşiğin kimyasal yapısı Şekil 4.17'de, kimyasal kayma değerleri ise aşağıda verilmiştir.



Şekil 4. 17. Rutin (GC-1) bileşiğinin kimyasal yapısı

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOH-d_4) δ = 7,67 (d, 1H, H2'), 7,92 (dd, 1H, H6'), 6,88 (d, 1H, H5'), 6,42 (d, 1H, H8), 6,19 (d, 1H, H6). β -Glukoz δ = 5,13 (d, 1H, H1''), 3,82(m, 1H, H6''), 3,46 (dd, 1H, H2''), 3,38 (m, 1H, H5''), 3,29 (dd, 1H, H4''), 3,25 (t, 1H, H3''). α -ramnoz 4,54 (d, 1H, H1'''), 3,65 (dd, 1H, H2'''), 3,56 (dd, 1H, H3'''), 3,44 (m, 1H, H5'''), 3,28 (t, 1H, H4'''), 1,14 (d, 1H, H6'''). $^1\text{H-NMR}$ (MeOH-d_4 400 MHz): Tablo 4.9.

Tablo 4. 9. Rutin bileşiminin ¹H-NMR verileri

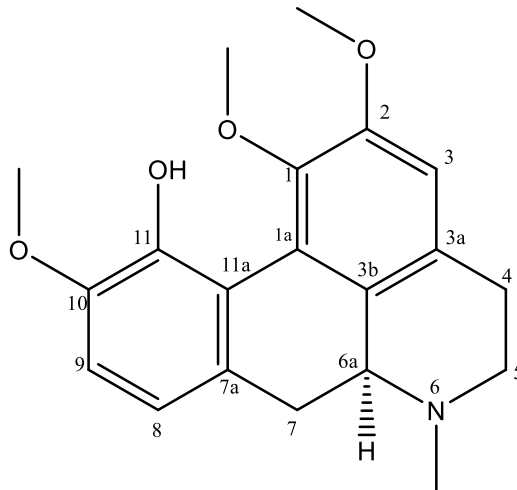
No	¹ H-NMR	Literatür ¹ H-NMR
2	-	-
3	-	-
4	-	-
5	-	-
6	6,19 (d,1H)	6,19 (d)
7	-	-
8	6,38 d	6,38 (d)
9	-	-
10	-	-
1'	-	-
2'	7,66 (d)	7,66 d
3'	-	-
4'	-	-
5'	6,86 (d)	6,86 (d)
6'	7,64 (dd)	7,64 (dd)
β-Glukoz		
1''	5,10 (d)	5,10 d
2''	3,46 dd	3,46 dd
3''	3,25 t	3,25 t
4''	3,29	3,29
5''	3,38 m	3,38 m
6''	3,79 dd	3,79 dd
α-ramnoz		
1'''	4,51 d	4,51 d
2'''	3,63 dd	3,63 dd
3'''	3,53 dd	3,53 dd
4'''	3,28 t	3,28 t
5'''	3,43 m	3,43 m
6'''	1,12 d	1,12 d

¹H-NMR: 400 MHz, MeOH-*d*4; Literatür: ¹H-NMR:600 MHz, CD₃OD

Bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (MeOH-*d*4) incelendiğinde yapının bir flavanoid iskeletine sahip olduğu belirlendi. Bu yapının kuersetin molekülüne 3-O üzerinden bir rutinosisid molekülünün

bağlandığı yani yapının rutin molekülü olduğu NMR spektrumlarıyla doğrulandı. Aromatik CH parçalarının tüm rezonansları 6 ila 8 ppm arasında görüldü. Ayrıca, şeker birimlerinin alifatik CH grupları gözlemlenebilmektedir. Özellikle 1", 1''' ve 6''' konumları 5,10, 4,51 ve 1,12 ppm'de görünen oldukça iyi ayrılmış sinyallerdir. Rutinoside ait CH sinyalleri 3 ila 4,5 ppm arasında tespit edildi. Spektral analizlerdeki bulgular, literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında bu bileşiğin bir flavanoid yapısında olan rutin olduğu belirlenmiştir (Pivec vd., 2019; Zor vd., 2017).

İzokoridin (C-17): İzokoridin aporfin grubuna ait bir alkaloiddir. 1, 2, ve 10 konumunda 3 adet metoksi grubu ve 11 konumunda bir adet hidroksil grubu ihtiva etmektedir. Bileşik kahverengi katı halde elde edildi ve MeOH-*d*₄ ile çözülerek NMR spektrumları kaydedildi. Bileşik ile ilgili spektrumlar EK-(8-10)'de verilmiştir. İzokoridin *Glaucium cappadocicum* bitkisinden ilk kez izole edilmekle birlikte daha önce *Glaucium aleppicum*, *Glaucium flavum*, *Glaucium grandiflorum* Boiss. & Huet var. *Grandiflorum*, *Glaucium grandiflorum* Boiss. & Huet var. *torquatum* (Cullen) Mory, *Glaucium corniculatum*, *G. fimbrilligerum* Boiss, *Glaucium paucilobum* Freyn ve *Guatteria pogonopus* gibi türlerde rapor edilmiştir (Barakat vd., 2016; Gözler, 1982; Petitto vd., 2010; Santos vd., 2018; Shafiee vd., 1985; Shafiee vd., 1998). Bileşiğe ait spektrumlar EK- (8-10)'de, bileşiğin kimyasal yapısı Şekil 4.18'de, kimyasal kayma değerleri ise aşağıda verilmiştir.



Şekil 4. 18. İzokoridin (C-17) bileşiğinin kimyasal yapısı

¹H-NMR (400 MHz, MeOH-*d*₄) 6,97 (d, 1H, H₉), 6,91 (d, 1H, H₈), 6,89 (1H, s, H₃), 3,91(3H, s, 10-O-CH₃), 3,88 (3H, s, 2-O-CH₃), 3,67(3H, s, 1-O-CH₃), 3,15-3.10 (1H, m, H-6a), 2,96 (2H, d, H₅), 2,77 (2H, m, H₄), 2,59 (3H, s, N-CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, MeOH-*d*₄) 151,8 (C-2), 149,2 (C-10), 143,4 (C-11), 142,5 (C-1), 129,7 (C-7a), 129,6 (C-3b), 127,7 (C-3a), 125,4 (C-1a), 119,2(C-8), 119,9 (C-11a), 111,6 (C-3), 111,2 (C-9), 62,9 (C-6a), 61,0 (1-O-CH₃), 55,4 (2-O-CH₃), 55,1 (10-O-CH₃), 52,3 (C-5), 42,3 (N-CH₃), 34,8 (C-7), 28,1(C-4). ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (MeOH-*d*₄ 400 MHz, MeOH-*d*₄ 100 MHz): Tablo 4.10.

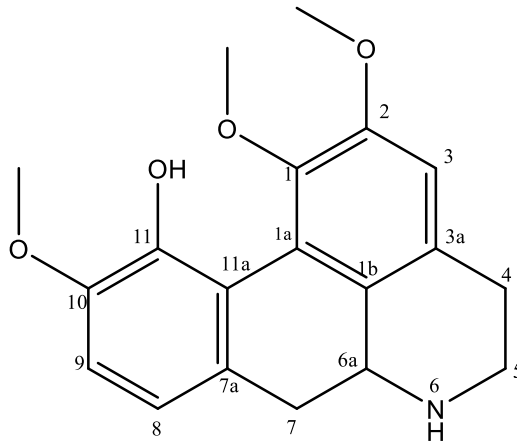
Bileşiğin ¹³C-NMR spektrumu (MeOH-*d*₄) incelendiğinde yapının 1'i alifatik ve 3'ü aromatik olmak üzere 4 CH, 3 alifatik CH₂, 5 aromatik kuaterner ve 4 adet oksijenli bir substituent bulunduran 20 karbonlu bir aporfin ya da izokinolin halkaya sahip olduğu görülmüştür. Bunlardan 3 aromatik CH 111,6, 111,2 ve 119,9 ppm'de izlenmiştir. 6a'daki alifatik CH' ın 62.9 ppm'de sinyalinin gözlenmesiyle yapının aporfin grubu ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Alifatik CH₂'ler ¹³C-NMR spektrumunda 28,1, 52,83 ve 34,8 ppm'de izlenmiştir. ¹H-NMR'da 3,67, 3,88 ve 3,91 ppm'deki 3'er protonluk singletlere tekabül eden 3 adet metoksi grubunun karbon sinyalleri ¹³C-NMR'da 61,0, 55,4 ve 55,1 ppm'de rezonansa gelmişlerdir (Tablo 4.10). Yapıda bulunan ¹H-NMR'da 2,59 ppm'de 3 protonluk singlet olarak izlenen N-metil protonları, ¹³C-NMR'da 42,3 ppm'de gözlenirken yapıdaki N-CH₃'in varlığı kesinlik kazanmıştır. Spektral analizlerdeki bulgular, literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında bu bileşiğin aporfin grubu bir alkaloit olan izokoridin olduğu belirlenmiştir (Kusman vd., 2023).

Tablo 4. 10. İzokoridin bileşiğinin ¹H ve ¹³C-NMR verileri

No	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
1	-	142,5
1a	-	125,4
2	-	151,8
3	6,89 s, 1H	111,6
3a	-	127,7
3b	-	129,6
4	2,77 m, 2H	28,1
5	2,96 dd (J= 15,7; 13,3; 6,0), 2H	52,3
6a	3,15 m, 1H	62,9
7	2,76 m, 2H	34,8
7a	-	129,7
8	6,91 d (J= 8,2), 1H	119,2
9	6,97 d (J= 8,2), 1H	111,2
10	-	149,2
11	-	143,4
11a	-	119,9
NCH ₃	2,59 s, 3H	42,3
1-O-CH ₃	3,67 s, 3H	61,0
2-O-CH ₃	3,88 s, 3H	55,4
10-O-CH ₃	3,91 s, 3H	55,1

¹H-NMR: 400 MHz, MeOH-*d*4 ; ¹³C-NMR: 100 MHz, MeOH-*d*4

Norizokoridin (BGB8): Norizokoridin aporfin grubu alkaloidlerinin bir başka üyesidir. 1, 2 ve 10 konumunda 3 adet metoksi grubu ve 11 konumunda bir adet hidroksil grubu ihtiva etmektedir. Bileşik kahverengi katı halde elde edildi ve MeOH-*d*4 ile çözülerek NMR spektrumları kaydedildi. *Glaucium cappadocicum* bitkisinden ilk kez izole edilen norizokoridin daha önce *G. flavum*, *G. vitellinum*, *G. corniculatum*, *G. fimbrilligerum* gibi türlerde rapor edilmiştir (Barakat vd., 2016; Gözler, 1982; Petitto vd., 2010; Santos vd., 2018; Shafiee vd., 1985; Shafiee vd., 1998). Bileşiğe ait spektrumlar EK- (11-14)'de, bileşiğin kimyasal yapısı Şekil 4.19'da, kimyasal kayma değerleri ise aşağıda verilmiştir.



Şekil 4. 19. Norizokoridin (BGB8) bileşiğinin kimyasal yapısı

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): 2,48 (3H, s, N-CH_3), 2,64-2,61 (2H, m, CH_2), 2,96-2,85 (2H, m, CH_2), 3,14-3,10 (2H, m, CH_2), 3,33 (1H, m, CH), 3,91 (3H, s, 10-O-CH_3), 3,88 (3H, s, 2-O-CH_3), 3,86 (3H, s, 1-O-CH_3), 6,50 (1H, s, CH), 6,78 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, CH), 6,77 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, CH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): 29,0 (CH_2), 38,9 (CH_2), 42,4 (CH_2), 53,9 (10-O-CH_3), 55,8 (2-O-CH_3), 55,9 (1-O-CH_3), 61,9 (CH), 110,09 (CH), 119,3 (CH), 111,5 (CH), 118,8 (C), 119,8 (C), 125,5 (C), 129,7 (C), 130,0 (C), 130,9 (C), 143,8 (C), 149,3 (C), 151,4 (C). $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{MeOH-}d_4$ 400 MHz, $\text{MeOH-}d_4$ 100 MHz): Tablo 4.11.

Bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumuna incelendiğinde, yapıda 3 adet aromatik CH (3,8 ve 9 nolu), 1 adet alifatik CH (6a), 3 adet alifatik CH_2 (4,5 ve 7 nolu) ve 9 adet aromatik kuaterner karbon taşıdığı görülmüştür. Yapıda ayrıca 1,2 ve 10 nolu karbonlarda 3 adet $-\text{OCH}_3$ ve 11 nolu karbondaki 1 adet $-\text{OH}$ varlığı izlenirken izokoridinden farklı olarak N-CH_3 sinyaline rastlanamamıştır. 3 adet aromatik CH sinyali 110,09, 119,3 ve 111,5 ppm’de izlenirken ve 3 adet metoksi sinyalleri 55,9, 55,8 ve 53,9 ppm’de okunmuştur. Bunların yanısıra aporfin grubu alkaloidlere özgü 6a karbonunda bulunan alifatik CH sinyali 61,9 ppm’de okunmuş ve bu yapıya toplamda 19 karbonlu bir aporfin grubu alkaloid olduğunu doğrulamıştır (Tablo 4.11).

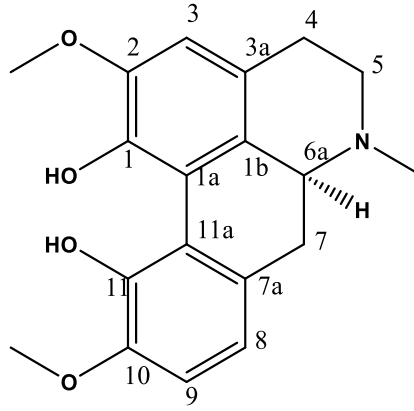
Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiğinde, 6,50 ppm’de 1 protonluk singlet ile H-3 protonunun varlığı belirlenmiştir. H-8 ve H-9 protonlarına karşılık gelen 6,77 ve 6,78 ppm’de izlenen sinyaller dubletlerin varlığını ve yapının aporfin halkaya sahip olduğunu doğrulamıştır. Spektrumdaki 3,86, 3,88 ve 3,91 ppm’deki herbiri 3’er protonluk 3 adet metoksi grubu singlet sinyalleri $^{13}\text{C-NMR}$ ’da 55,9, 55,8 ve 53,9 ppm olarak izlenmiştir.

Tablo 4. 11. Norizokoridin bileşiğinin ¹H ve ¹³C-NMR verileri

No	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
1	-	130,9
1a	-	119,8
1b	-	130,0
2	-	149,3
3	6,50 (s,1H)	110,09
3a	-	118,8
4	2,96-2,85 (m, 2H)	29,0
5	3,14-3,10 (m, 2H)	42,4
6a	3,33 (m, 1H)	61,9
7	2,64-2,61 (m, 2H)	38,9
7a	-	129,7
8	6,77 (d (J= 8,2 Hz, 1H)	119,3
9	6.78 d (J= 8,2 Hz,1H)	111,5
10	-	151,4
11	-	143,8
11a	-	125,5
10-O-CH ₃	3,91 s, 3H	53,9
2-O-CH ₃	3,88 s, 3H	55,8
1-O-CH ₃	3,86 s, 3H	55,9
N-CH ₃	-	-

¹H-NMR: 400 MHz, MeOH-*d*4 ; ¹³C-NMR: 100 MHz, MeOH-*d*4

Korytüberin (BG2): Korytüberin 1. ve 11. pozisyonlardaki hidroksil grupları ve 2. ve 10. pozisyonlardaki metoksi gruplarıyla tanımlanan aporfin grubunun bir alkaloididir. Bileşik kahverengi toz halinde elde edildi ve MeOH-*d*4 ile çözülerek NMR spektrumları kaydedildi. Bileşik ile ilgili spektrumlar EK-(15-16)'de verilmiştir. *Glaucium cappadocicum* bitkisinden ilk kez izole edilen Korytüberin molekülü daha önce *Glaucium oxylobum* (Slavíková vd., 1985), *Glaucium squamigerum* (Slavík vd., 1984), *Glaucium flavum* (Novák ve Slavík, 1974) türlerinde tanımlanmıştır.



Şekil 4. 20. Korytüberin (BG2) bileşiğinin kimyasal yapısı

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): 3,21 (3H, s, N- CH_3), 3,04 (2H, m, CH_2), 3,43 (2H, m, CH_2), 3,70 (1H, m, CH), 3,82 (3H, s, 2-O- CH_3), 3,86 (3H, s, 10-O- CH_3), 4,40 (1H, m, CH), 6,80 (1H, s, CH), 6,90 (1H, d, CH), 7,87 (1H, s, CH), 7,91 (1H, d, CH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): 25,6 (CH_2), 32,2 (CH_2), 49,0 (N- CH_3), 51,9 (CH_2), 56,6 (3H, s, 2-O- CH_3), 56,3 (3H, s, 10-O- CH_3), 62,4 (CH), 111,0 (CH), 111,5 (CH), 120,1 (CH), 120,2 (C), 120,5 (C), 122,9 (C), 126,9 (C), 127,0 (C), 141,8 (C), 142,8 (CH), 149,4 (C), 149,8 (C).

$^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{MeOH-}d_4$ 400 MHz, , $\text{MeOH-}d_4$ 100 MHz): Tablo 4.12.

Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda incelendiğinde, 3,82-3,86 ppm’de 2-O- CH_3 ve 10-O- CH_3 sinyallerinin izlenmiştir. H-3, H-8 ve H-9 protonlarına karşılık gelen protonunun 6,80 ppm singlet varlığı, 6,90 ve 7,91 ppm dubletlerinin varlığı bu bileşiğin korytüberin olabileceğini işaret etmiştir.

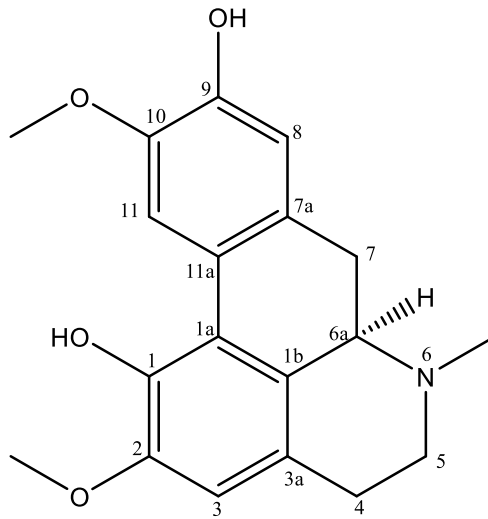
Bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu incelendiğinde yapının 19 karbona sahip olduğu ve bu karbonlardan 3,8 ve 9 nolu karbonların aromatik CH (110,0, 120,1 ve 111,5 ppm) içerdiği belirlenmiştir. Aporfin grubu alkaloidlerinin karakteristik olarak 6a’da CH bulundurması ve 62.4 ppm’de gözlenen sinyalin varlığı yapının aporfin grubu olduğunu ispatlamıştır. Bileşikte 4,5 ve 7 ‘de bulunan 3 adet CH_2 varlığı $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda gözlenmiştir. 2 ve 10 nolu karbonlara substituent olan 2 adet metoksi grubu ile 1 ve 11 nolu karbonlara substituent olan OH gruplarının sinyalleride izlenmiştir. Metoksi grupları $^{13}\text{C-NMR}$ ’da 56,6-56,3 ppm civarında izlenmiştir. Ayrıca yapıda bulunan N-metil protonları 3,21 ppm’de singlet olarak izlenirken, $^{13}\text{C-NMR}$ ’da ise 49,0 ppm’de gözlenmiştir (Tablo 4.12). $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ verilerine ait sonuçlar literatür ile uyumlu olup, bileşiğin korytüberin olduğunu doğrulamaktadır.

Tablo 4. 12. Korytüberin bileşığının ¹H ve ¹³C-NMR verileri

No	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
1	-	141,8
1a	-	120,5
1b	-	127,0
2	-	14,8
3	6,80 (s, 1H)	111,0
3a	-	126,9
4	3,43 (m, 2H)	25,6
5	3,04 (m, 2H)	51,9
6a	4,01 (m, 1H)	62,4
7	3,70 (m, 1H)	32,2
7a	-	122,9
8	6,90 (d, 1H)	120,1
9	7,91 (d,1H)	111,5
10	-	149,4
11	7,87 (s,1H)	142,8
11a	-	120,2
2-O-CH ₃	3,82 (s, 3H)	56,6
10-O-CH ₃	3.86 (s, 3H)	56,3
N-CH ₃	3,21 (s, 3H)	49,0

¹H-NMR: 400 MHz, MeOH-*d*4 ; ¹³C-NMR: 100 MHz, MeOH-*d*4

İzoboldin: (S6): İzoboldin molekülü 2 ve 10 nolu karbonlarındaki substituent metoksi ve 1 ve 9 nolu karbonlarındaki hidroksil gruplarıyla tanımlanan aporfin grubu bir alkaloiddir. Bileşik kahverengi katı olarak elde edildi ve MeOH-*d*4 ile çözülerek NMR spektrumları kaydedildi. *Glaucium cappadocicum* bitkisinden ilk kez izole edilen izoboldin, daha önce *Glaucim flavum*, *Glaucium vitellinum*, *Glaucium corniculatum*, *Glaucium fimbrilligerum* gibi türlerde rapor edilmiştir (Barakat vd., 2016; Gözler, 1982; Petitto vd., 2010; Santos vd., 2018; Shafiee vd., 1985; Shafiee vd., 1998). Bileşiğe ait spektrumlar EK- (17-18)'de, bileşğin kimyasal yapısı Şekil 4.21'de, kimyasal kayma değerleri ise aşağıda verilmiştir.



Şekil 4. 21. İzoboldin (S6) bileşiğinin kimyasal yapısı

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): 2,48 (3H, s, N-CH_3), 3,86 (3H, s, 10- O-CH_3), 3,87 (3H, s, 2- O-CH_3), 4,27-4,19 (1H, t, CH), 6,45 (1H, s, CH). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): 34,0 (CH_2), 28,7 (CH_2), 43,80 (CH_2), 43,80 ($-\text{NCH}_3$), 56,2 (2- OCH_3), 56,0 (10- OCH_3), 62,6 (C), 108,4 (CH), 111,9 (CH), 119,4 (C), 113,9 (CH), 119,9 (C), 124,4 (C), 126,9 5 (C), 129,8 (C), 140,5 (C), 144, 5 (C), 145,8 (C), 144,9 (C). $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{MeOH-}d_4$ 400 MHz, , $\text{MeOH-}d_4$ 100 MHz): Tablo 4.13.

İzoboldin molekülüne ait ^1H NMR spektrumu incelendiğinde, 7,93 (1H, s, H-11), 6,76 (1H, s, H-8) ve 6,45 (1H, s, H-3)'de aromatik CH proton sinyalleri izlenmiştir. Yapıda tanımlanan 2 adet metoksi grubu 3,82–3,86 (6H, s, OMe-10 ve OMe-2) izlenirken, N-CH_3 varlığı 2,48 (3H, s, N-CH_3) belirlenmiştir (Rinaldi vd., 2017; Brochmann-Hanssen vd., 1967).

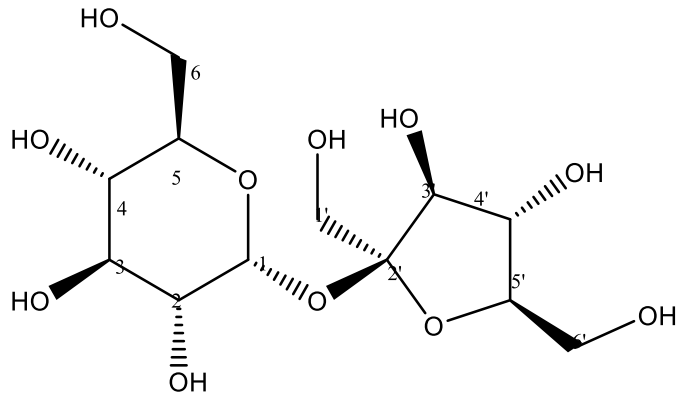
Bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumuna incelendiğinde, yapıda 3 adet aromatik CH (3,8 ve 11), 3 adet alifatik CH_2 (4,5 ve 7 nolu) ve 9 adet aromatik kuaterner karbon taşıdığı görülmüştür. Yapıda ayrıca substituent olarak 2 ve 10 nolu karbonlarda 2 adet $-\text{OCH}_3$ ve 1 ve 9 nolu karbonlarda 2 adet $-\text{OH}$ sinyali tespit edilmiştir. 48,80 ppm'de ise N-CH_3 sinyaline rastlanmıştır. Toplamda 19 karbona sahip bu molekülün taşıdığı 3 adet aromatik CH sinyali 108,4, 111,9 ve 113,9 ppm'de izlenirken, 2 adet metoksi sinyali 56,2 ve 56,0 ppm'de okunmuştur (Tablo 4.13). Bunların yanısıra aporfin grubu alkaloidlere özgü 6a karbonunda bulunan alifatik CH sinyali 62,6 ppm'de izlenmiş ve bu da yapının bir aporfin grubu alkaloid olduğunu doğrulamıştır (Brochmann-Hanssen vd., 1967; Jackman vd., 1979; Rinaldi vd., 2017). $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ verilerine ait sonuçlar literatür ile uyumlu olup, bileşiğin izoboldin olduğunu doğrulamaktadır.

Tablo 4. 13. İzoboldin bileşiğinin ¹H ve ¹³C-NMR verileri

No	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
1	-	140,,5
1a	-	119,9
1b	-	126,9
2	-	145,8
3	6,45 (s,1H)	108,4
3a	-	119,4
4	-	28,7
5	-	43,80
6a	4,27-4,19(t, 1H)	62,6
7	-	34,0
7a	-	129,8
8	6,76 (s,1H)	111,9
9	-	144,9
10	-	144,5
11	7.93 (s,1H)	113,9
11a	-	124,4
2-O-CH ₃	3,86 (s, 3H)	56,2
10-O-CH ₃	3,87 (s,3H)	56,0
N-CH ₃	2,48 (s,3H)	43,80

¹H-NMR: 400 MHz, MeOH-*d*₄ ; ¹³C-NMR: 100 MHz, MeOH-*d*₄

Sükroz (GH-58): Sükroz diğer bir adıyla sakkaroz çay şekeri olarak bilinen, C₁₂H₂₂O₁₁ formülüne sahip, glukoz ve fruktoz molekülünden oluşan bir disakkarittir. Bileşik sarı renkli katı kristal olarak elde edildi ve D₂O ile çözülerek NMR spektrumları kaydedildi. Sükrozun varlığı daha önce *Glaucium flavum* bitkisinin GC/MS ile incelenmesiyle rapor edilmiştir (Nikolova vd., 2018). Bileşiğe ait spektrumlar EK- (19-24)'de, bileşiğin kimyasal yapısı Şekil 4.22 'de, kimyasal kayma değerleri ise aşağıda verilmiştir.



Şekil 4. 22. Sükroz (GH58) bileşiğinin kimyasal yapısı

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 5,33 (dd, 1H, H-1), 4,14 (d, 1H, H-3'), 3,97 (t, , 1H, H-4'), 3,81 (m, 1H, H-5'), 3,77 (t, 1H, H-3), 3,72 (m, 2H, CH_2 , H-6, H-6'), 3,66 (m, 1H, H-5), 3,60 (s, 2H, H-1'), 3,48 (ddd, 1H, H-2), 3,39 (m, 1H, H-4).

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 103,7 (C-2'), 92,1 (C-1), 81,3 (C-5'), 76,4 (C-3'), 74,0 (C-4'), 72,5 (C-5), 72,4 (C-3), 71,0 (C-2), 69,2 (C-4), 62,3 (C-6', CH_2), 61,3 (C-1', CH_2), 60,1 (C-6, CH_2).). ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR (D_2O ; 400 MHz, D_2O ; 100 MHz): Tablo 4.14.

^1H -NMR spektrumunda 4,30-5,30 ppm bileşik –OH protonlarına aittir. HMBC spektrumunda H-1 protonları (5,33 ppm) C-2' (103,7 ppm) ve C-2 (71,0 ppm), H-6 ile (3,72 ppm) proton, C-5 (72,5 ppm) karbonlu, C-3' (76,4 ppm) ve H-5 (3,66 ppm) ile ve H-3' (4,14 ppm) ile C-5' (81,3 ppm) karbonları ile uzak mesafe etkileşime girdiğini göstermiştir (Tablo 4.14).

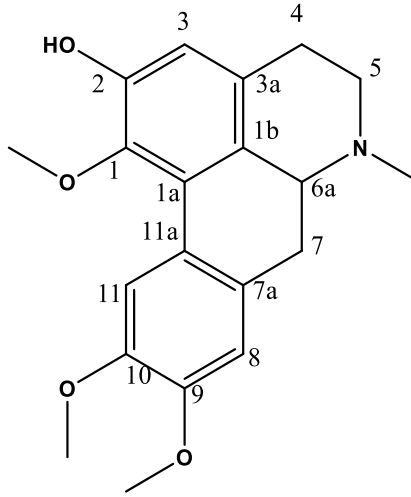
^{13}C spektrumu incelendiğinde yapının on iki karbona sahip olduğu belirlendi. Bu karbonlardan 8 tanesi CH sinyali verirken, 103,7 ppm'de gözlenen sinyalin kuaterner C-2' karbonuna ait olduğu belirlendi. Yapıda C-6 ve C-6' de iki adet CH_2 sinyalleri 60,1 ve 62,3 ppm'de izlendi. ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR verilerine ait sonuçlar literatür ile uyumlu olup, bileşiğin sükroz olduğunu doğrulamaktadır (ElDomiaty vd., 2009; Popov vd., 2006)

Tablo 4. 14. Sükroz bileşiğinin ^1H ve ^{13}C -NMR verileri

No	^1H -NMR	^{13}C -NMR
1	5,33	92,1
2	3,48	71,0
3	3,77	72,4
4	3,39	69,2
5	3,66	72,5
6	3,72	60,1
1'	3,60	61,3
2'	-	103,7
3'	4,14	76,4
4'	3,97	74,0
5'	3,81	81,3
6'	3,72	62,3

^1H -NMR: 400 MHz, D_2O ; ^{13}C -NMR: 100 MHz, D_2O

Predisentrin (S2): 2-O-dimetil glausin olarak da bilinen predisentrin 1, 9 ve 10. pozisyonlardaki metoksi ve 2 pozisyonunda hidroksil gruplarıyla tanımlanan aporfın grubu bir alkaloididir. Bileşik sarımsı-kahverengi toz halinde elde edildi ve $\text{MeOH}-d_4$ ile çözülerek NMR spektrumları kaydedildi. Bileşik ile ilgili spektrumlar EK-(25-26)'de verilmiştir. *Glaucium cappadocicum* bitkisinden ilk kez izole edilen predisentrin, daha önce *Glaucium oxylobum* (Shafiee vd.,1977), *Glaucium corniculatum* (Israilov vd., 1983), *Glaucium flavum* (Meyer vd., 2013) türlerinde tanımlanmıştır.



Şekil 4. 23. Predisentrin (S2) bileşiğinin kimyasal yapısı

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): 2,48 (3H, s, N-CH₃), 3,60 (3H, s, O-CH₃), 3,92 (3H, s, O-CH₃), 3,93 (3H, s, O-CH₃), 6,61 (1H, s, CH), 6,78 (1H, s, CH), 7,91 (1H, s, CH), 2,65–3,03 (2H, m, CH₂), 3,15–3,19 (2H, m, CH₂), 3,03 (1H, t, CH), 3,00–2,58 (2H, dd, CH₂).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): 31,5 (CH₂), 37,09 (CH₂), 46,0 (CH₂), 58,7 (1-O-CH₃), 58,4 (9-O-CH₃), 56,1 (10-O-CH₃), 46,0 (N-CH₃), 63,1 (CH), 113,4 (CH), 128,3 (CH), 150,5 (CH), 113,8 (C), 132,2 (C), 116,2 (C), 126,9 (C), 129,5 (C), 132,6 (C), 148,6 (C), 150,7 (C), 150,9 (C). $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{MeOH-}d_4$ 400 MHz, , $\text{MeOH-}d_4$ 100 MHz): Tablo 4.15.

Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu analiz edildiğinde ($\text{MeOH-}d_4$) H-3 protonunun 6,61 ppm’de singlet, H-8 ve H-11 protonlarına 6,78 ppm ve 7,91 ppm’de karşılık gelen singletlerin varlığı, 3,60 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 3,93 (s, 3H) ppm’de belirlenen 3 adet -OCH₃ grubunun ve 2,48 (s, 3H) ppm’deki -NCH₃ grubunun bu bileşiğin predisentrin olabileceğini işaret etmiştir.

Bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu incelendiğinde ise yapının 20 karbona sahip olduğu ve bu karbonlardan 3,8 ve 11 nolu karbonların aromatik CH (113,4, 138,3 ve 150,5 ppm) içerdiği belirlenmiştir. Aporfin grubu alkaloidlerinin karakteristik olarak 6a’da CH bulundurması ve 63,1 ppm’de sinyal vermesi de yapının aporfin grubu olduğunu ispatlamıştır. Bileşikte 4,5 ve 7’de bulunan 3 adet CH₂ varlığı $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda gözlenmiştir. 1,9 ve 10 nolu karbonlara substituent olan metoksiler 3,60–3,93 ppm aralığında ve $^{13}\text{C-NMR}$ ’da 56,1–58,7 ppm civarında izlenmiştir. Ayrıca yapıda bulunan N-metil protonları 2,48 ppm’de singlet olarak izlenirken, $^{13}\text{C-NMR}$ ’da ise 46,0 ppm’de gözlenmesi (Tablo 4.15) bu yapının predisentrin molekülüne ait olduğunu göstermiştir. Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ verilerine ait sonuçlar

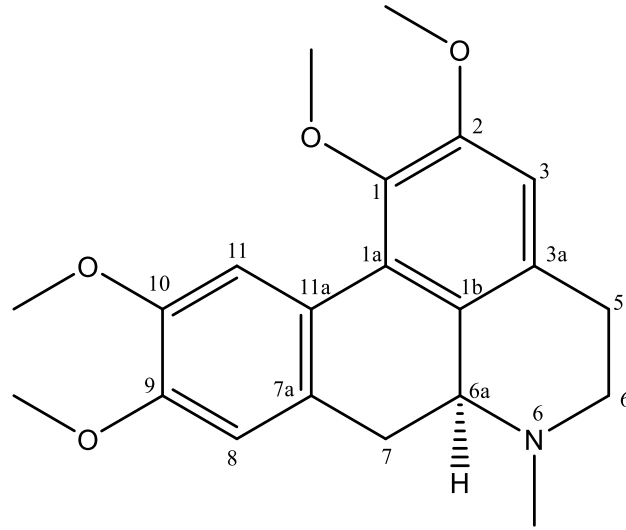
literatür ile uyumlu olup, bileşiğin predisentrin olduğunu doğrulamaktadır (Kuşman, 2018).

Tablo 4. 15. Predisentrin bileşiğinin ^1H ve ^{13}C -NMR verileri

No	^1H -NMR	^{13}C -NMR
1	-	148,6
1a	-	116,2
1b	-	132,6
2	-	150,9
3	6,61 (s, 1H)	113,4
3a	-	126,9
4	3,03m, 2,65 m, 2H	31,5
5	3,19m, 3,15m, 2H	46,0
6a	3,03 t, 1H	63,1
7	3,00; 2,58 brs, 2H	37,09
7a	-	132,2
8	6,78 (s, 1H)	128,3
9	-	113,8
10	-	150,7
11	7,91 (s, 1H)	150,5
11a	-	129,5
1-O-CH ₃	3,60 (s, 3H)	58,7
9-O-CH ₃	3,92 (s, 3H)	58,4
10-O-CH ₃	3,93 (s, 3H)	56,1
N-CH ₃	2,48 (s, 3H)	46,0

^1H -NMR: 400 MHz, MeOH-*d*4 ; ^{13}C -NMR: 100 MHz, MeOH-*d*4

Glausin (BG19): 1,2,9 ve 10 konumunda olmak üzere tetrametoksi grubu ihtiva eden C₂₁H₂₅NO₄ molekül formülüne sahip bir aporfin alkaloiddir. Bileşik kahverengi ve amorf katı halinde elde edildi ve MeOH-*d*4 ile çözülerek NMR spektrumları kaydedildi. *Glaucium cappadocicum* bitkisinden ilk kez izole edilen glausin, daha önce *Glaucium flavum*, *Glaucium corniculatum*, *Glaucium grandiflorum* gibi türlerde rapor edilmiştir (Barakat vd., 2016; Gözler, 1982; Petitto vd., 2010; Santos vd., 2018; Shafiee vd., 1985; Shafiee vd., 1998). Bileşiğe ait spektrumlar EK- (27-29)'de, bileşiğin kimyasal yapısı Şekil 4.24'de, kimyasal kayma değerleri ise aşağıda verilmiştir.



Şekil 4. 24. Glausin (BG19) bileşiğinin kimyasal yapısı

^1H -NMR (400 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): 2,55–2,78 (3H, m, CH_2), 2,55 (3H, s, N-CH_3), 3,04–3,60 (4H, m, CH_2), 3,71 (3H, s, O-CH_3), 3,86 (3H, s, O-CH_3), 3,88 (3H, s, O-CH_3), 3,91 (3H, s, O-CH_3), 6,66 (1H, s, CH), 6,82 (1H, s, CH), 7,89 (1H, s, CH).

^{13}C -NMR (100 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): 29,3 (CH_2), 32,66 (CH_2), 41,80 (N-CH_3), 52,11 (CH_2), 54,26 (2-O-CH_3), 54,39 (O-CH_3), 54,40 (O-CH_3), 61,17 (CH), 109,53 (CH), 110,86 (CH), 111,49 (CH), 123,76 (C), 125,29 (C), 126,00 (C), 127,81 (C), 128,52 (C), 143,74 (C), 146,86 (C), 147,96 (C), 151,48 (C). ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ($\text{MeOH-}d_4$ 400 MHz, , $\text{MeOH-}d_4$ 100 MHz): Tablo 4.16.

Bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (Tablo 4.16), δ 3,91, 3,88, 3,86 ve 3,71 ppm'de singlet olarak oluşan dört metoksi grubu göstermektedir. δ 2,55 ppm'de belirlenen (3H, s) sinyalin, $-\text{NCH}_3$ grubunun üç protonuna ait olduğu belirlendi. Aromatik protonlar, δ 6,66, 6,82 ve 7,89 ppm'de singlet olarak görüldü. 2,58 ve 2,68 ppm'de iki adet dubletin dubleti, 4. ve 5. karbondaki protonlara ait olduğu belirlendi. δ 3,09 ppm'de bir dubletin dubleti sinyalinin 6a' daki protona ait olduğu belirlendi. Glausine ait ^1H -NMR sonuçları, literatür verileriyle uyumludur (Lin vd., 2003; Kuşman, 2018; Yakhontova vd., 1973).

Tablo 4. 16. Glausin bileşiğinin ^1H ve ^{13}C -NMR verileri

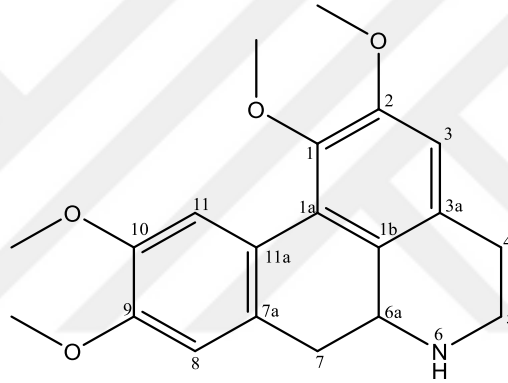
No	^1H -NMR	^{13}C -NMR
1	143,74	-
1a	125,29	-
1b	126,00	-
2	151,48	-
3	109,53	6,66 s, 1H
3a	127,81	-
		2,58-2,55 m, 1H
4	27,41	3,09 dd, 1H (J = 4.0; 16.00 Hz)
		2,68
5	52,11	(J = 16.0; 4.0 Hz), 1H
6a	63,21	3,09 dd (J = 4.7; 8.8 Hz), 1H 3.,0-3,04 m, 1H
7	32,66	2,45 t (J = 12.9 Hz), 1H 3,60 m, 1H
7a	128,52	-
8	110,86	6,82 s, 1H
9	147,96	-
10	146,86	-
11	111,49	7,89 s, 1H
11a	123,76	-
N-CH ₃	41,80	2,55 s, 3H
1-OCH ₃	54,26	3,71 s, 3H
2-OCH ₃	54,40	3,86 s, 3H
9-OCH ₃	61,71	3,88 s, 3H
10-OCH ₃	54,39	3,91 s, 3H

^1H -NMR: 400 MHz, MeOH-*d*4 ; ^{13}C -NMR: 100 MHz, MeOH-*d*4

Bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde 12'si aromatik bölgede, 4'ü alifatik, 4'ü tipik metoksi karbonları ve -NCH₃ olmak üzere yapının 21 karbona sahip olduğu belirlenmiştir. Bu karbonlardan 3,8 ve 11 nolu karbonların aromatik CH (109,53, 110,86 ve 111,49 ppm) içerdiği belirlenmişti. Aporfin grubu alkaloidlerinin karakteristik olarak 6a'da CH bulundurması ve

63,21 ppm’de sinyal vermesi de yapının aporfin grubu olduğunu ispatlamıştır. Bileşikte 4,5 ve 7 ‘de bulunan 3 adet CH₂ varlığı da ¹³C-NMR spektrumunda izlenmiştir. 1,2,9 ve 10 nolu karbonlara substituent olan metoksiler 3,71-3,91 ppm aralığında çıkan 4 adet metoksi grubu da ¹³C-NMR’da 54,26- 61,71 ppm civarında izlenmiştir. Ayrıca yapıda bulunan N-metil protonları 2,55 ppm’de singlet olarak izlenirken, ¹³C-NMR’da ise 41,80 ppm’de gözlenmiştir. Elde edilen spektral veriler literatür ile uyumludur (Bogdanov vd., 2012; Kusman vd., 2023; Xu vd., 2002; Yakhontova vd., 1973). Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR verilerine ait sonuçlar, bileşiğin glausin olduğunu doğrulamaktadır.

Norglausin (BGB9): Bileşik kahverengi-sarımsı katı halinde elde edildi ve MeOH-*d*4 ile çözülerek NMR spektrumları kaydedildi. Bileşik ile ilgili spektrumlar EK-(30-33)’de, bileşiğin kimyasal yapısı Şekil 4.25’de, kimyasal kayma değerleri ise aşağıda verilmiştir



Şekil 4. 25. Norglausin (BGB9) bileşiğinin kimyasal yapısı

¹H-NMR (400 MHz, MeOH-*d*4): 2,54–2,57 (2H, m, CH₂), 2,68-2,64 (2H, m, CH₂), 3,04-3,11 3.71(2H, m, CH₂), 3,66 (3H, s, O–CH₃), 3,89 (3H, s, O–CH₃), 3,90 (3H, s, O–CH₃), 3,91 (3H, s, O–CH₃), 6,21 (1H, s, CH), 6,60 (1H, s, CH), 6,80 (1H, s, CH).

¹³C-NMR (100 MHz, MeOH-*d*4): 28,7 (CH₂), 32,2 (CH₂), 41,90 (CH₂), 52,11 (CH), 54,3 (2-O–CH₃), 54,4 (O–CH₃), 54,8 (O–CH₃), 61,0 (O–CH₃), 110,00 (CH), 111,8 (CH), 112,40 (CH), 123,00 (C), 125,7 (C), 126,00 (C), 127,4 (C), 127,8 (C), 144,7 (C), 146,9 (C), 147,0 (C), 151,48 (C). ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (MeOH-*d*4 400 MHz, , MeOH-*d*4 100 MHz): Tablo 4.17.

Bileşiğin ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde yapının 20 karbona sahip olduğu ve bu karbonlardan 3,8 ve 11 nolu karbonların aromatik CH (110,0, 112,4 ve 111,8 ppm) içerdiği belirlenmiştir. Aporfin grubu alkaloidlerinin karakteristik olarak 6a’da CH bulundurması ve 63,21 ppm’de sinyal vermesi yapının aporfin grubu olduğunu ispatlamıştır. Bileşikte 4,5 ve 7

‘de bulunan 3 adet CH₂ varlığı da ¹³C-NMR spektrumunda gözlenmiştir. 1, 2, 9 ve 10 nolu karbonlara substituent olan metoksiler 3,66-3,91 ppm aralığında çıkan 4 adet metoksi grubu da ¹³C-NMR’da 54,3-61,0 ppm civarında izlenmiştir. Molekülün sinyalleri incelendiğinde glausin yapısıyla aynı sinyaller alındığı belirlenmiştir. Glausinden farklı olarak NCH₃ sinyalinin olmaması yapının norglausin molekülüne ait olduğunu doğrulamıştır. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR verilerine ait sonuçlar, bileşiğin norglausin olduğunu göstermektedir. Elde edilen spektral veriler literatür ile uyumludur (Castro-Saavedra vd., 2016).

Tablo 4. 17. Norglausin bileşiğinin ¹H ve ¹³C-NMR verileri

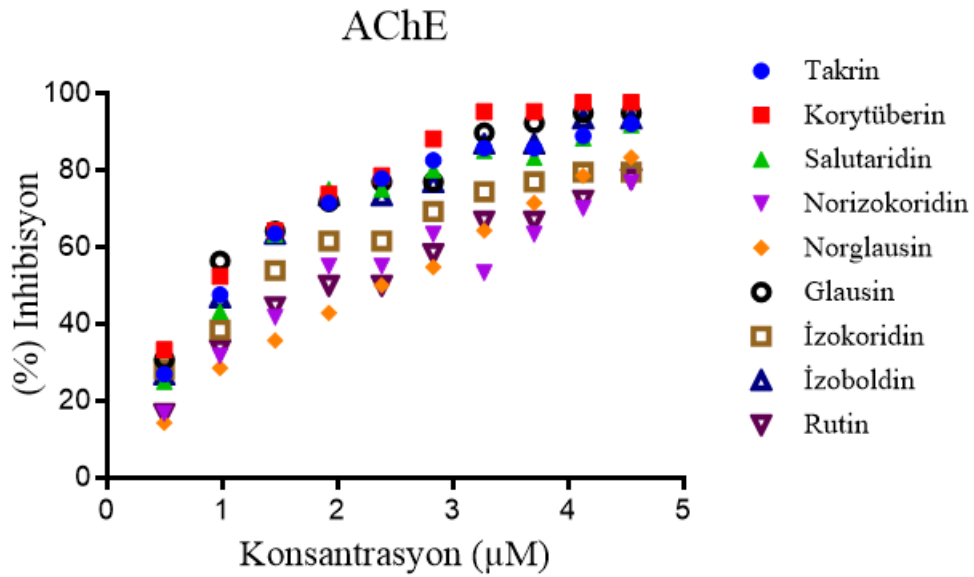
No	¹ H-NMR	¹³ C-NMR
1	-	144,7
1a	-	123,0
1b	-	127,8
2	-	152,8
3	6,60 (s, 1H)	110,0
3a	-	127,4
4	2,57-2,54(m, 2H)	28,7
5	2,68-2,64 (m,2H)	41,90
6a	6,21 (s, 1H)	52,1
7	3,11-3,04 (m,2H)	32,2
7a	-	126,0
8	6,80 (s,1H)	112,4
9	-	146,9
10	-	147,0
11	-	111,8
11a	-	125,7
1-O-CH ₃	3,66 (s,3H)	61,0
2-O-CH ₃	3,89 (s,3H)	54,8
9-O-CH ₃	3,90 (s,3H)	54,4
10-O-CH ₃	3,91(s,3H)	54,3

¹H-NMR: 400 MHz, MeOH-*d*4 ; ¹³C-NMR: 100 MHz, MeOH-*d*4

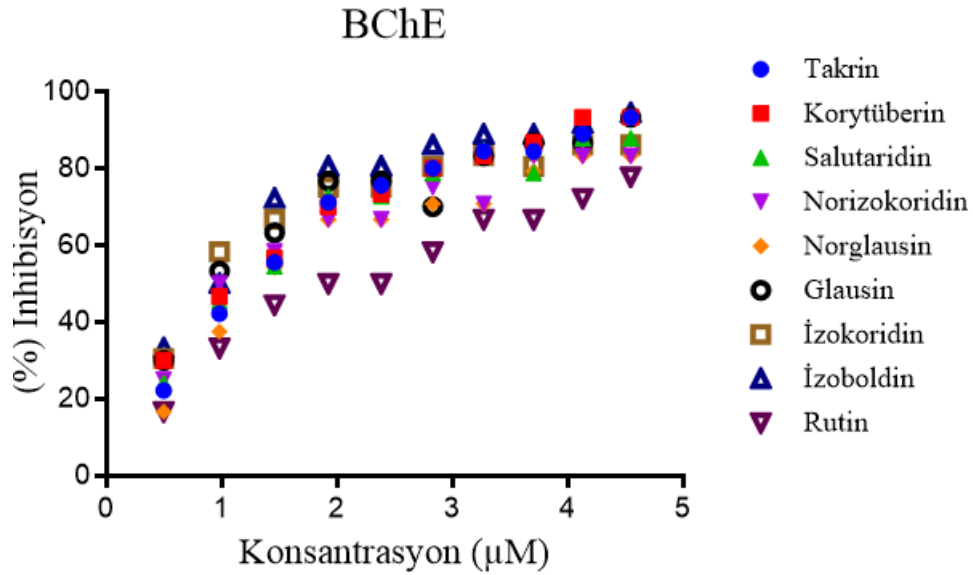
4.4. İzole Edilen Bileşiklerin Biyolojik Aktiviteleri

4.4.1. Antikolinesteraz aktivite sonuçları

Yaşlılarda demansın en yaygın nedeni olan Alzheimer, hastanın bilişsel işlevini yavaş yavaş ortadan kaldıran ve sonunda ölüme neden olan ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır. AH tedavisinde önemli bir terapötik strateji enzim inhibisyonudur. Bu amaçla gerek bitkisel kaynaklı gerekse sentetik inhibitörler AH tedavisinde kullanılmıştır. Rivastigmin, Galantamin ve Huperzin A doğal ürün kaynaklı alkaloid yapısındaki inhibitörlerdir. Doğal ürünlerden izole edilen ve enzim aktivitesi onaylanan bu alkaloid yapısındaki bileşiklerden sonra birçok araştırmacı potansiyel kaynaklar olarak yeni ve daha etkili AChE inhibitörlerini bulmak için bitkiler üzerine odaklanmıştır. Bu tez çalışmasında da benzer amaçla saflaştırma ve izolasyon çalışmaları neticesinde elde edilen moleküller için antikolinesteraz enzim inhibisyonu çalışmaları yapılarak anti-Alzheimer aktiviteleri belirlenmiştir.



Şekil 4. 26. Asetilkolinesteraz enzimi için %inhibisyon-konsantrasyon grafikleri



Şekil 4. 27. Butirilkolinesteraz enzimi için %inhibisyon-konsantrasyon grafikleri

Enzim inhibisyon çalışmalarının hesaplanması için bulunan absorbans değerlerinin % aktiviteye çevrilerek, % aktivite konsantrasyon grafikleri oluşturulmuştur (Bkz. Şekil 4.26-4.27). Bu grafiklerin denklemlerinden yararlanılarak IC_{50} değerleri ve R^2 değerleri belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.18’ de grafikler EK- (34-49)’ de verilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda izole edilen moleküllerden özellikle alkaloid yapısına sahip olan moleküllerin AChE ve BChE enzimleri üzerinde oldukça güçlü bir inhibitör etkisi gösterdiği belirlenmiştir. İzole edilen saf bileşikler arasında AChE ve BChE enzimlerinin standart inhibitörü olan takrinden daha yüksek inhibisyon gösteren moleküller bulunmuştur. AChE enzimi için standart madde olan takrine (1,21 μM) kıyasla en düşük aktiviteyi norglausin molekülü sergilerken, en yüksek aktivite korytüberin molekülünde belirlenmiştir. İzole edilen bileşikler anti-AChE aktivite bakımından genel olarak Korytüberin (BG- 2) > Glausin (BGB19) > İzoboldin (S-6) > Takrin > Salutaridin (BGB-6) > İzokoridin (C-17) > Norglausin (BGB-9) > Rutin (GC-1) > Norizokoridin (BGB-8) şeklinde sıralanmaktadır.

BChE enzimi için baktığımızda standart madde olan takrine (1,24 μM) kıyasla en yüksek aktivite izoboldin molekülünde belirlenmiştir. İzole edilen bileşikler anti-BChE aktivite bakımından genel olarak İzoboldin (S-6) > Korytüberin (BG- 2) > Takrin > Glausin (BGB19) > İzokoridin (C-17) Salutaridin (BGB-6) > Norizokoridin (BGB-8) > Norglausin (BGB-9) > Rutin (GC-1) şeklinde sıralanmaktadır. Bu sonuçlar alkaloidlerin her iki enzim içinde oldukça güçlü inhibitör kaynakları olduğunu göstermektedir.

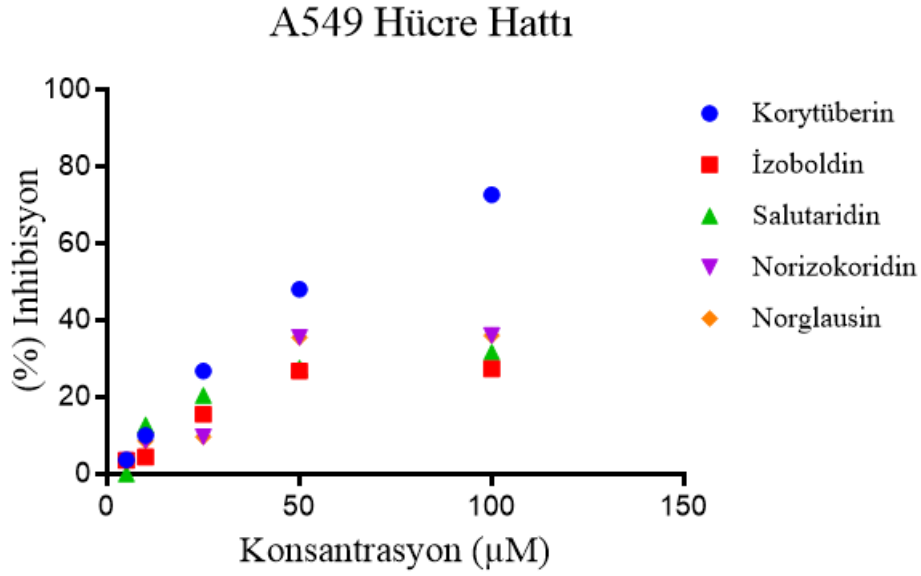
Tablo 4. 18. Saf bileşiklerin antikolinesteraz enzimleri için IC₅₀ değerleri (μM)

İnhibitör	IC ₅₀ (μM)			
	AChE	R ²	BChE	R ²
Rutin	2,16	0,9823	3,35	0,9672
Salutaridin	1,26	0,9832	1,36	0,9792
İzokoridin	1,75	0,9731	1,36	0,9329
Norizokoridin	2,26	0,9490	1,55	0,9548
Glausin	1,04	0,9845	1,25	0,9578
Norglausin	2,07	0,9811	1,63	0,9743
Korytüberin	0,84	0,9901	1,17	0,9950
İzoboldin	1,16	0,9898	1,06	0,9811
Takrin	1,21	0,9910	1,24	0,9951

4.4.2. Antiproliferatif aktivite sonuçları

Kanser, kalp ve damar hastalıklarından sonra ikinci ölüm nedenidir. Günümüzde kanser tedavisinde en büyük sorunlardan biri kemoterapötik yöntemlerde ilaçların seçici olmaması nedeniyle kanseri hücrelerle birlikte yüksek oranda sağlıklı hücrelerinde kaybedilmesidir. Kanser tedavisinde amaç, sağlıklı hücrelere zarar vermeden, tümör hücrelerinin yok edilmesidir. Bitkiler gibi doğal kaynaklar düşük sitotoksik etkileriyle antikanser ilaçların hazırlanmasında tarama yapılacak genişliğe sahip özel kaynaklardır. Bu amaçla kanser tedavisinde kullanılabilecek yeni ilaçların geliştirilmesi öncelikli bir ihtiyaçtır. Bu noktada, essiz biyoaktif içerikleriyle bitkiler ve onlardan izole edilen sekonder metabolitlerin olası antikanser etkilerini araştırılması kanser tedavisi için vazgeçilmez bir yoldur. Bu amaçla, tez çalışmasında izolasyona tabi tutulan bitkiden elde edilen 5 molekül için XTT testi yapılarak moleküllerin kanser hücre proliferasyonuna olan etkileri belirlenerek IC₅₀ değerleri Tablo 4.19’da verildi.

İzole edilen moleküllerin antiproliferatif aktivitesi akciğer kanseri (A549) ve kolon kanseri (HT-29) kanser hücre hatları üzerinde 5-100 μM konsantrasyon aralığında çalışılmıştır. Akciğer kanser hücre hattı olan A549 üzerinde bileşiklerin antiproliferatif etkisi incelendiği zaman korytüberin (BG-2) molekülü diğer tüm moleküller arasında en iyi antiproliferatif aktiviteyi sergilemiştir. 100 μM konsantrasyonda kanser hücrelerinin %72,6’sını inhibe etmiştir. Diğer tüm moleküller için IC₅₀>100 μM olarak belirlenmiştir (Bkz. Şekil 4.28).



Şekil 4. 28. İzole edilen bileşiklerin akciğer kanser hücre hattı (A549) üzerindeki inhibisyon etkisi

İzole edilen moleküllerin kolon kanser hücre hattı olan HT-29 üzerindeki antiproliferatif etkisi incelendiğinde, en yüksek etki korytüberin (BG-2) molekülünde belirlenmiştir. Diğer tüm moleküller için $IC_{50} > 100 \mu M$ olarak bulunmuştur.

Tablo 4. 19. Saf moleküllerin kanser hücre dizileri üzerindeki IC_{50} değerleri

Moleküller/ Kontroller	A549 IC_{50} (µM)	HT-29 IC_{50} (µM)
Korytüberin	61,2±1,21 ^b	>100
İzoboldin	>100	>100
Salutaridin	>100	>100
Norizokoridin	>100	>100
Norglausin	>100	>100
5-FU	-	23,2±0,98 ^a
Karboplatin	1,34±0,76 ^a	-

4.4.3. Antimikrobiyal aktivite sonuçları

4.4.3.1. Sıvı mikrodilüsyon testi

Mikrodilüsyon yöntemine göre izoboldin (S-6), rutin (GC-1), korytüberin (BG-2), glausin (BG-19), salutaridin (BGB-6), norizokoridin (BGB-8), norglausin (BGB-9) ve izokoridin (C-17) molekülleri *S. pneumoniae*, *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etki göstermişlerdir.

S. pneumoniae' ye karşı en etkili moleküller korytüberin, salutaridin, norizokoridin, norglausin ve izokoridin olmuştur (MİK: 4.688 μ M). Moleküllerin bakteriyel/fungal izolatlar üzerinde aktivitelerinin gösteren en düşük inhibitör konsantrasyonları Tablo 4.20' de verilmiştir.

Tablo 4.20. İzole edilen moleküllerin MİK değerleri

Moleküller	MİK (μ M)		
	<i>S.pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>
İzoboldin	>150	150	150
Rutin	18,75	>150	>150
Korytüberin	4,688	>150	150
Glausin	18,75	>150	>150
Salutaridin	4,688	>150	150
Norizokoridin	4,688	150	150
Norglausin	4,688	>150	150
İzokoridin	4,688	>150	>150

S. aureus ve *C. albicans* izolatlarında bazı moleküllerde yalnız ilk kuyucuklarda berraklık görüldüğünden MBK belirleme işlemine tabi tutulmamıştır. Yalnız *S. pneumoniae* suşunda düşük MİK değerleri tespit edildiğinden berrak görünen kuyucuklardan %5 koyun kanlı besiyerine ekim yapılmış ve bakterilerin % 99,9'nu öldüren minimum antimikrobiyal madde konsantrasyonu MBK olarak belirlenmiştir. En düşük MBK konsantrasyonu Korytüberin molekülünde tespit edilmiş olup diğer moleküllerin MBK değeri ilk kuyucuktaki konsantrasyondan daha yüksek bulunmuştur. *S. pneumoniae*' ya karşı test edilen moleküllerin MBK değerleri Tablo 4.21'de verilmiştir.

Tablo 4.21. *S.pneumoniae*'ye karşı test edilen moleküllerin MBK Değerleri

Moleküller	MBK Değerleri (μM)
Rutin	>150
Korytüberin	37,5
Glausin	>150
Salutaridin	>150
Norizokoridin	>150
Norglausin	>150
İzokoridin	>150

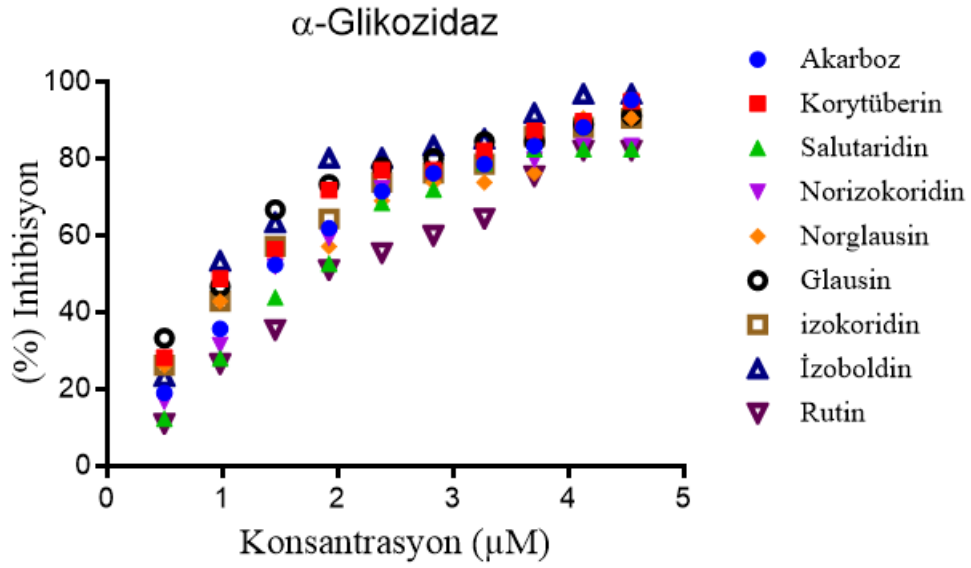
4.4.4. Antidiyabetik aktivite sonuçları

Diyabet endişe verici bir hızla artan çok faktörlü bir sağlık sorudur. Diyabete bağlı yüksek ölüm oranlarının ana nedeni böbrek hasarı, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve nöropatidir. Diyabetle ilişkili en etkili terapötik yaklaşım α -glukozidaz enzimini inhibe ederek hiperglisemiyi kontrol altında tutmaktır. Akarboz, miglitol ve vogliboz glukoz emilimini geciktirmek için kullanılan onaylanmış inhibitörlerdir. Ancak istenmeyen yan etkileri kullanımını kısıtlamaktadır. Olası yan etkileri minimum düzeyde olan yeni ilaçlara her zaman ihtiyaç duyulmaktadır. Bitkiler ve onlardan izole edilen biyoaktif bileşikler düşük toksisite ve yan etkileri sayesinde vazgeçilmez terapötik ajanlardır. Bu amaçla, tez çalışmasında izole edilen moleküller için α -glukozidaz inhibisyon çalışmaları yapılarak antidiyabetik etkisi belirlenmiştir.

Sonuçların hesaplanmasında bulunan absorbans değerleri % aktiviteye çevrilerek, % aktivite konsantrasyon grafikleri hazırlanmıştır (Bkz. Şekil 4.29). Bu grafiklerin denklemlerinden yararlanılarak IC₅₀ değerleri ve R² değerleri belirlenmiştir. Sonuçlar tablo 4.22' de grafikler EK- (50-58)' de verilmiştir.

Yapılan analiz sonucunda izole edilen moleküllerden özellikle alkaloidlerin α -glukozidaz enzimi üzerinde oldukça güçlü inhibitör etkisi gösterdiği belirlenmiştir. İzole edilen saf bileşiklerden İzoboldin, Korytüberin ve Glausin' in α -glukozidaz enzimi üzerinde standart madde olarak kullanılan akarboza göre daha yüksek inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir. Bileşikler antidiyabetik aktivite bakımından genel olarak İzoboldin (S-6) > Korytüberin (BG-2) > Glausin (BGB19) > Akarboz > İzokoridin (C-17) > Norglausin (BGB-9) > Norizokoridin (BGB-8) > Salutaridin (BGB-6) > Rutin (GC-1) şeklinde sıralanmaktadır. Bu sonuçlar

alkaloidlerin α -glikozidaz enzimi için güçlü inhibitörler olduğunu göstermektedir.



Şekil 4. 29. İzole edilen moleküller için % inhibisyon-konsantrasyon grafikleri

Tablo 4. 20. Bileşiklerin α -glikozidaz inhibisyon değerleri

IC ₅₀ (μM)		
İnhibitör	Alfa- Glikozidaz	R ²
Rutin	1,88	0,9868
Salutaridin	1,61	0,9868
İzokoridin	1,34	0,9952
Norizokoridin	1,55	0,9857
Glausin	1,24	0,9776
Norglausin	1,43	0,9813
Korytüberin	1,19	0,9910
İzoboldin	0,87	0,9877
Akarboz	1,28	0,9933

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

İnsanlık tarihi, oluşumunun başlangıcından bu yana çevresiyle yakın temas halinde olmuş, çevresindeki maddeleri yiyecek ve ilaç elde etmek için kullanmıştır (İzah vd., 2024; Chaachouay ve Zidane, 2024). İlk insanlar ağrıyı hafifletmek için bazı bitkileri çiğnediklerinden ya da iyileşmeyi hızlandırmak için yaraların etrafına yaprakları sardıklarından beri, doğal ürünler çoğu zaman hastalıkları ve yaralanmaları tedavi etmenin ilk yolu olmuştur (Özdemir ve Erdal, 2021). Bu deneme yanılma sayesinde bitkilerin gıda ve ilaç hazırlama konusundaki farkındalığı ve uygulanması gerçekleşmiş ve insanoğlu yavaş yavaş ihtiyaçlarını çevresinden karşılayabilir duruma gelmiştir (Sundarrajan ve Bhagtaney, 2024).

Şifalı bitkilere ilişkin bilgiler uzun zamandan beri nesilden nesile aktarılmış, uygarlıkların oluşması ve daha fazla olanakların sağlanmasıyla birlikte insan bilgisi giderek tamamlanmıştır (Chaachouay ve Zidane, 2024). Günümüzde hala şifalı bitkiler hemen hemen tüm kültürlerde tıbbi kaynak olarak kullanılmaya devam edilmektedir (Niazi ve Monib, 2024).

Şifalı bitkiler Doğu'da ve Batı'da yaygın kullanımına rağmen, bunların etkili bileşenleri olan kimyasalların spesifik kimliği on sekizinci ve on dokuzuncu yüzyıllara kadar neredeyse bilinmiyordu (Gurib-Fakim, 2006). Ancak gelişen ayırma teknikleri sayesinde doğal kaynakların ilaç hammaddelerine dönüşmesi zaman içinde hız kazanmıştır.

Sentetik ilaçların olası yan etkileri, tedavideki düşük başarı oranı ve çoklu ilaç direncinin gelişmesi gibi olumsuz etkilerinin son yıllarda artması bu tür ilaçların yerine bitkisel kökenli ilaçlara olan talebi artırmıştır (Abdel-Aziz vd., 2016). Bu sebeplerden dolayı doğal ve daha etkili ilaç arayışı hala güncelliğini korumaktadır (Chaachouay ve Zidane, 2024). Ciddi hastalıklardan kaynaklanan tehlikeye karşı koymak ve türün hayatta kalmasını garanti altına almak için sürekli olarak daha iyi ilaçların üretilmesi gerekmektedir.

İlaç geliştirme sürecine bakıldığında, birçok ilacın geleneksel tıptan ilham alınarak türetildiği açıktır. Sentez, fermentasyon, farmakoloji, farmakodinamik gibi modern teknolojinin zenginlikleri, biyolojik çeşitlilik ve kemoçeşitlilik gibi doğal ürünler hakkındaki bilgi zenginliğiyle birleştiğinde, ilaç taraması için geniş bir bileşik kütüphanesi ortaya çıkmıştır (İzah vd., 2024; Yadav vd., 2024). Bu da bireysel tedavi ve hastalığın önlenmesi olanakları için essiz bir bilgi sağlamaktadır.

Doğal ürünlerden çok sayıda iyi bilinen doğal bileşik tanımlanmış, analiz edilmiş ve sentezlenmiştir. Örneğin; *Salix alba*'dan (beyaz söğüt) salisin, *Coffea arabica*'dan kafein, *Nicotiana tabacum*'dan nikotin, *Atropa belladonna*'dan atropin ve *Erythroxylum coca*'dan kokain (Arif, 2017; Ji vd., 2009). Bu bileşiklerin çoğu hala ilaç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Yirminci yüzyılda *Penicillium notatum* küfünden türetilen penisilinin antibakteriyel özelliklerinin keşfine tanık olundu ve bunu kısa süre sonra doktorlara bulaşıcı hastalıklara karşı mücadelelerinde son derece güçlü bir silah sağlayan çeşitli diğer antibakteriyeller izledi (Foster, 1943; Gupta vd., 2025; Kocholaty, 1942).

Doğal ürünlerden elde edilen bu bileşikler biyolojik etkilerini ligandlar, hormonlar veya hücreler arası ve hücre içi sinyal iletiminde rol oynayan diğer moleküller dahil olmak üzere endojen metabolitleri taklit ederek gösterir (Ahmad vd., 2013; Ververidis vd., 2007; Wink, 2003). Doğal ürünler genelde esnek moleküllerdir ve bu da onların konfigürasyonlarına uyum sağlamalarına olanak tanımaktadır (Ji vd., 2009).

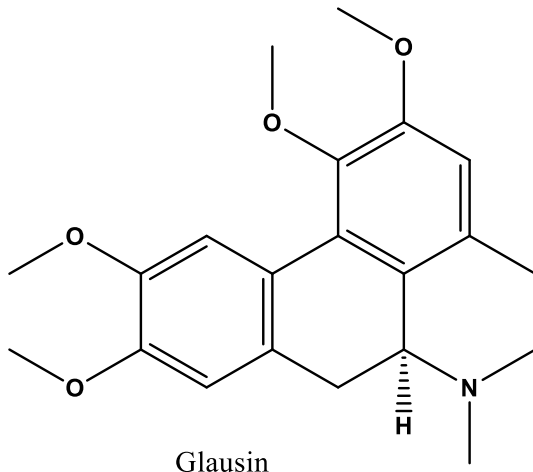
Türkiye zengin bitkisel çeşitliliği nedeniyle önemli bir konuma sahiptir. Sayısız endemik bitki türlerinin varlığı bu önemi açıkça göstermektedir (Acibuca vd., 2025). Ülkemizde bulunan bu değerli bitkilerden elde edilen bileşikler yeni ilaç öncülleri için eşsiz bir kaynak oluşturmaktadır. Bu bileşiklerin etkin ve verimli kullanılması ülkemizin hem ekonomik hem de sosyal gelişimine ciddi katkı sağlayacaktır.

Geleneksel tedavi yöntemlerinin temeli tıbbi bitkilere dayanmaktadır. Kullanılan bu tıbbi ve aromatik bitkiler zengin ve değişken içerikleri nedeniyle sayısız kullanımı alanına sahiptir. Bu değerli tıbbi bitkilerden biri olan *Glaucium* cinsi, birçok hastalığın tedavisi için geleneksel tıpta kullanılmıştır. Boynuzlu gelincik olarak da bilinen cinsin, hem gıda hemde hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. *Glaucium* türlerinin tohumları, çiçekleri, gövdesi, yaprakları ve kök kısımları da dahil olmak üzere bitkinin tümü halk arasında birçok farklı hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Toz haline getirilen tohumları bal ile karıştırılarak laksatif tedavisinde kullanılmaktadır (Safa vd., 2013). Toprak üstü kısımlarının infüzyon şeklinde öksürük kesici olarak kullanıldığı (Leporatti vd., 2003) ve aynı zamanda Nezle, bronşit ve soğuk algınlıklarının yanı sıra balgam söktürücü ve uykusuzluğa karşı etkili olması sebebiyle halk arasında köklü bir kullanıma sahiptir. Ayrıca antitussif (öksürük kesici), uyku getirici, kabızlık önleyici, sedatif, antidiyabetik, nörofarmakolojik, hipoglisemik, antibiyotik, antidermatit, antiinflamatuvar, antibakteriyel, analjezik ve cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılabilir farmakolojik aktiviteleri sahip olduğu da belirlenmiştir. Bitkinin

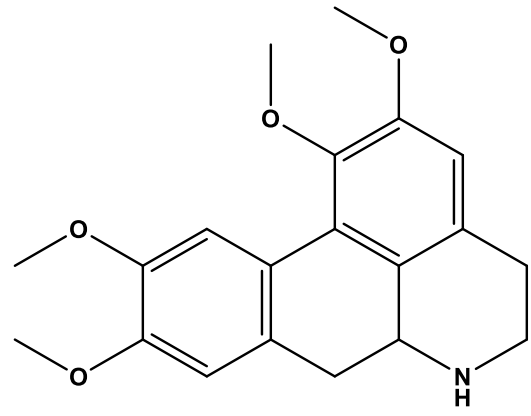
gövde kısmının ise antiseptik, küçük yaralar ve yangılar için iyileştirici ajan olarak kullanıldığı da rapor edilmiştir (Leporatti vd., 2003). Yaprak ve çiçeklerinden zeytinyağında hazırlanan merhem, geç iyileşen yaraların tedavisinde başarı göstermiştir (Altinkurt,1969; Ashourve Soomro, 2024; Cabo, 2006; Deniz vd., 2010; Hadzhieva ve Petkova-Dimitrova, 2024; İbn Sina, 1408; Kültür, 2007; Morteza-Semnani vd., 2002; Orhan vd., 2004; ; Zargari, 1991; Zeybek ve Zeybek, 2002).

Glaucium cinsi geleneksel tıpta halk ilacı olarak kullanımının yanında, içerdiği güçlü sekonder metabolitler sebebiyle de önemli bir bitki grubudur. Dünyadaki türlerinin 1/3'i ülkemizde doğal olarak yetişmektedir. Çalışmaya konu olan *G. cappadocicum* (Boynuzlu gelincik) Erzincan yöresine lokal endemik olup bitkilerin hem ekstre hem de kimyasal içerik bakımından literatürde herhangi bir bilgisi bulunmamaktadır. İzolasyon işlemine yol gösterecek aktif ekstrenin belirlenmesi için bitkinin toprak üstü kısımlarından sıralı ekstraksiyon metoduyla hazırlanan hekzan, etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının ve ayrıca alkaloid ekstresi için MDA-MB-453 (insan meme kanseri), MCF-7 (insan meme kanseri), PC-3 (insan prostat kanseri), HT-29 (kolorektal adenokarsinoma) ve A549 (akciğer kanseri) hücre hatları üzerinde antiproliferatif, DPPH, demir indirgeme, toplam fenolik miktarı ve toplam flavonoid miktarı yöntemleriyle antioksidan ve antikolinesteraz enzim inhibisyonu yöntemiyle de anti-Alzheimer aktiviteleri belirlendi. Tüm bu çalışmalardan oldukça anlamlı biyolojik aktiviteler belirlendiği için bu aktiviteye sebep olan moleküllere ulaşmak amacıyla kromatografik işlemlerle saflaştırma basamağına geçildi.

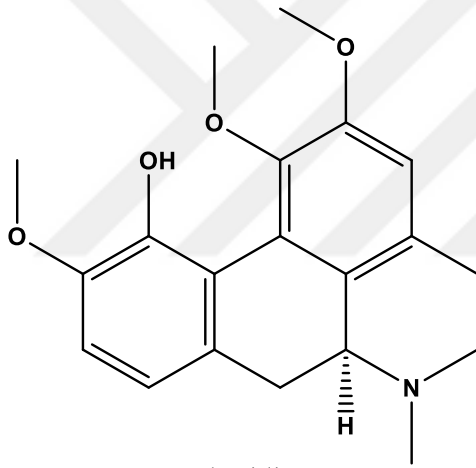
Bitkinin ihtiva ettiği biyoaktif moleküllerin belirlenmesi ve bu moleküllerin bireysel biyolojik aktivitelerinin ortaya konulması için farklı kromatografik yöntemler kullanılarak izolasyon çalışmaları gerçekleştirildi. İzolasyon çalışması sonucu *G. cappadocicum* bitkisinin metanol ekstresinden 6 ve alkaloid ekstresinden 4 olmak üzere 10 bileşik izole edildi (Bkz. Şekil 5.1) İzole edilen bileşiklerin yapı aydınlatma çalışmaları ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, COSY, HETCOR ve HMBC gibi spektroskopik yöntemler kullanılarak belirlendi. Bu bileşikler sırasıyla; korytüberin (BG-2), glausin (BG-19), salutaridin (BGB-6), norizokoridin (BGB-8), norglausin (BGB-9), izokoridin (C-17), rutin (GC-1), izoboldin (S-6), predisentrin (S-2) şeklindedir. Elde edilen tüm bu bileşikler *Glaucium cappadocicum* türünde ilk defa rapor edilmiştir.



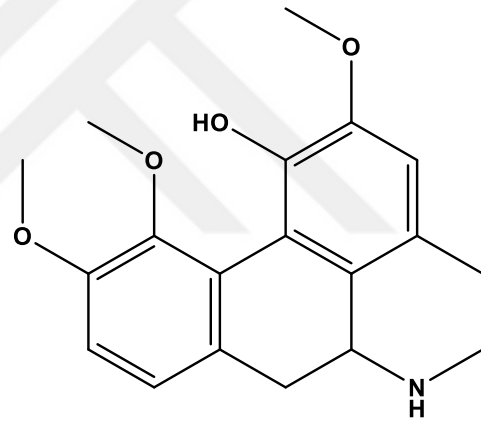
Glausin



Norglausin

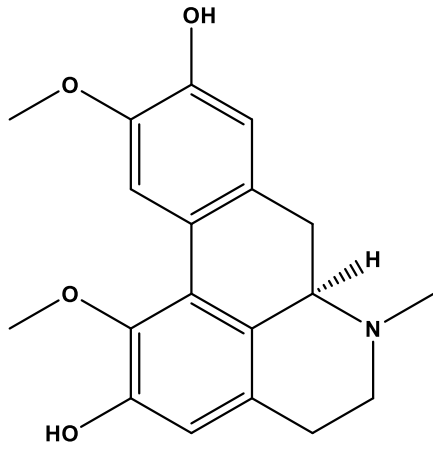


Izokoridin

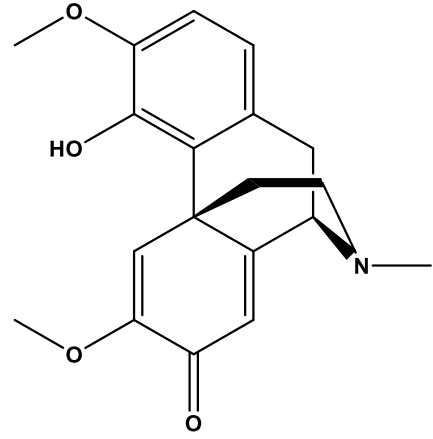


Norizokoridin

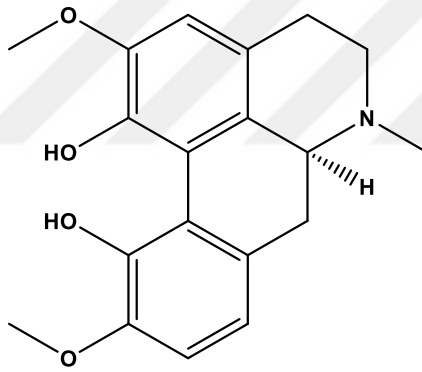
Şekil 5. 1. İzole edilen bileşiklerin kimyasal yapıları



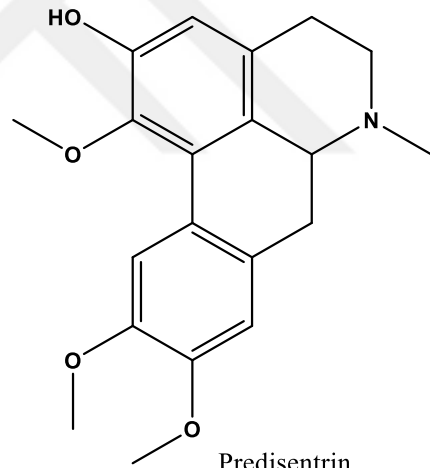
Izoboldin



Salutaridin

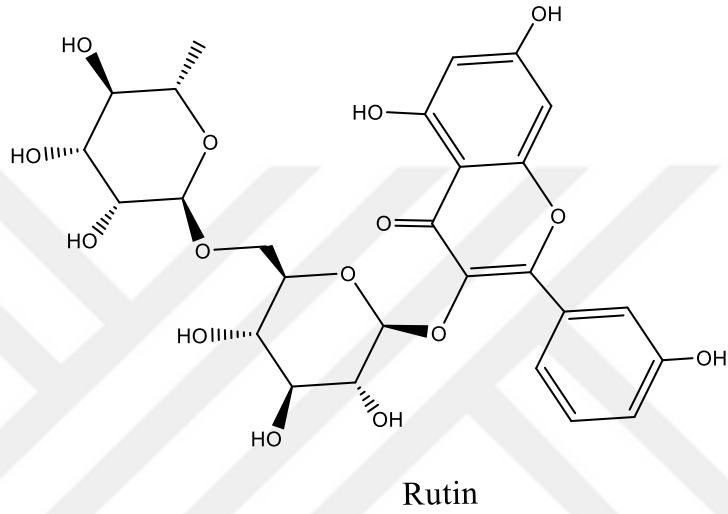
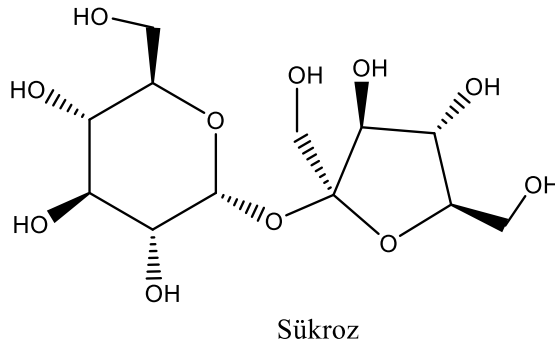


Korytuberin



Predisentrin

Şekil 5.1. (Devamı) İzole edilen bileşiklerin kimyasal yapıları



Şekil 5.1. (Devamı) İzole edilen bileşiklerin kimyasal yapıları

İzole edilen saf bileşiklerin *in vitro* antikolinesteraz aktivitesi Ellman metoduna göre belirlenerek moleküllerin anti-Alzheimer aktiviteleri test edilmiştir. Standart madde olarak takrin kullanılmıştır. Sonuçlara göre en etkili enzim inhibitörü alkaloid ekstresinden izole edilen korytüberin (IC_{50} : 0,84 μ M) molekülü olmuştur. İzole edilen bileşikler anti-AChE aktivite bakımından genel olarak Korytüberin (0,84) > Glausin (1,04) > İzoboldin (1,16) > Takrin (1,21) > Salutaridin (1,26) > Norglausin (2,07) > Rutin (2,16) > Norizokoridin (2,26) şeklinde sıralanmaktadır. BChE enzimi için baktığımızda standart madde olan takrine (1,24 μ M) kıyasla en düşük aktiviteyi rutin molekülü sergilemiştir. En yüksek aktiviteyi ise izoboldin molekülü göstermiştir. İzole edilen bileşikler anti-BChE aktivite bakımından genel olarak İzoboldin (1,06) > Korytüberin (1,17) > Takrin (1,24) > Glausin (1,25) > Salutaridin (1,36)=İzokoridin (1,36) > Norizokoridin (1,55) > Norglausin (1,63) > Rutin (3,55) şeklinde

sıralanmaktadır. Bu sonuçlar alkaloidlerin her iki enzim içinde oldukça güçlü inhibitör kaynakları olduğunu göstermektedir.

Alkaloidler, Alzheimer hastalığı için terapötik ajanların geliştirilmesinde önemli bir rol oynamıştır (Chen vd., 2025; Li vd., 2025). *Galanthus* türlerinin soğanlarından izole edilen bir izokinolin alkaloidi olan galantamin yanında fizostigmin, huperzin ve rinkofilina gibi diğer doğal alkaloidler, dikkate değer *in vitro* ve *in vivo* aktivite göstermiştir (Babashpour-Asl ve Barez, 2023; Bozkurt vd.,2021). Yapılan *in vitro* çalışmalar, izokinolin alkaloidlerinin multimodal potansiyelinin, nörotransmitter yıkımını katalize eden enzimleri inhibe etme yeteneği ile AH' nin erken ve ileri evreleri için semptomatik tedavilerin geliştirilmesinde terapötik uygulamalara sahip olabileceği anlamına gelmektedir.

Güçlü antikolinesteraz aktivitesi sergileyen bazı alkaloidler aşağıda verilmiştir. Narcisselina, *Amaryllidaceae* türünün alkaloididir ve AH üzerindeki terapötik etkisini nörotransmisyonu ve Tau patolojisini hedef alan semptomatik tedavi ile göstermektedir. h AChE IC₅₀: 18,7 µM ve h BChE IC₅₀: 1,34 µM (h AChE: insan asetilkolinesteraz/ BChE: insan bütiril kolinesteraz). Keleritrin (benzofenantridin türevi) amiloid patolojisini ve nörotransmisyonu hedef alan ikincil önleme veya semptomatik tedavi ile etkisinin gösterirken, hAChE için IC₅₀= 1,54 µM, h BChE için ise IC₅₀: 6,33 µM olarak belirlenmiştir. Nitidin (benzofenantridin türevi) için h AChE IC₅₀: 1,25 µM ve h BChE IC₅₀: 5,73 µM; Avisin (benzofenantridin türevi) h AChE IC₅₀: 0,52 µM, h BChE IC₅₀: 0,88 µM; Palmatin (protoberberin türevi) AChE IC₅₀: 0,51 µM, BChE IC₅₀: 6,84 µM; Epiberberin (protoberberin türevi) AChE IC₅₀:1,07 µM, BChE IC₅₀: 6,03 µM; Groenlandisin (protoberberin türevi) AChE IC₅₀: 0,54 µM, BChE IC₅₀: 3,32 µM olarak belirlenmiştir (Plazasve Muñoz, 2022). Sonuçlar bu tür alkaloidlerin oldukça güçlü potansiyele sahip kolinesteraz inhibitörleri olduğunu göstermektedir.

Macleaya cordata bitkisinden izole edilen izokinolin alkaloidlerinin antikolinesteraz aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada en yüksek aktivite en düşük IC₅₀ değeri ile keleritrin (AChE için IC₅₀: 0,72 µM, BChE için IC₅₀: 2,15 µM) serilerken, ardından sanguarin (AChE için IC₅₀ :5,57 µM, BChE için IC₅₀ : 9,82 µM) ve protopin (AChE için IC₅₀: 69,81 µM, BChE için IC₅₀: 52.84 µM) izlemiştir. Standart olarak kullanılan Galantamin için IC₅₀ değerleri asetilkolinesteraza karşı 1,46 µM ve butirilkolinesteraza karşı 6,31 µM belirlenirken; rivastigmin için IC₅₀ değerleri sırasıyla asetilkolinesteraza ve butirilkolinesteraza karşı 10,23 ve 8,38 µM bulunmuştur. Keleritrin standart olarak kullanılan galantamin ve rivastigminden daha etkili bulunmuştur (Tuzimski vd., 2022).

Coptidis rhizoma bitkisinden izole edilen altı protoberberin alkaloidi (berberin, palmatin, jateorizin, epiberberin, koptisin ve groenlandisin) için antikolinesteraz aktiviteleri incelenmiştir. Altı protoberberin alkaloidi arasında değişen IC₅₀ değerleri AChE için 0,44-1,07 µM ve BChE için 3,32-6,84 µM ile baskın kolinesteraz (ChE' ler) inhibisyon etkileri sergilediği belirlenmiştir (Jung vd., 2009). Ayrıca berberin üzerine yapılan başka bir çalışmada, berberinin 0,7 µM (Glantamin için 1,7 µM) standart inhibitörden daha yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tuzimski ve Petruczynik, 2023).

Zanthoxylum schreberi kabuğundan elde edilen üç alkaloit (berberin, keleritrin ve kolumbamin), asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraza karşı güçlü inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. En aktif alkaloitler için IC₅₀ değerleri, asetilkolinesteraza karşı berberin için 0,107 µM, kolumbamin için 3,752 µM' ve bütirilkolinesteraza karşı berberin için 2,048 µM iken kolumbamin için 6,404 µM olarak bulunmuştur. Nitidin ve avisin alkaloidlerini asetilkolinesteraz enzimine karşı sırasıyla 0,65 ve 0,15 µM IC₅₀ değerleri ile güçlü inhibisyon gösterirken, insan rekombinant asetilkolinesterazına karşı sırasıyla IC₅₀:1,25 ve 0,52 µM, bütirilkolinesteraz karşı sırasıyla 5,73 ve 0,88 µM inhibisyon sergilemiştir. *Narcissus tazetta*'nın toprak üstü kısımlarından ve soğanlarından ekstraktından elde edilen, 11-hidroksigalantin ve narsisidin, sırasıyla 0,67 ve 1,85 µM'lik IC₅₀ değerleriyle önemli asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Pozitif kontrol olan galantamin için elde edilen IC₅₀ değeri 0,15 µM olarak hesaplanmıştır (Tuzimski ve Petruczynik, 2023).

Ayrıca yapılan diğer çalışmalar da antikolinesteraz aktivitesi bakımından glausin (AChE IC₅₀: 2,58 µg/mL) aktif bulunurken, izokoridin için aktivite gözlenememiştir (Bozkurt vd., 2024). İzoboldin için ise AChE IC₅₀ 9,4.0 ±1,5µM (Huperzine A 1,8 ±0,3) olarak belirlenmiştir (Mollataghi vd., 2012).

Beilschmiedia insignis'in bitkisinin izolasyonu sonucu beş adet aporfin alkaloidi; izokoridin, norisokoridin, (+)-laurotetanin, (+)-N-metillaurotetanin ve (+)-boldin izole edilmiştir. Bu bileşiklerin asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesi, yüzde inhibisyon olarak belirlenmiştir. İzokoridin 50,2±0,25, norizokoridin 52,8 ±0,22, laurotetanin 44,9 ±0,30, N-metil laurotetanin 46,5 ±0,15, boldin 74,5 ±0,20 % inhibisyon olarak belirlenmiştir (Salleh vd., 2021).

Alkaloidler üzerine yapılan moleküler yerleştirme çalışmaları, yüksek aktiviteye sahip bileşiklerin fizyolojik pH' da daha yüksek iyonlaşma sağlamak için nispeten güçlü bazik moleküller olduğunu, aktif bölgeye daha iyi erişilebilirlik için düzlemsel bir geometri

oluşturmak için yapısal esnekliğe sahip olduklarını, katalitik anyonik bölgedeki ve üçlü katalitikteki temsili kalıntılarla başarılı etkileşim için yapılarında azot bazlı ve hidroksil grupları gibi hidrojen donörü veya alıcı ikame edicilerine sahip olduklarını göstermiştir (Kumar vd.,2024; López vd.,2021).

Literatürde yer alan birçok çalışma, alkaloidlerin özellikle izokinolin iskeletine sahip türevlerinin, antikolinesteraz aktivitesi gösterdiğini ve bu aktivitenin özellikle nörolojik hastalıklar üzerinde olumlu etkiler sağladığını belirtmektedir (Islam vd., 2024; Kaur vd., 2024; Orhan vd., 2021; Plazas ve Muñoz, 2022; Singh vd., 2021; Tuzimski ve Petruczynik, 2023). Bu anlamda tez çalışma sonuçlarımız, daha önce yapılmış araştırmalarla tutarlılık göstermektedir. Bununla birlikte, izokinolin alkaloidlerinin antikolinesteraz potansiyelinin belirlenmesi, bu bileşiklerin farmakolojik etkinliklerinin anlaşılmasına ve tedavi amaçlı kullanımlarının geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır.

İzole edilen saf bileşiklerin *in vitro* antiproliferatif aktivitesi A549 (insan akciğer kanseri) ve HT-29 (insan kolon kanseri) hücre hatları üzerinde XTT metoduyla değerlendirildi. Yapılan çalışma sonucunda A549 hücre hattı üzerinde en yüksek antiproliferatif etkiyi Korytüberin molekülü göstermiştir. Diğer tüm moleküller için IC_{50} : 100 μ M olarak belirlenmiştir. Kolon kanser hücre hattı olan HT-29 üzerindeki antiproliferatif etkisi incelendiğinde yine en yüksek antiproliferatif aktiviteyi korytüberin (BG2) molekülü sergilemiştir. Diğer tüm moleküller için $IC_{50} > 100 \mu$ M olarak belirlenmiştir.

Xylopi laevigata bitkisinden izole edilen (+)-glausin, oksoglausin, (+)-norglausin, (+) norpredisentrin alkaloidlerin B16-F10 (fare melanomu), HepG2 (insan hepatosellüler karsinomu), K562 (insan kronik miyelositik lösemi) ve HL-60 (insan promyelositik lösemi) tümör hücre hatlarına karşı *in vitro* sitotoksik aktivite test edilmiştir. (+)-Glausin ve (+) norpredisentrin test edilen tüm kanser hücre hatlarında etkisiz kalırken, (+)-norglausin en yüksek sitotoksik aktiviteyi göstermiştir (Menezes vd. ,2016).

Dicranostigma leptopodum bitkisinden elde edilen korytüberin, koridin, izokoridin, protopin alkaloidlerinin H1299 (akciğer kanseri hücre hattı), MCF-7 (meme kanseri hücre hattı), SMMC-7721 (hepatokarsinom hücre hattı) üzerindeki sitotoksik etkileri araştırıldığı çalışmada tüm hücre hatlarında en düşük IC_{50} değeri ile en yüksek aktiviteyi korytüberin molekülü göstermiştir. Korytüberin için H1299 IC_{50} : $53,58 \pm 5,47 \mu$ M, MCF-7 IC_{50} : $72,30 \pm 1,72 \mu$ M, SMMC-7721 IC_{50} : $73,22 \pm 2,35 \mu$ M olarak belirlenmiştir. Standart ilaç olan doksorubisin için

IC₅₀ değerleri sırasıyla H1299 $11,70 \pm 1,53$, MCF-7 $7,82 \pm 0,89$, SMMC-7721 $2,74 \pm 0,34$ μ M olarak bulunmuştur. Koridin, izokoridin ve protopin test edilen hücre hatlarında uygulanan dozda (>100) düşük aktivite göstermiştir (Sun vd., 2014).

Didehidroglausin, 7-hidroksidehidro-glausin, 7-metildehidroglausin, (+)-norglausin, (+)-glausin gibi aporfin alkaloidleri *Corydalis turtchaninovii* yumrularından izole edilmiş ve A549 (insan akciğer kanser hattı), SK-OV-3 (yumurtalık kanseri hücre hattı), SK-MEL-2 (insan melanoma hücre hattı) ve HCT-15 (kolon kanseri hücre hattı) insan tümör hücre hatlarına karşı sitotoksiteleri açısından test edilmiştir. Didehidroglausin, sırasıyla $4,51 \pm 0,24$, $4,53 \pm 0,13$, $4,21 \pm 0,16$ ve $4,76 \pm 0,07$ μ M IC₅₀ değerleriyle A549, SK-OV-3, SK-MEL-2 ve HCT-15'e karşı en güçlü aktiviteyi göstermiştir. Ancak, 7-hidroksidehidro-glausin ve 7-metildehidroglausin, C-7'ye bağlı hidroksil veya metil gruplarının sitotoksiteyi azaltabileceğini gösteren nispeten zayıf antikanser aktivitesi göstermiştir. (+)-Glausin bileşiği ise (sırasıyla A549, SK-OV-3, SK-MEL-2 ve HCT-15'e karşı $26,76 \pm 3,82$, $21,57 \pm 1,01$, $20,39 \pm 1,45$ ve $18,63 \pm 4,15$ μ M IC₅₀ değerleri) Didehidroglausinden neredeyse 5 kat daha düşük antikanser aktivitesi göstermiştir; bu da C-6a ve C-7' deki (dehidroksiaporfin tipi) çift bağın sitotoksiteyi artırmada önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Qing vd., 2018).

Papaver alkaloidlerinden izokoridin, amurin, izotebain, armepavin, makrantin, mekambrin, mekambridin, narkotin, orientalidin, oripavin, salutaridin, tebain ve berberinin sağlıklı hücre hattı Vero hücresi ve HeLa servikal kanser hücre hatlarında MTT testi kullanılarak sitotoksik etkileri incelendiği bir çalışmada, izokoridin ve salutaridin moleküllerinin HeLa hücre hattı üzerinde etki göstermediğini, berberin molekülünün ise kanser hücre hattı HeLa üzerinde (IC₅₀: $12,08 \pm 0,14$ μ g/mL) yüksek sitotoksik etki gösterirken, normal hücre hattı Vero üzerinde düşük sitotoksik etki (IC₅₀: $71,14 \pm 1,59$ μ g/mL) gösterdiğini belirlenmiştir (Demirgan vd., 2016).

Tüm bu sonuçlar alkaloidlerin çeşitli kanser hücre hatları üzerinde güçlü antikanser potansiyellere sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda A549 hattı üzerinde çalışılan dozda sadece korytüberin etkili bulunmuştur (Korytüberin IC₅₀: $61,92 \pm 1,12$ μ M). Literatür araştırmalarında korytüberinin H1299 (akciğer kanseri hücre hattı) üzerinde (IC₅₀: $53,58 \pm 5,47$ μ M) etkili olduğu bulunmuştur (Wijaya, 2023). Bu anlamda sonuçlarımız literatür ile uyumludur.

İzole edilen moleküllerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlendi. Mikrodilüsyon yöntemine göre İzoboldin, Rutin, Korytüberin, Glausin, Salutaridin, Norizokoridin, Norglausin ve İzokoridin molekülleri *S. pneumoniae*, *S. aureus* ve *C.albicans*'a karşı antimikrobiyal etki göstermişlerdir. İzoboldin molekülü hariç tüm moleküller *S.pneumoniae*'ye karşı önemli derecede antibakteriyel etki göstermiştir. İzoboldin ve Norizokoridin; *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı 150 µM konsantrasyonunda, Korytüberin, Salutaridin ve Norglausin molekülleri de *C.albicans*'a karşı 150 µM konsantrasyonunda etkili bulunmuştur. *S. pneumoniae*'ye karşı en etkili moleküller ise Korytüberin, Salutaridin, Norizokoridin, Norglausin ve İzokoridin olmuştur (MİK: 4,688 µM). Antimikrobiyal etkinin yüksek olduğu *S. pneumoniae* için minimum bakterisidal madde konsantrasyonu (MBK) belirlendi. Sonuçlar Rutin için 37,5 µM bulunurken, diğer tüm maddelerin MBK değerleri >150 µM olarak belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalar alkaloidlerin bakteriler üzerinde güçlü antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada izoboldinin *S. aureus* üzerindeki minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) 64 µg/mL (Orhan vd., 2007), berberin için 15.63 µg/mL (Avcı vd., 2021) olarak belirlenmiştir.

Chelidonium majus' tan izole edilen izokinolin alkaloidlerinin antibakteriyel aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, keleritrinin *P. aeruginosa*' ya (MİK, 1,9 µg/mL) ve sanguinarinin *S. aureus*' a (MİK, 1,9 µg/mL) karşı etkili olduğunu belirlenmiştir (Yan vd., 2021). Glausin alkaloidinin ise *S. aureus* üzerinde yüksek bir inhibisyon sergileyerek 21.0 mm inhibisyon alanı oluşturduğu belirlenmiştir (Turmukhambetov vd., 2009).

Alkaloidlerin antifungal etkileri incelendiğinde, Keleritrinin ve keleritrinin *C. albicans*' a karşı güçlü antifungal aktivitesi olduğu bulunmuştur (Yan vd., 2021). Berberinin *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. glabrata*'ya karşı için MİK değeri 5-7.81 ve 5.89 µg/mL, keleritrin 2 µg/mL, sanguinarinin 16 µg/mL, protopin 4 mg/mL gibi güzel sonuçlarıyla güçlü antifungal ajanlar olduğunu göstermişlerdir (Akaberi vd., 2021; Avcı vd., 2021; Iransahy vd., 2014).

Endemik bitkiler, doğal olarak belirli bir bölgeye özgü oldukları için, bu bitkilerde bulunan aktif bileşiklerin çeşitliliği ve yoğunluğu, bitkinin çevresel koşullarına, toprağındaki minerallere, iklimine ve diğer ekolojik faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Bu nedenle, aynı türün farklı bölgelerde yetişen örnekleri farklı biyolojik aktiviteler veya kimyasal bileşik profilleri gösterebilir. Erzincan'a endemik *Glaucium cappadocicum* türünün alkaloid

bileşenleri, bölgesel faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Yetiştigi bölgenin iklimi, toprak yapısı ve çevresel stresler, bu bitkinin alkaloid sentezini etkileyebilir ve bu da bitkinin antimikrobiyal, antikolinesteraz veya antiproliferatif aktivitelerdeki farklılıklara neden olabilir. Bu durum, endemik bitkiler üzerine yapılan çalışmaların, çevresel ve genetik faktörler göz önünde bulundurularak daha dikkatli bir şekilde yorumlanması gerektiğini göstermektedir.

İzole edilen saf bileşiklerin *in vitro* α -glukozidaz enzim inhibisyonu yöntemiyle hipoglisemik etkileri standart bileşik olan akarboza karşı test edilmiştir. Sonuçlara göre en etkili enzim inhibitörü alkaloid ekstresinden izole edilen izoboldin molekülü olmuştur. İzoboldin (IC_{50} : 0,87 μ M), Korytüberin (IC_{50} : 1,19 μ M), Glausin (IC_{50} : 1,24 μ M), İzokoridin (IC_{50} : 1,34 μ M), Norglausin (IC_{50} : 1,43 μ M), Norizokoridin (IC_{50} : 1,55 μ M), Salutaridin (IC_{50} : 1,61 μ M), Rutin (IC_{50} : 1,88 μ M) olarak belirlenmiştir. İzoboldin, korytüberin ve glausin molekülleri IC_{50} değerleri bakımından akarboza göre çok daha etkili bulunmuştur.

Doğal ürünlerin ana sınıflarından biri olan alkaloidler ve türevleri, çeşitli tıbbi sorunlara karşı farmakolojik ajan kaynakları olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Birçok çalışma, alkaloidlerin diyabet yönetimindeki rolünü doğrulamıştır ve farklı tıbbi bitkilerden izole edilen çok sayıda alkaloidin diyabete karşı etki gösterdiği belirlenmiştir. Diğer doğal ürünler gibi, alkaloidler glukoz metabolizmasını AMP ile aktive olan protein kinaz, glukoz taşıyıcıları, glikojen sentaz kinaz-3, sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinler 1, glukokinaz, glukoz-6-fosfataz, asetil-CoA karboksilaz gibi birden fazla aday proteini inhibe ederek veya indükleyerek düzenler. Literatürde anti-diyabetik aktiviteleri olan alkaloidlerin ve hedef enzimlerinin kapsamlı bir incelemesi, alkaloidlerin anti-diyabetik ajanlar olarak kullanımını keşfetmeye yardımcı olmak amacıyla yürütülmektedir. Anti-diyabetik alkaloidler, glukoz tüketimini ve glikojen sentezini teşvik ederek hiperglisemiye karşı etkili bir rol oynar (Muhammad vd., 2021; Tang vd., 2017).

Berberin çoklu biyolojik aktivitesi ile dikkat çeken önemli bir alkaloiddir. AMP ile aktive edilen bir protein kinaz (AMPK) aktivatörü olarak bilinmektedir. İnsülin bağımsız hipoglisemik etkisi, mitokondriyal fonksiyonun inhibisyonu, glikolizin uyarılması ve α -glukozidazı inhibe eden AMPK yolunun aktivasyonu ile ilişkili olması antidiyabetik etkisini açıklamaktadır. Yapılan çalışmalar IC_{50} değeri: 0,68 μ M değeri ile α -glukozidaz enzimi üzerindeki güçlü inhibisyon etkisini de ortaya koymaktadır (Pan vd., 2003).

Jatrorrhizin, Magnoflorin, Palmatin, Tembetarin alkaloidleri; kan şekerinin düşürülmesi, insülin duyarlılığının artırılması, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu (IC_{50} : $\sim 1,05 \mu M$), karbohidrat metabolizması üzerindeki doğrudan etkileri ile antidiyabetik etkileri kanıtlanmış biyoaktif alkaloidlerdir (Khanal vd., 2019; Behl vd., 2022).

Trivalvaria costata dallarından elde edilen dimerik aporfin alkaloidleri, trivalkostatinler AJ, izokinolin alkaloidleri trivalkostaizokinolin, bidebiline A, bidebiline B, heteropsin ve urabain, α -glukozidaz inhibitörleri olarak test edilmiştir. Bidebiline A ve B, heteropsin ve urabain, sırasıyla 8,35, 9,84, 4,14 ve 10,9 μM 'lik IC_{50} değerleriyle, pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozdan çok daha yüksek aktivite göstermişlerdir (IC_{50} : 185,7 μM). Aktivite genellikle çeşitli aporfin alkaloidleri için bildirilmiştir (Tuzimski vd., 2023).

Bir protoberberin alkaloidi olan palmatinin α -glukozidaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkisinin incelendiği çalışmada, $9,39 \pm 0,27 \mu M$ lik bir IC_{50} değeri ile belirlenirken, başka bir çalışmada Palmatin ve berberin α -glukozidaz enzimi üzerinde sırasıyla, $8,7 \pm 1,82 \mu M$ ve 13,3 μM IC_{50} değerleriyle antidiyabetik aktivite gösterdiği kaydedilmiştir (Aloko ve Bello, 2021).

Ayrıca izoboldin üzerine yapılan bir çalışmada, izoboldin IC_{50} : 243.25 $\mu g/mL$ (akarboz IC_{50} : 107.19 $\mu g/mL$) değeri ile standart inhibitör olan akarbozdan daha düşük aktivite sergilemiştir (Phoopha vd., 2020).

Literatür incelemesi sonucunda alkaloidlerin antidiyabetik aktivitesi üzerine pek çok çalışma mevcutken, *Glaucium* türlerinden izole edilen alkaloidler üzerine pek fazla çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle tez kapsamında yapılan biyolojik aktivite çalışmaları izole edilen bazı moleküller için ilk kapsamlı çalışma niteliğindedir.

6. ÖNERİLER

- ❖ *Glaucium cappadocicum* bitkisinden hazırlanan ekstrelerin antioksidan, antikolinesteraz, antiproliferatif ve antimikrobiyal çalışmalarda güçlü aktivitelere sahip olduğu belirlenmiştir.
- ❖ Bu ekstrelerin 250 µg/mL dozunda yapılan çalışmalarda MCF-7 ve MDA-MB-453 meme kanseri, HT-29 kolon kanseri, PC-3 prostat kanseri hücre hatları üzerinde anlamlı sonuçlar bulunmuştur. İzole edilen moleküllerin bu hücre hatları üzerindeki proliferasyonu incelenebilir. Etkili bulunan sonuçlar için ileri kanser çalışmaları yapılarak antiproliferasyonu hangi yolların inhibisyonuna bağlı olarak sergilediği belirlenebilir.
- ❖ Bitkiden izole edilen sekonder metabolitler çalışılan dozlarda antikolinerjik ve antidiyabetik enzimler üzerinde oldukça güçlü inhibisyon sergilediği belirlenmiştir. Özellikle alkaloid yapısındaki sekonder metabolitlerden korytüberin, izoboldin ve glausinin gösterdiği yüksek inhibisyon *in vivo* çalışmalara kapı aralamıştır. Bu metabolitlerin öngörülen hastalıklar üzerindeki tedavi edici etkileri *in vivo* hayvan deneyleri ile incelenebilir.
- ❖ İzole edilen moleküllerin (Korytüberin, Glausin, Salutaridin, Norizokoridin, Norglausin, İzokoridin) *S. pneumoniae* bakterisi üzerindeki minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) oldukça etkili bulunmuştur. Yeni antibiyotiklerin keşfinde bu moleküllerin rolü araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Aazmi, A., Zhang, D., Mazzaglia, C., Yu, M., Wang, Z., Yang, H., ... & Ma, L. (2024). Biofabrication methods for reconstructing extracellular matrix mimetics. *Bioactive Materials*, 31, 475-496.
- Abdel-Aziz, S. M., Aeron, A., & Kahil, T. A. (2016). Health benefits and possible risks of herbal medicine. *Microbes in food and health*, 97-116.
- Abdulrahman, H. A., Dyary, H. O., Mohammed, R. N., Hamad, D. S., Abdul-Star, F., & Saeed, N. M. (2024). Preventing free radical damage: The significance of including antioxidants in diet to strengthen immunity. *Open Veterinary Journal*, 14(7), 1526.
- Abood, R. S., & Alaaraji, S. F. (2023). An Association of Galanin with some biochemical parameters in Iraqi Type II Diabetic Patients. *Journal of University of Anbar for Pure Science*, 17(2), 107-114.
- Acibuca, V., Bahsi, N., & Budak, D. B. (2025). The purposes and attitudes of individuals to use medicinal plants in Turkey. *Ciência Rural*, 55(03), e20240134.
- Adersen, A., Gauguin, B., Gudiksen, L., & Jäger, A. K. (2006). Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of ethnopharmacology*, 104(3), 418-422.
- Arif, M. S. I. (2017). *Determination of Analgesic Activity of Two Medicinal Plants of Bangladesh* (Doctoral dissertation, East West University).
- Ahmad, A., Biersack, B., Li, Y., Kong, D., Bao, B., Schobert, R., ... & H Sarkar, F. (2013). Targeted regulation of PI3K/Akt/mTOR/NF- κ B signaling by indole compounds and their derivatives: mechanistic details and biological implications for cancer therapy. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 13(7), 1002-1013.
- Akaberi, T., Shourgashti, K., Emami, S. A., & Akaberi, M. (2021). Phytochemistry and pharmacology of alkaloids from *Glaucium* spp. *Phytochemistry*, 191, 112923.
- Akıncıoğlu, H., & Gülçin, İ. (2020). Potent acetylcholinesterase inhibitors: potential drugs for Alzheimer's disease. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 20(8), 703-715.
- Alali, F., Njadat, R. M., Mhaidat, N. M., Alkofahi, A. S., Al-Gharaibeh, M., & El-Elimat, T. (2013). Alkaloids from *Glaucium aleppicum* Papaveraceae. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 108(894), 1-12.
- Al-Bader, T., Byrne, A., Gillbro, J., Mitarotonda, A., Metois, A., Vial, F., ... & Laloeuf, A. (2012). Effect of cosmetic ingredients as anticellulite agents: synergistic action of actives with in vitro and in vivo efficacy. *Journal of cosmetic dermatology*, 11(1), 17-26.
- Al-Hasani, R., & Bruchas, M. R. (2011). Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 115(6), 1363-1381.

- Alim, N. E., & Beşler, Z. N. (2022). Kardiyovasküler Hastalıklarda Nutrasötikler. *Beslenme ve Diyetetikte Biyopsikososyal Konulara Multidisipliner Yaklaşım*, 157.
- Alqadi, S. F. (2024). Diabetes Mellitus and Its Influence on Oral Health. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 107-120
- Aloko, S., & Bello, M. O. (2021). The role of alkaloids in the management of diabetes mellitus. *Structure and Health Effects of Natural Products on Diabetes Mellitus*, 267-278.
- Al-Saleem, M. S., Basudan, O. A., Salem, W. M., El-Gamal, A. A., Nasr, F. A., Abdel-Mageed, W. M., & Alqasoumi, S. I. (2024). Alkaloids and phenolic constituents from *Glaucium corniculatum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 112, 104780.
- Al-Salman, H. N. K., Hsu, C. Y., Jawad, Z. N., Mahmoud, Z. H., Mohammed, F., Saud, A., ... & Kianfar, E. (2023). Graphene oxide-based biosensors for detection of lung cancer: A review. *Results in Chemistry*, 101300.
- Al-Snafi, A. E. (2018). Traditional uses of Iraqi medicinal plants. *IOSR Journal of Pharmacy*, 8(8), 32-96.
- Alvarez, M. A. (2016). Plant biotechnology for health. *Springer International Pu.*
- Alves de Almeida, A. C., de-Faria, F. M., Dunder, R. J., Manzo, L. P. B., Souza-Brito, A. R. M., & Luiz-Ferreira, A. (2017). Recent trends in pharmacological activity of alkaloids in animal colitis: potential use for inflammatory bowel disease. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2017.
- Anand, U., Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A., & Lakhssassi, N. (2019). A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*, 9(11), 258.
- Andrade-Guerrero, J., Santiago-Balmaseda, A., Jeronimo-Aguilar, P., Vargas-Rodríguez, I., Cadena-Suárez, A. R., Sánchez-Garibay, C., ... & Soto-Rojas, L. O. (2023). Alzheimer's Disease: An Updated Overview of Its Genetics. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3754.7
- Arafa, A. M., Mohamed, M. E. S., & Eldahmy, S. I. (2016). The aerial parts of yellow horn poppy (*Glaucium flavum* Cr.) growing in Egypt: Isoquinoline alkaloids and biological activities. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(5), 323.
- Arendrup, M. C., Meletiadis, J., Mouton, J. W., Lagrou, K., Hamal, P., & Guinea, J. (2020). *Eucast Definitive Document e. def 7.3. 2.*
- Arimura, G. I., Ozawa, R., Shimoda, T., Nishioka, T., Boland, W., & Takabayashi, J. (2000). Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature*, 406(6795), 512-515.
- Altınkurt, O., (1969). *Glaucium flavum* (sarı gelincik) ve *Glaucium rubrum* (kırmızı gelincik) un farmakolojik, insektisit ve antibiyotik vasıfları. *Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi*. 29(2), 113-118 s.

- Ashour, M. A., & Soomro, S. (2024). Antihistaminic, Antiarthritic, and Antiobesity Activities of Yellow Horn Poppy Natural Products. *Pharmacognosy Magazine*, 09731296231220981.
- Astrain-Redin, N., Sanmartin, C., Sharma, A. K., & Plano, D. (2023). From Natural Sources to Synthetic Derivatives: The Allyl Motif as a Powerful Tool for Fragment-Based Design in Cancer Treatment. *Journal of Medicinal Chemistry*, 66(6), 3703-3731.
- Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Stuppner, H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology advances*, 33(8), 1582-1614.
- Augustin, J.M.; Kuzina, V.; Andersen, S.B.; Bak, S. (2011). Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, 72, 435–457.
- Avci, F. G., Atas, B., Toplan, G. G., Gurer, C., & Akbulut, B. S. (2021). Antibacterial and antifungal activities of isoquinoline alkaloids of the Papaveraceae and Fumariaceae families and their implications in structure–activity relationships. *Studies in Natural Products Chemistry*, 70, 87-118.
- Ayaz, M., Ullah, F., Sadiq, A., Kim, M. O., & Ali, T. (2019). Natural products-based drugs: potential therapeutics against Alzheimer’s disease and other neurological disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1417.
- Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles, flore d’Algérie et du Maghreb, substances végétales d’Afrique, d’Orient et d’Occident. *Ed Librairie moderne Rouiba*, 46.
- Babashpour-Asl, M., & Barez, S. R. (2023). Therapeutic and medicinal effects of snowdrop (*Galanthus* spp.) in Alzheimer's disease: A review. *Journal of Education and Health Promotion*, 12(1), 128.
- Badri, S., Basu, V. R., Chandra, K., & Anasuya, D. (2019). A review on pharmacological activities of alkaloids. *World Journal of Current Medical and Pharmaceutical Research*, 230-234.
- Baker, J.T., Borris, R.P., Carté, B., Cordell, G.A., Soejarto, D.D., Cragg, G.M., Gupta, M.P., Iwu, M.M., Madulid, D.R., Tyler, V.E. (1995). Natural product drug discovery and development: new perspectives on international collaboration. *Journal of Natural Products*, Vol. 58 (9), pp. 1325–1357.
- Balakrishna, A., & Kumar, M. H. (2015). Evaluation of synergetic anticancer activity of berberine and curcumin on different models of A549, Hep-G2, MCF-7, Jurkat, and K562 cell lines. *BioMed research international*, 2015.
- Bauer, A. W. (1996). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. of Clinc. Path.*, 45, 149-158.
- Barbosa-Filho, J. M., Piuvezam, M. R., Moura, M. D., Silva, M. S., Lima, K. V. B., da-Cunha, E. V. L., ... & Takemura, O. S. (2006). Anti-inflammatory activity of alkaloids: A twenty-century review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16, 109-139.

- Behl, T., Gupta, A., Albratty, M., Najmi, A., Meraya, A. M., Alhazmi, H. A., ... & Bungau, S. G. (2022). Alkaloidal phytoconstituents for diabetes management: exploring the unrevealed potential. *Molecules*, 27(18), 5851.
- Bekdash, R. A. (2021). The cholinergic system, the adrenergic system and the neuropathology of Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1273.
- Bestfoods, U. and America, N. (2003). USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods.
- Bhambhani, S., Kondhare, K. R., & Giri, A. P. (2021). Diversity in chemical structures and biological properties of plant alkaloids. *Molecules*, 26(11), 3374.
- Bhatla, S. C., & Lal, M. A. (2023). Secondary metabolites. In Plant physiology, development and metabolism (pp. 765-808). Singapore: *Springer Nature* Singapore.
- Bhatti, M. Z., Ismail, H., & Kayani, W. K. (2022). Plant secondary metabolites: therapeutic potential and pharmacological properties. *Secondary Metabolites-Trends and Reviews*.
- Binkhathlan, Z., & Lavasanifar, A. (2013). P-glycoprotein inhibition as a therapeutic approach for overcoming multidrug resistance in cancer: current status and future perspectives. *Current cancer drug targets*, 13(3), 326-346.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Bogdanov, M. G., Svinyarov, I., Keremedchieva, R., & Sidjimov, A. (2012). Ionic liquid-supported solid-liquid extraction of bioactive alkaloids. I. New HPLC method for quantitative determination of glaucine in *Glaucium flavum* Cr (Papaveraceae). *Separation and purification technology*, 97, 221-227.
- Bortsov, A. V., Millikan, R. C., Belfer, I., Boortz-Marx, R. L., Arora, H., & McLean, S. A. (2012). μ -Opioid receptor gene A118G polymorphism predicts survival in patients with breast cancer. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 116(4), 896-902.
- Brochmann-Hanssen, E., Nielsen, B., & Hirai, K. (1967). Opium alkaloids IV. Isolation of isoboldine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56(6), 754-756.
- Boulaaba, M., Kalai, F. Z., Dakhlaoui, S., Ezzine, Y., Selmi, S., Bourgou, S., ... & Ksouri, R. (2019). Antioxidant, antiproliferative and anti-inflammatory effects of *Glaucium flavum* fractions enriched in phenolic compounds. *Medicinal Chemistry Research*, 28(11), 1995-2001.
- Bournine, L., Bensalem, S., Wauters, J. N., Iguer-Ouada, M., Maiza-Benabdesselam, F., Bedjou, F., ... & Frédérick, M. (2013). Identification and quantification of the main active anticancer alkaloids from the root of *Glaucium flavum*. *International journal of molecular sciences*, 14(12), 23533-23544

- Bournine , L., Bensalem, S., Peixoto, P., Gonzalez, A., Maiza-Benabdesselam, F., Bedjoua, F., ... Bellahcène, A. (2013). Revealing The Anti-Tumoral Effect of Algerian *Glaucium flavum* Roots Against Human Cancer Cells.
- Bozkurt, B., Ulkar, D., Nurlu, N., Kaya, G. I., & Unver-Somer, N. (2022). Chemical profile, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and prolyl oligopeptidase inhibitory activity of *Glaucium corniculatum* subsp. *refractum*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58.
- Bozkurt, B., Ulkar, D., Nurlu, N., Coban, G., Gumus, Z. P., & Unver-Somer, N. (2024). Variability of Isoquinoline Alkaloid Profiles and Anticholinesterase Activities with Binding-Mode Predictions of *Glaucium flavum* Population. *Chemistry & Biodiversity*, 21(4), e202301865.
- Bozkurt, B., Kaya, G. I., Onur, M. A., & Unver-Somer, N. (2021). Chemo-profiling of some Turkish *Galanthus* L.(Amaryllidaceae) species and their anticholinesterase activity. *South African Journal of Botany*, 136, 65-69.
- Bowen, D. M., Smith, C. B., White, P. A. M. E. L. A., & Davison, A. N. (1976). Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain: a journal of neurology*, 99(3), 459-496.
- Breitmaier, E. (2006). Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. *John Wiley & Sons*.
- Bribi, N. (2018). Pharmacological activity of alkaloids: a review. *Asian journal of botany*, 1(1), 1-6.
- Bribi, N., Belmouhoub, M., & Maiza, F. (2017). Anti-inflammatory and analgesic activities of ethanolic extract of *Fumaria capreolat*. *Phytothérapie*, 15(4), 211-216.
- Bribi, N., Algieri, F., Rodriguez-Nogales, A., Garrido-Mesa, J., Vezza, T., Maiza, F., ... & Galvez, J. (2015). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of total alkaloid extract from *Fumaria capreolata*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
- Brickell, C. D. (1984). In *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (8. Cilt). Davis, P. H. (Ed.), *Glaucium adans* (s.214-216). Edinburgh: *Edinburgh University Press*.
- Broadstock, M., Ballard, C., & Corbett, A. (2014). Latest treatment options for Alzheimer's disease, Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy bodies. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 15(13), 1797-1810.
- Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the definition of cancer. *Molecular Cancer Research*, 21(11), 1142-1147.
- Bruneton, J. (1995). Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal Plants. *Lavoisier publishing*.
- Bukowski, K., Kciuk, M., & Kontek, R. (2020). Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *International journal of molecular sciences*, 21(9), 3233.

- Burle, S. S., Gupta, K. R., Lade, S. N., Rangari, S. W., & Umekar, M. J. (2023). Antioxidants Obtained from the Natural Sources: Importance in Human Health. In *Recent Developments in Antioxidants from Natural Sources*. IntechOpen.
- Cabo, J., Cabo, P., Jimenez, J., & Zarzuelo, A. (1988). *Glaucium flavum* Crantz. Part v: Hypoglycemic activity of the aqueous extract. *Phytotherapy Research*, 2(4), 198-200.
- Castro-Saavedra, S., Fuentes-Barros, G., Tirapegui, C., Acevedo-Fuentes, W., Cassels, B. K., Barriga, A., & Vilches-Herrera, M. (2016). Phytochemical analysis of alkaloids from the chilean endemic tree *Cryptocarya alba*. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 61(3), 3076-3080.
- Cavdar, H., Senturk, M., Guney, M., Durdagi, S., Kayik, G., Supuran, C. T., & Ekinci, D. (2019). Inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase with uracil derivatives: kinetic and computational studies. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 34(1), 429-437.
- Chaachouay, N., & Zidane, L. (2024). Plant-derived natural products: a source for drug discovery and development. *Drugs and Drug Candidates*, 3(1), 184-207.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- Chen, D. P., Wong, C. K., Leung, P. C., Fung, K. P., Bik-San Lau, C., Lau, C. P., ... & Lam, C. W. K. (2011). Anti-inflammatory activities of Chinese herbal medicine sinomenine and Liang Miao San on tumor necrosis factor- α -activated human fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 457-468.
- Chen, R., Zhang, D., Chaudhary, A. A., Khan, S. U. D., Vohra, S., Vohra, Y., ... & Khan, S. (2025). Deciphering the *Withania somnifera* alkaloids potential for cure of neurodegenerative disease: an in-silico study. *AMB Express*, 15(1), 29.
- Chen, W., Zheng, R., Zhang, S., Zeng, H., Zuo, T., Xia, C., Yang, Z. and He, J. (2017). Cancer incidence and mortality in China in 2013: an analysis based on urbanization level. *Chinese Journal of Cancer Research*, 29 (1), 1-10.
- Chen, Z. R., Huang, J. B., Yang, S. L., & Hong, F. F. (2022). Role of cholinergic signaling in Alzheimer's disease. *Molecules*, 27(6), 1816.
- Chen, D., Mubeen, B., Hasnain, A., Rizwan, M., Adrees, M., Naqvi, S. A. H., ... & Din, G. M. U. (2022). Role of promising secondary metabolites to confer resistance against environmental stresses in crop plants: Current scenario and future perspectives. *Frontiers in plant science*, 13, 881032.
- Chen, S., Wang, X., Cheng, Y., Gao, H., & Chen, X. (2023). A Review of Classification, Biosynthesis, Biological Activities and Potential Applications of Flavonoids. *Molecules*, 28(13), 4982.
- Chen, R., Wang, M., Keasling, J. D., Hu, T., & Yin, X. (2024). Expanding the structural diversity of terpenes by synthetic biology approaches. *Trends in Biotechnology*.

- Chrysargyris, A., Petrovic, J. D., Tomou, E. M., Kyriakou, K., Xylia, P., Kotsoni, A., ... & Tzortzakis, N. (2024). Phytochemical Profiles and Biological Activities of Plant Extracts from Aromatic Plants Cultivated in Cyprus. *Biology*, 13(1), 45.
- Ckless, K., Schlottfeldt, J. L., Pasqual, M., Moyna, P., Henriques, J. A. P., & Wajner, M. (1995). Inhibition of in-vitro lymphocyte transformation by the isoquinoline alkaloid berberine. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 47(12A), 1029-1031.
- Cody, V. (1989). Physical and conformational properties of flavonoids. *Environmental goitrogenesis*, 35-42.
- Cortijo, J., Villagrasa, V., Pons, R., Berto L., Marti-Cabrera, M., Martinez-Losa, M., Domenech, T., Beleta, J., Morcillo, E.J., 1999. Bronchodilator and anti-inflammatory activities of glaucine: in vitro studies in human airway smooth muscle and polymorphonuclear leukocytes. *Br J Pharmacol*, 127:1641–1651
- Coşar, G., Bilgehan, H., & Gözler, T. (1981). The antibacterial effects of some alkaloids isolated from *Glaucium flavum* Crantz. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 15(2), 105-109.
- Cox, P.A. and Balick, M.J. (1994). The ethnobotanical approach to drug discovery. *Scientific American*, Vol. 270 (6), pp. 82–87.
- Cragg, G. M., & Pezzuto, J. M. (2016). Natural products as a vital source for the discovery of cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents. *Medical Principles and Practice*, 25(Suppl. 2), 41-59.
- Cushnie, T. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence Activities. *International journal of antimicrobial agents*, 44(5), 377-386.
- Dhyani, P., Quispe, C., Sharma, E., Bahukhandi, A., Sati, P., Attri, D. C., ... & Cho, W. C. (2022). Anticancer potential of alkaloids: a key emphasis to colchicine, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine and vincamine. *Cancer cell international*, 22(1), 206.
- Da-Cunha, E. V. L., Fachine, I. M., Guedes, D. N., Barbosa-Filho, J. M., & Da Silva, M. S. (2005). Protoberberine alkaloids. In *The Alkaloids: Chemistry and Biology* (Vol. 62, pp. 1-75).
- Daniel, M. (2006). Medicinal plants: chemistry and properties. *Science publishers*.
- Daskalova, E., Iskrenova, E., Kiryakov, H. G., & Evstatieva, L. (1988). Minor alkaloids of *Glaucium flavum*. *Phytochemistry*, 27(3), 953-955.
- Demirgan, R., Karagöz, A., Pekmez, M., Önay-Uçar, E., Artun, F. T., Gürer, Ç., & Mat, A. (2016). In vitro anticancer activity and cytotoxicity of some papaver alkaloids on cancer and normal cell lines. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 13(3), 22-26.
- Demirtaş, E. (2023). Naringenin Nedir? *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 49(2), 18-28.

- Deniz, L., Serteser, A., Kargıoğlu, M., 2010. Uşak Üniversitesi ve Yakın Çevresindeki Bazı Bitkilerin Mahhali Adları ve Etnobotanik Özellikleri. *AKÜ Fen Bilimleri Dergisi*. 2010, 01 57-72 s.
- Deshmukh, C. D., Jain, A., & Nahata, B. (2015). Diabetes mellitus: a review. *Int. J. Pure Appl. Biosci*, 3(3), 224-230.
- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., ... & Kim, H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). In *Recent advances in natural products analysis* (pp. 505-567). Elsevier.
- Dirir, A. M., Daou, M., Yousef, A. F., & Yousef, L. F. (2022). A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes. *Phytochemistry Reviews*, 21(4), 1049-1079.
- Divekar, P. A., Narayana, S., Divekar, B. A., Kumar, R., Gadratagi, B. G., Ray, A., ... & Behera, T. K. (2022). Plant secondary metabolites as defense tools against herbivores for sustainable crop protection. *International journal of molecular sciences*, 23(5), 2690.
- Doncheva vd., Doycheva, I., & Philipov, S. (2016). Alkaloid chemotypes of *Glaucium flavum* (*Papaveraceae*) from Bulgaria. *Biochemical Systematics and Ecology*, 68, 1-5).
- Dong, J. W., Cai, L., Fang, Y. S., Xiao, H., Li, Z. J., & Ding, Z. T. (2015). Proaporphine and aporphine alkaloids with acetylcholinesterase inhibitory activity from *Stephania epigaea*, *Fitoterapia*, 104, 102-107.
- Doycheva, I., Yankova-Tsvetkova, E., & Stanilova, M. (2017). Somatic embryogenesis induction in *Glaucium flavum* Crantz.(*Papaveraceae*). *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, 70(4).
- Eid, S. Y., El-Readi, M. Z., & Wink, M. (2012). Digitonin synergistically enhances the cytotoxicity of plant secondary metabolites in cancer cells. *Phytomedicine*, 19(14), 1307-1314.
- Eid, S. Y., El-Readi, M. Z., Eldin, E. E. M. N., Fatani, S. H., & Wink, M. (2013). Influence of combinations of digitonin with selected phenolics, terpenoids, and alkaloids on the expression and activity of P-glycoprotein in leukaemia and colon cancer cells. *Phytomedicine*, 21(1), 47-61.
- El Aziz, M. M. A., Ashour, A. S., & Melad, A. G. (2019). A review on saponins from medicinal plants: chemistry, isolation, and determination. *J. Nanomed. Res*, 8(1), 282-288.
- El Sohaimy, S.A. (2012). Functional foods and nutraceuticals-modern approach to food Science. *World Applied Sciences Journal*, Vol. 20 (5), pp. 691–708.
- El-Readi, M. Z., Eid, S., Ashour, M. L., Tahrani, A., & Wink, M. (2013). Modulation of multidrug resistance in cancer cells by chelidonine and Chelidonium majus alkaloids. *Phytomedicine*, 20(3-4), 282-294.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.

- Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A. (2023). A Comprehensive review on the biological, agricultural, and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. *International. Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3266.
- Erb, M., & Kliebenstein, D. J. (2020). Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: the blurred functional trichotomy. *Plant physiology*, 184(1), 39-52.
- Erdogan Orhan, I., Orhan, G., & Gurkas, E. (2011). An overview on natural cholinesterase inhibitors-a multi-targeted drug class-and their mass production. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(10), 836-842.
- Fahnestock, M., & Shekari, A. (2019). ProNGF and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*, 13, 129.
- Farombi, E.O. (2003). African indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prophylactic agents. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 2 (12), pp. 662–671.
- Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, M. S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 11(1), 52-67.
- Feyizoğlu, B. B. (2023). Diabetes And Periodontitis. *Medicine and Health Sciences Researches*, 75.
- Fu, C., Guan, G., & Wang, H. (2018). The anticancer effect of sanguinarine: A review. *Current Pharmaceutical Design*, 24(24), 2760-2764.
- Foster, J. W., Woodruff, H. B., & McDaniel, L. E. (1943). Microbiological aspects of penicillin: III. Production of penicillin in surface cultures of *Penicillium notatum*. *Journal of Bacteriology*, 46(5), 421-433.
- Gao, Y., MI, G., Liu, S., & Yang, Z. (2016). On antipsychotic effects of l-Scoulerine. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 103-108.
- Ganguly, T., Badheka, L. P., & Sainis, K. B. (2001). Immunomodulatory effect of *Tylophora indica* on Con A induced lymphoproliferation. *Phytomedicine*, 8(6), 431-437.
- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules* (Basel, Switzerland), Vol. 15 (12), pp. 8813–8826
- Gastpar, H., Criscuolo, D., & Dieterich, H. A. (1984). Efficacy and tolerability of glaucine as an antitussive agent. *Current medical research and opinion*, 9(1), 21-27.
- Geldmacher, D. S. (2004). Donepezil (Aricept®) for treatment of Alzheimer's disease and other dementing conditions. *Expert review of neurotherapeutics*, 4(1), 5-16.
- Giri, M., Kendre, P. N., Bhalke, R., Pande, V., Autade, K., & Sumbe, R. (2024). Combinatorial therapy in Alzheimer's disease. In *Alzheimer's Disease and Advanced Drug Delivery Strategies* (pp. 439-461). Academic Press.

- Gregory, J., Vengalasetti, Y. V., Bredesen, D. E., & Rao, R. V. (2021). Neuroprotective herbs for the management of Alzheimer's disease. *Biomolecules*, 11, 543.
- Gharat, R., Dixit, G., Khambete, M., & Prabhu, A. (2023). Targets, trials, and tribulations in Alzheimer therapeutics. *European Journal of Pharmacology*, 176230.
- Giacobini, E. (2003). Cholinesterases: New roles in brain function and in Alzheimer's disease. *Neurochemical Research*, 28, 515-522.
- Girotra, P., Behl, T., Sehgal, A., Singh, S., & Bungau, S. (2022). Investigation of the molecular role of brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Neuroscience*, 72(2), 173-186.
- Golpour, M., Mousavi, T., Alimohammadi, M., Mosayebian, A., Shiran, M., Alizadeh Navaei, R., & Rafiei, A. (2021). The effectiveness of colchicine as an anti-inflammatory drug in the treatment of coronavirus disease 2019: Meta-analysis. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 35, 20587384211031763.
- Gong, Y., Li, S., Wang, W., Li, Y., Ma, W., & Sun, S. (2019). In vitro and in vivo activity of chelerythrine against *Candida albicans* and underlying mechanisms. *Future Microbiology*, 14(18), 1545-1557.
- Goyal, M. R., Joy, P. P., & Suleria, H. A. R. (Eds.). (2019). Plant secondary metabolites for human health: Extraction of bioactive compounds. *CRC Press*.
- Gözler, T. (1982). Alkaloids of Turkish *Glaucium* species. *Planta Medica*, 46(11), 179-180.
- Greig, N. H., Lahiri, D. K., & Sambamurti, K. (2002). Butyrylcholinesterase: An important new target in Alzheimer's disease therapy. *International Psychogeriatrics*, 14(S1), 77-91.
- Griesbach, R. (2005). Biochemistry and genetics of flavonoid-based flower color. *Plant Breeding Reviews*, 25, 89-114.
- Grundon, M. F. (Ed.). (2007). *The Alkaloids: Volume 7*. Royal Society of Chemistry.
- Gupta, V., Sharma, A., Jamwal, G., Gupta, S. K., & Razdan, V. K. (2025). Penicillium Genus as a Source of Metabolites for Agricultural Applications. In *Fungal Metabolites for Agricultural Applications: Biostimulation and Crop Protection by Fungal Biotechnology* (pp. 181-198). Cham: Springer Nature Switzerland.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.
- Güçlü-Üstündağ, Ö., & Mazza, G. (2007). Saponins: Properties, applications, and processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(3), 231-258.
- Gülçin, İ., Scozzafava, A., Supuran, C. T., Akıncıoğlu, H., Koksall, Z., Turkan, F., & Alwasel, S. (2016). The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on metabolic enzymes including acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, glutathione S-transferase, lactoperoxidase, and carbonic anhydrase isoenzymes I, II, IX, and XII. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(6), 1095-1101.

- Günbatan, T. U. Ğ. B. A., Gürbüz, İ. L. H. A. N., & ÖZKAN, A. M. G. (2016). The current status of ethnopharmacobotanical knowledge in Çamlıdere (Ankara, Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 40(3), 241-249.
- Gutiérrez-Grijalva, E. P., López-Martínez, L. X., Contreras-Angulo, L. A., Elizalde-Romero, C. A., & Heredia, J. B. (2020). Plant alkaloids: Structures and bioactive properties. In *Plant-Derived Bioactives: Chemistry and Mode of Action* (pp. 85-117).
- Hadzhieva, B., & Petkova-Dimitrova, V. (2024). Proportion of over-the-counter medicines containing a plant component and those with synthetic substances administered among children in a Bulgarian population. *Pharmaceuticals*, 17(2), 192.
- Haji, A. F., Ostad, S. N., Khanavi, M., Haji, A. A., Farahanikia, B., & Salarytabar, A. (2013). Cytotoxicity of two species of *Glaucium* from Iran. *Journal of Natural Products*, 76(7), 123-134.
- Halder, M., & Jha, S. (2023). Medicinal plants and bioactive phytochemical diversity: A fountainhead of potential drugs against human diseases. In *Medicinal Plants: Biodiversity, Biotechnology and Conservation* (pp. 39-93). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Hanson, J. R. (2003). *Natural Products: The Secondary Metabolites*. 2p.
- Hao, D. C., Ge, G. B., & Xiao, P. G. (2018). Anticancer drug targets of *Salvia* phytometabolites: Chemistry, biology, and omics. *Current Drug Targets*, 19(1), 1-20.
- Harborne, J. B., & Marby, T. J. (1982). *The Flavonoids: Advances in Research*. Chapman and Hall, London.
- Hartleb, I., & Seifert, K. (1995). Triterpenoid saponins from *Verbascum songaricum*. *Phytochemistry*, 38, 221-224.
- Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
- Hawkins, B. (2007). *Plants for life medicinal plant conservation and botanic gardens*. BGCI.
- Heiss, C., Keen, C. L., & Kelm, M. (2010). Flavanols and cardiovascular disease prevention. *European Heart Journal*, 31(21), 2583-2592.
- Hillier, S. G., & Lathe, R. (2019). Terpenes, hormones and life: Isoprene rule revisited. *Journal of Endocrinology*, 242(2), R9-R22.
- Hoet, S., Stévigny, C., Block, S., Opperdoes, F., Colson, P., Baldeyrou, B., ... & Quetin-Leclercq, J. (2004). Alkaloids from *Cassytha filiformis* and related aporphines: Antitrypanosomal activity, cytotoxicity, and interaction with DNA and topoisomerases. *Planta Medica*, 70(5), 407-413.
- Hooper, L., & Cassidy, A. (2006). A review of the health care potential of bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(12), 1805-1813.

- Huang, L. K., Chao, S. P., & Hu, C. J. (2020). Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease. *Journal of Biomedical Science*, 27(1), 1-13.
- Huang, M., Lu, J. J., & Ding, J. (2021). Natural products in cancer therapy: Past, present, and future. *Natural Products and Bioprospecting*, 11, 5-13.
- Huang, Y., Li, G., Hong, C., Zheng, X., Yu, H., & Zhang, Y. (2021). Potential of steroidal alkaloids in cancer: Perspective insight into structure–activity relationships. *Frontiers in Oncology*, 11, 733369.
- Huang, Y. H., Zhang, Z. Z., & Jiang, J. X. (1991). Relaxant effects of protopine on smooth muscles. *Zhongguo Yao Li Xue Bao = Acta Pharmacologica Sinica*, 12(1), 16-19.
- Hung, T. M., Na, M., Dat, N. T., Ngoc, T. M., Youn, U., Kim, H. J., ... & Bae, K. (2008). Cholinesterase inhibitory and anti-amnesic activity of alkaloids from *Corydalis turtschaninovii*. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1), 74-80.
- Imai, S., Kajiyama, S., Kitta, K., Miyawaki, T., Matsumoto, S., Ozasa, N., ... & Fukui, M. (2023). Eating vegetables first regardless of eating speed has a significant reducing effect on postprandial blood glucose and insulin in young healthy women: Randomized controlled cross-over study. *Nutrients*, 15(5), 1174.
- Inohara, N., Ogura, Y., Fontalba, A., Gutierrez, O., Pons, F., Crespo, J., Fukase, K., Inamura, S., Kusumoto, S., & Hashimoto, M. (2003). Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2: Implications for Crohn's disease. *Journal of Biological Chemistry*, 278(8), 5509–5512.
- Iranshahy, M., Quinn, R. J., & Iranshahi, M. (2014). Biologically active isoquinoline alkaloids with drug-like properties from the genus *Corydalis*. *RSC Advances*, 4(31), 15900-15913.
- Islam, M. R., Akash, S., Islam, M. M., Sarkar, N., Kumer, A., Chakraborty, S., ... & Khan, H. (2024). Alkaloids as drug leads in Alzheimer's treatment: Mechanistic and therapeutic insights. *Brain Research*, 148886.
- Israilov, I. A., Karimova, S. U., & Yunusov, M. S. (1979). Glaucium alkaloids. *Chemistry of Natural Compounds*, 15(2), 103-113.
- Israilov, I. A., Karimova, S. U., Denisenko, O. N., Yunusov, M. S., Murav'eva, D. A., & Yunusov, S. Y. (1983). Alkaloids of *Glaucium corniculatum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 19(6), 714-716.
- Ivanovska, N., & Philipov, S. (1996). Study on the anti-inflammatory action of *Berberis vulgaris* root extract, alkaloid fractions and pure alkaloids. *International Journal of Immunopharmacology*, 18(10), 553-561.
- Iwashina, T. (2013). Flavonoid properties of five families newly incorporated into the order Caryophyllales. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science*, 39, 25–51.
- Izah, SC, Ogidi, OI, Ogwu, MC, Salimon, SS, Yusuf, ZM, Akram, M., ... & Iyingiala, AA (2024). Bitkisel ilacın değerine ilişkin tarihsel perspektifler ve genel bakış. *Bitkisel*

ilaç fitokimyası: Uygulamalar ve eğilimler (s. 3-35). Cham: Springer International Publishing.

- Jackman, L. M., Thewella, J. C., Moniot, J. L., Shamma, M., Stephens, R. L., Wenkert, E. (1979). The carbon-13 NMR spectra of aporphine alkaloids. *Journal of Natural Products*, 42, 437–449.
- Jang, M. H., Kim, H. Y., Kang, K. S., Yokozawa, T., & Park, J. H. (2009). Hydroxyl radical scavenging activities of isoquinoline alkaloids isolated from *Coptis chinensis*. *Archives of Pharmacal Research*, 32, 341-345.
- Ji, H. F., & Shen, L. (2011). Berberine: A potential multipotent natural product to combat Alzheimer's disease. *Molecules*, 16(8), 6732-6740.
- Ji, H. F., Li, X. J., & Zhang, H. Y. (2009). Natural products and drug discovery: can thousands of years of ancient medical knowledge lead us to new and powerful drug combinations in the fight against cancer and dementia? *EMBO reports*, 10(3), 194-200.
- Jia, Y., Gao, X., Xue, Z., Wang, Y., Lu, Y., Zhang, M., ... & Chen, H. (2020). Characterization, antioxidant activities, and inhibition on α -glucosidase activity of corn silk polysaccharides obtained by different extraction methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1640-1648.
- Jung, H. A., Min, B. S., Yokozawa, T., Lee, J. H., Kim, Y. S., & Choi, J. S. (2009). Anti-Alzheimer and antioxidant activities of *Coptidis Rhizoma* alkaloids. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(8), 1433-1438.
- Kalantari, M., Entezari, M., Ashrafizadeh, M., Movafagh, A., & Hushmandi, K. (2021). Comparison of the effect of S14161 small molecule and *Glaucium flavum* extract on A549 cancer cells. *Galen Medical Journal*, 10, e2151-e2151.
- Karaman, Ö., & Cebe, G. E. (2016). Diyabet ve Türkiye’de antidiyabetik olarak kullanılan bitkiler.
- Kartaloğlu, Z., Okutan, O., & İlvan, A. (2001). Anatomi ve fizyoloji. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*, 49(4), 525-539.
- Kartsev, V. G. (2004). Natural compounds in drug discovery. Biological activity and new trends in the chemistry of isoquinoline alkaloids. *Medicinal Chemistry Research*, 13(6-7), 325-336.
- Kaur, S., Kaur, G., Rana, R., Kumar, B., Melkani, I., Kumar, S., ... & Porwal, O. (2024). The rapeutic impact of alkaloids in neurological diseases: A promising key molecule. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 556, p. 01004). EDP Sciences.
- Kayser, O., & Quax, W. J. (2007). *Medicinal Plant Biotechnology*, 2 Volume Set: From Basic Research to Industrial Applications. Wiley.
- Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., & Farah, H. (2008). Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology*, 32(1), 51-55.

- Khan, A. Q., Mohamed, E. A., Hakeem, I., Nazeer, A., Kuttikrishnan, S., Prabhu, K. S., ... & Uddin, S. (2020). Sanguinarine induces apoptosis in papillary thyroid cancer cells via generation of reactive oxygen species. *Molecules*, 25(5), 1229.
- Khanal, P., Patil, B. M., Mandar, B. K., Dey, Y. N., & Dyu, T. (2019). Network pharmacology-based assessment to elucidate the molecular mechanism of anti-diabetic action of *Tinospora cordifolia*. *Clinical Phytoscience*, 5, 1-9.
- Kim, E., Clark, A. L., Kiss, A., Hahn, J. W., Wesselschmidt, R., Coscia, C. J., & Belcheva, M. M. (2006). μ - and κ -opioids induce the differentiation of embryonic stem cells to neural progenitors. *Journal of Biological Chemistry*, 281(44), 33749-33760.
- Kim, K. H., Lee, I. K., Piao, C. J., Choi, S. U., Lee, J. H., Kim, Y. S., & Lee, K. R. (2010). Benzyloquinoline alkaloids from the tubers of *Corydalis ternata* and their cytotoxicity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(15), 4487-4490.
- Kintsurashvili, L. G., & Vachnadze, V. Y. (2000). Alkaloids of *Glaucium corniculatum* and *G. flavum* growing in Georgia. *Chemistry of Natural Compounds*, 36(2), 225.
- Kocanci, F., Hamamcioglu, B., & Aslım, B. E. L. M. A. (2017). The anti-AChE and anti-proliferative activities of *Glaucium acutidentatum* and *Glaucium corniculatum* alkaloid extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(8).
- Kocholaty, W. (1942). Cultural Characteristics of *Penicillium Notatum* in Relation to the Production of Antibacterial Substance: Indication of the Dual Nature of the Antibacterial Substance. *Journal of Bacteriology*, 44(4), 469-477.
- Konda, Y., Imai, Y., Hojo, H., Endo, T., & Nozoe, S. (1990). Suppression of tumor cell growth and mitogen response by aporphine alkaloids, dicentrine, glaucine, corydine, and apomorphine. *Journal of Pharmacobio-Dynamics*, 13(7), 426-431.
- Kongkiatpaiboon, S., Duangdee, N., Prateetongkum, S., & Chaijaroenkul, W. (2016). Acetylcholinesterase inhibitory activity of alkaloids isolated from *Stephania venosa*. *Natural Product Communications*, 11(12), 1934578X1601101208.
- Konrath, E. L., Passos, C. D. S., Klein-Júnior, L. C., & Henriques, A. T. (2013). Alkaloids as a source of potential anticholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 65(12), 1701-1725.
- Korkmaz, S. (2014). Paklitaksel, kersetin ve berberinin, A549, HeLa, HT-29, MCF-7 ve NIH3T3 hücre kültürlerinde sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi (Doctoral dissertation, Anadolu University, Turkey).
- Koyu, E. B. (2019). Diyabette kullanılan bitkisel desteklerin etkinliği ve güvenilirliği. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 47, 110-117.
- Kregiel, D., Berłowska, J., Witonska, I., Antolak, H., Proestos, C., Babic, M., ... & Zhang, B. (2017). Saponin-based, biological-active surfactants from plants. *Application and Characterization of Surfactants*, 6(1), 184-205.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Griel, A. E., & Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in

- the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, 113(9), 71–88.
- Kropp, M., Golubnitschaja, O., Mazurakova, A., Koklesova, L., Sargheini, N., Vo, T. T. K. S., ... & Thumann, G. (2023). Diabetic retinopathy as the leading cause of blindness and early predictor of cascading complications—Risks and mitigation. *EPMA Journal*, 14(1), 21-42.
- Kuete, V., Fouotsa, H., Mbaveng, A. T., Wiench, B., Nkengfack, A. E., & Efferth, T. (2015). Cytotoxicity of a naturally occurring furoquinoline alkaloid and four acridone alkaloids towards multi-factorial drug-resistant cancer cells. *Phytomedicine*, 22(10), 946-951.
- Kumar, M., Sharma, R., & Yadav, V. K.(2024). Role of Plant-Derived Alkaloids In Neurodegenerative Disease Treatment.
- Kuo, C. L., Chou, C. C., & Yung, B. Y. M. (1995). Berberine complexes with DNA in the berberine-induced apoptosis in human leukemic HL-60 cells. *Cancer Letters*, 93(2), 193-200.
- Kurek, J. (2018). Cytotoxic colchicine alkaloids: from plants to drugs. *Cytotoxicity*, 6(45), 10-5772.
- Kuşman, K. (2018). Türkiye’de yetişen bazı *Glaucium* türlerinden biyoaktif glausin ve diğer alkaloitlerinin izolasyonu ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile miktar tayini (Doctoral dissertation, İstanbul University, Turkey).
- Kusman Saygi, T., Tan, N., Alim Toraman, G. Ö., Gurer, C. U., Tugay, O., & Topcu, G. (2023). Isoquinoline alkaloids isolated from *Glaucium corniculatum* var. *corniculatum* and *Glaucium grandiflorum* subsp. *refractum* var. *torquatum* with bioactivity studies. *Pharmaceutical Biology*, 61(1), 907-917.
- Kunze, M., Seidel, H. J., & Stübe, G. (1990). Comparative studies of the effectiveness of brief psychotherapy, acupuncture and papaverin therapy in patients with irritable bowel syndrome. *Zeitschrift für die Gesamte Innere Medizin und ihre Grenzgebiete*, 45(20), 625-627.
- Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 341-364.
- Laines-Hidalgo, J. I., Muñoz-Sánchez, J. A., Loza-Müller, L., & Vázquez-Flota, F. (2022). An update of the sanguinarine and benzophenanthridine alkaloids' biosynthesis and their applications. *Molecules*, 27(4), 1378.
- Lane, R. M., Potkin, S. G., & Enz, A. (2006). Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 9(1), 101-124.
- Lavecchia, T., Rea, G., Antonacci, A., & Giardi, M. T. (2013). Healthy and adverse effects of plant-derived functional metabolites: the need of revealing their content and bioactivity in a complex food matrix. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(2), 198-213.

- Lei, Y., Tan, J., Wink, M., Ma, Y., Li, N., & Su, G. (2013). An isoquinoline alkaloid from the Chinese herbal plant *Corydalis yanhusuo* WT Wang inhibits P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein. *Food Chemistry*, 136(3-4), 1117-1121.
- Lelario, F., De Maria, S., Rivelli, A. R., Russo, D., Milella, L., Bufo, S. A., & Scrano, L. (2019). A complete survey of glycoalkaloids using LC-FTICR-MS and IRMPD in a commercial variety and a local landrace of eggplant (*Solanum melongena* L.) and their anticholinesterase and antioxidant activities. *Toxins*, 11(4), 230.
- Leporatti, M. L., & Ivancheva, S. (2003). Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2-3), 123-142.
- Leung, Y. Y., Hui, L. L. Y., & Kraus, V. B. (2015). Colchicine—update on mechanisms of action and therapeutic uses. In *Seminars in arthritis and rheumatism* (Vol. 45, No. 3, pp. 341-350). WB Saunders.
- Li, J., Chen, J., Qu, D., Zhu, L., Ye, S., Li, M., ... & Ding, Y. (2025). Systems pharmacology-based drug discovery from Amaryllidaceae alkaloids and investigation of mechanisms of action in treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 77(2), 222-235.
- Li, M., Su, B. S., Chang, L. H., Gao, Q., Chen, K. L., An, P., ... & Li, Z. F. (2014). Oxymatrine induces apoptosis in human cervical cancer cells through guanine nucleotide depletion. *Anti-Cancer Drugs*, 25(2), 161-173.
- Li, S., Huang, R., Solomon, S., Liu, Y., Zhao, B., Santillo, M. F., & Xia, M. (2017). Identification of acetylcholinesterase inhibitors using homogeneous cell-based assays in quantitative high-throughput screening platforms. *Biotechnology Journal*, 12(5), 1600715.
- Liao, W., He, X., Yi, Z., Xiang, W., & Ding, Y. (2018). Chelidone suppresses LPS-induced production of inflammatory mediators through the inhibition of the TLR4/NF- κ B signaling pathway in RAW264.7 macrophages. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 1151-1159.
- Liao, P., Hemmerlin, A., Bach, T. J., & Chye, M. L. (2016). The potential of the mevalonate pathway for enhanced isoprenoid production. *Biotechnology Advances*, 34(5), 697-713.
- Liga, S., Paul, C., & Péter, F. (2023). Flavonoids: Overview of biosynthesis, biological activity, and current extraction techniques. *Plants*, 12(14), 2732.
- Likhitwitayawuid, K. I. T. T. I. S. A. K., Ruangrunsi, N. I. J. S. I. R. I., & Cordell, G. A. (1993). ¹H and ¹³C NMR assignments of isoquinoline alkaloids. *Journal of the Science Society of Thailand*, 19, 87-96.
- Lin, W. H., Fu, H. Z., Li, J., Cheng, G., & Barnes, R. A. (2003). The alkaloids from leaves of *Croton hemiargyrius* var. *gymnodiscus*. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 12(3), 117-122.

- Liu, Y., Zhang, H., Jin, X., Xiang, J. F., & Tang, Y. L. (2011). Inhibitory effect of dicentrine on human lung cancer cell line A549 proliferation and on telomerase activity. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 25(6), 542-546.
- Liu, P. P., Xie, Y., Meng, X. Y., & Kang, J. S. (2019). History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 4(1), 29.
- Loizzo, M. R., Tundis, R., Menichini, F., & Menichini, F. (2008). Natural products and their derivatives as cholinesterase inhibitors in the treatment of neurodegenerative disorders: an update. *Current Medicinal Chemistry*, 15(12), 1209-1228.
- Lou, C., Yokoyama, S., Saiki, I., & Hayakawa, Y. (2015). Selective anticancer activity of hirsutine against HER2-positive breast cancer cells by inducing DNA damage. *Oncology Reports*, 33(4), 2072-2076.
- López, A. F. F., Martínez, O. M. M., & Hernández, H. F. C. (2021). Evaluation of Amaryllidaceae alkaloids as inhibitors of human acetylcholinesterase by QSAR analysis and molecular docking. *Journal of Molecular Structure*, 1225, 129142.
- Lu, J., Liu, Z., Zhao, L., Tian, H., Liu, X., & Yuan, C. (2013). In vivo and in vitro inhibition of human liver cancer progress by downregulation of the μ -opioid receptor and relevant mechanisms. *Oncology Reports*, 30(4), 1731-1738.
- Ma, W., Zhu, M., Zhang, D., Yang, L., Yang, T., Li, X., & Zhang, Y. (2017). Berberine inhibits the proliferation and migration of breast cancer ZR-75-30 cells by targeting Ephrin-B2. *Phytomedicine*, 25, 45-51.
- Macáková, K., Afonso, R., Saso, L., & Mladěnka, P. (2019). The influence of alkaloids on oxidative stress and related signaling pathways. *Free Radical Biology and Medicine*, 134, 429-444.
- Mahmud, A. R., Ema, T. I., Siddiquee, M. F. R., Shahriar, A., Ahmed, H., Mosfeq-Ul-Hasan, M., ... & Mizan, M. F. R. (2023). Natural flavonols: Actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for various diseases. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 12(1), 47.
- Mani, S., & Swargiary, G. (2023). In vitro cytotoxicity analysis: MTT/XTT, trypan blue exclusion. In *Animal Cell Culture: Principles and Practice* (pp. 267-284). Cham: Springer International Publishing.
- Mao, Q. Q., Xu, X. Y., Cao, S. Y., Gan, R. Y., Corke, H., Beta, T., & Li, H. B. (2019). Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods*, 8(6), 185.
- Martinez, A., & Castro, A. (2006). Novel cholinesterase inhibitors as future effective drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 15(1), 1-12.
- Mehrara, M., Pourramezan, M., Asgarpanah, J., Rahimifard, N., Khoshnood, S., & Heidary, M. (2017). Comparison of the antimicrobial effect of methanolic total extracts and petroleum ether fractions of flowering aerial parts of *Glaucium vitellinum* Boiss. & Buhse and *Gaillonia aucheri* Jaub. & Spach. *Novelty in Biomedicine*, 5(1), 24-29.

- Menezes, L. R., Costa, C. O. D. S., Rodrigues, A. C. B. D. C., Santo, F. R. D. E., Nepel, A., Dutra, L. M., ... & Bezerra, D. P. (2016). Cytotoxic alkaloids from the stem of *Xylopia laevigata*. *Molecules*, 21(7), 890.
- Meshram, M. A., Bhise, U. O., Makhal, P. N., & Kaki, V. R. (2021). Synthetically-tailored and nature-derived dual COX-2/5-LOX inhibitors: Structural aspects and SAR. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 225, 113804.
- Messiha, B. A., Ali, M. R., Khattab, M. M., & Abo-Youssef, A. M. (2020). Perindopril ameliorates experimental Alzheimer's disease progression: Role of amyloid β degradation, central estrogen receptor and hyperlipidemic-lipid raft signaling. *Inflammopharmacology*, 28, 1343-1364.
- Meyer, G. M., Meyer, M. R., Wissenbach, D. K., & Maurer, H. H. (2013). Studies on the metabolism and toxicological detection of glaucine, an isoquinoline alkaloid from *Glaucium flavum* (Papaveraceae), in rat urine using GC-MS, LC-MSn and LC-high-resolution MSn. *Journal of Mass Spectrometry*, 48(1), 24-41.
- Michalak, M. (2022). Plant-derived antioxidants: Significance in skin health and the ageing process. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2), 585.
- Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4), 1036-1043.
- Mohamed, M. E., Arafa, A. M., Soliman, S. S., & Eldahmy, S. I. (2014). Plant germination and production of callus from the yellow hornpoppy (*Glaucium flavum*): The first stage of micropropagation. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69(9), 715-720.
- Mohammed, H. A., Emwas, A. H., & Khan, R. A. (2023). Salt-tolerant plants, halophytes, as renewable natural resources for cancer prevention and treatment: Roles of phenolics and flavonoids in immunomodulation and suppression of oxidative stress towards cancer management. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5171.
- Mohan, V. R., Tresina, P. S., & Daffodil, E. D. (2016). Antinutritional factors in legume seeds: Characteristics and determination.
- Mollataghi, A., Coudiere, E., Hadi, A. H. A., Mukhtar, M. R., Awang, K., Litaudon, M., & Ata, A. (2012). Anti-acetylcholinesterase, anti- α -glucosidase, anti-leishmanial and anti-fungal activities of chemical constituents of *Beilschmiedia* species. *Fitoterapia*, 83(2), 298-302.
- Mondal, M., Das, S., & Chandra, I. (2024). Effect of individual plant growth regulators on modulation of secondary metabolites production in an important medicinal plant *Gloriosa superba* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 156(1), 28.
- Montalbetti, N., Denis, M. F. L., Pignataro, O. P., Kobatake, E., Lazarowski, E. R., & Schwarzbaum, P. J. (2011). Homeostasis of extracellular ATP in human erythrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 286(44), 38397-38407.

- Morales, G., Paredes, A., Sierra, P., & Loyola, L. A. (2008). Antimicrobial activity of three *Baccharis* species used in the traditional medicine of Northern Chile. *Molecules*, 13(4), 790-794.
- Morshed, M. N., Ahn, J. C., Mathiyalagan, R., Rupa, E. J., Akter, R., Karim, M. R., ... & Jung, S. K. (2023). Antioxidant activity of *Panax ginseng* to regulate ROS in various chronic diseases. *Applied Sciences*, 13(5), 2893.
- Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., Hamidian, M., Vafamehr, H., & Dehpour, A. R. (2002). Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Glaucium grandiflorum* extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 80(2-3), 181-186.
- Morteza-Semnani, K., Amin, G., Shidfar, M. R., Hadizadeh, H., & Shafiee, A. (2003). Antifungal activity of the methanolic extract and alkaloids of *Glaucium oxylobum*. *Fitoterapia*, 74(5), 493-496.
- Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., & Mahdavi, M. R. (2005). Antibacterial studies on extracts of three species of *Glaucium*. from Iran. *Pharmaceutical biology*, 43(3), 234-236.
- Moses, T., Papadopoulou, K. K., & Osbourn, A. (2014). Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 49(6), 439-462.
- Motilva, M.-J., Motilva, M.-J., Serra, A., Macià, A. (2013). Analysis of food polyphenols by ultra high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry: an overview. *Journal of Chromatography. A*, Vol. 1292, pp. 66—82.
- Muhammad, I., Rahman, N., Nishan, U., & Shah, M. (2021). Antidiabetic activities of alkaloids isolated from medicinal Plants. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 57, e19130.
- Mukherjee, P. K., & Wahile, A. (2006). Integrated approaches towards drug development from Ayurveda and other Indian system of medicines. *Journal of ethnopharmacology*, 103(1), 25-35.
- Mukhtar, Y., Galalain, A., & Yunusa, U. (2020). A modern overview on diabetes mellitus: a chronic endocrine disorder. *European Journal of Biology*, 5(2), 1-14.
- Mungan, F., & Yildiz, K. (2016). Türkiye'nin *Glaucium* Mill (*Papaveraceae*) Cinsinin Revizyonu (Doctoral dissertation, Doctoral dissertation, Doktora Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa).
- Mustafa, M. R., & Achike, F. I. (2000). Dicentrine is preferentially antagonistic to rat aortic than splenic alpha 1-adrenoceptor stimulation. *Acta Pharmacologica Sinica*, 21(12), 1165-1168.
- Nair, S. S., Kavrekar, V., & Mishra, A. (2013). In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European journal of experimental biology*, 3(1), 128-132.

- Nemli, Y., Kaynar, A., Kayadan, A., Er, T., & Kaya, İ. (2015). *Cuscuta campestris* in Pyrrolizidine Alkaloid İçerdiğine İlişkin İlk Kayıt. *Turkish Journal of Weed Science*, 18(3), 25-26.
- Nesbit, M. O., & Phillips, A. G. (2020). Tetrahydroprotoberberines: a novel source of pharmacotherapies for substance use disorders? *Trends in Pharmacological Sciences*, 41(3), 147-161.
- Netala, V. R., Ghosh, S. B., Bobbu, P., Anitha, D., & Tartte, V. (2015). Triterpenoid saponins: a review on biosynthesis, applications and mechanism of their action. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 7(1), 24-28.
- Ng, Y. P., Or, T. C. T., & Ip, N. Y. (2015). Plant alkaloids as drug leads for Alzheimer's disease. *Neurochemistry international*, 89, 260-270.
- Niazi, P., & Monib, A. W. (2024). The role of plants in traditional and modern medicine. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 13(2), 643-647.
- Niğdelioğlu Dolanbay, S., Şirin, S., & Aslim, B. (2023). Neuroprotective Potential of Isoquinoline Alkaloids from *Glaucium grandiflorum* Boiss. and *A. Huet* subsp. *refractum* (Nábelek) Mory: Role of NRF2-KEAP1 Pathway. *Applied Sciences*, 13(20), 11205.
- Nikolova, M. T., Berkov, S. H., Doycheva, I. V., Stoyanov, S. S., & Stanilova, M. I. (2018). GC/MS based metabolite profiling of five populations of *Glaucium flavum* (Ranunculales: *Papaveraceae*) from the Black Sea coast of Bulgaria. *Acta Zool Bulgaria*, 11(1), 91-94.
- Ninkuu, V., Zhang, L., Yan, J., Fu, Z., Yang, T., & Zeng, H. (2021). Biochemistry of terpenes and recent advances in plant protection. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5710.
- Nishiyama, Y., Moriyasu, M., Ichimaru, M., Iwasa, K., Kato, A., Mathenge, S. G., ... & Juma, F. D. (2010). Antinociceptive effects of the extracts of *Xylopia parviflora* bark and its alkaloidal components in experimental animals. *Journal of natural medicines*, 64, 9-15.
- Nordberg, A., Darreh-Shori, T., Peskind, E., Soininen, H., Mousavi, M., Eagle, G., & Lane, R. (2009). Different cholinesterase inhibitor effects on CSF cholinesterases in Alzheimer patients. *Current Alzheimer Research*, 6(1), 4-14.
- Noureddine, B. R. I. B. I., Yacine, B. O. U. G. U. E. Z. Z. A., & Fadila, M. B. (2013). Evaluation of erythrocytes toxicity and antioxidant activity of alkaloids of *Fumaria capreolata*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(2), P770-P776.
- Nurcahyo, F. D., Zen, H. M., Rahma, H. S., Triyanto, A., Yasa, A., Naim, D. M., & Setyawan, A. D. (2024). Ethnobotanical study of medicinal plants used by local communities in the Upper Bengawan Solo River, Central Java, Indonesia. *International Journal of Bonorowo Wetlands*, 14(1).
- Novák, Z., Chlebek, J., Opletal, L., Jiroš, P., Macáková, K., Kuneš, J., & Cahlíková, L. (2012). Corylucinine, a new alkaloid from *Corydalis cava* (Fumariaceae), and its

cholinesterase activity. *Natural Product Communications*, 7(7), 1934578X1200700712.

- Novak, M., Vajrychova, M., Koutsilieri, S., Sismanoglou, D. C., Koblrova, T., Prchal, L., ... & Soukup, O. (2023). Tacrine First-Phase Biotransformation and Associated Hepatotoxicity: A Possible Way to Avoid Quinone Methide Formation. *ACS Chemical Biology*, 18(9), 1993-2002.
- Novák, V., & Slavík, J. (1974). Further alkaloids from *Glaucium flavum* CR. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 39(11), 3352-3356.
- Nwozo, O. S., Effiong, E. M., Aja, P. M., & Awuchi, C. G. (2023). Antioxidant, phytochemical, and therapeutic properties of medicinal plants: A review. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 359-388.
- Olszowy, M. (2019). What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 135-143.
- Onyeagba, R.A., Ugbogu, O.C., Okeke, C.U., Iroakasi, O. (2004). Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* Linn), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and lime (*Citrus aurantifolia* Linn). *African Journal of Biotechnology*, Vol. 3 (10), pp. 552–554.
- Orhan, I., Şener, B., Choudhary, M. I., & Khalid, A. (2004). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal Plants. *Journal of ethnopharmacology*, 91(1), 57-60.
- Orhan, I. E., Deniz, F. S. S., Eren, G., & Sener, B. (2021). Molecular approach to promising cholinesterase inhibitory effect of several Amaryllidaceae alkaloids: Further re-investigation. *South African journal of botany*, 136, 175-181.
- Ooppachai, C., Limtrakul, P., & Yodkeeree, S. (2019). Dicentrine potentiates TNF- α -induced apoptosis and suppresses invasion of A549 lung adenocarcinoma cells via modulation of NF- κ B and AP-1 activation. *Molecules*, 24(22), 4100.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- Oyan, D. (2017). *Glaucium flavum* crantz. bitkisinin farmakognozik açıdan değerlendirilmesi (Master's thesis, Ege Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ozsoy, N., Yilmaz-Ozden, T., Aksoy-Sagirli, P., Şahin, H., & Sarı, A. (2018). Antioxidant, Anti-acetylcholinesterase, Anti-inflammatory and DNA Protection Activities of *Glaucium grandiflorum* var. *Grandiflorum*. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 17(2), 677.
- Önder, A., Çınar, A. S., Gençaslan, G., & Çoban, T. (2020). Antioxidant potentials of the extracts from 14 selected medicinal Plants. *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine*, 6, 19.

- Özcandır, A., Mohammed, F. S., Sevindik, M., Aykurt, C., Selamoglu, Z., & Akgül, H. (2024). Phenolic composition, total antioxidant, antiradical and antimicrobial potential of endemic *Glaucium Alakirensis*. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 42(1), 42-48.
- Özdemir, A. A., & Erdal, R. (2021). İlk İnsandan Günümüze Fitoterapi-Antik Çağ (Bölüm-1) Phytotherapy From the First Man to the Present–Ancient Ages (Part-1). *Smyrna Tıp Dergisi*, 58.
- Pan, G. Y., Huang, Z. J., Wang, G. J., Fawcett, J. P., Liu, X. D., Zhao, X. C., ... & Xie, Y. Y. (2003). The antihyperglycaemic activity of berberine arises from a decrease of glucose absorption. *Planta medica*, 69(07), 632-636.
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, Vol. 5, pp. 1–15.
- Pandurangan, A., Khosa, R. L., & Hemalatha, S. (2011). Anti-inflammatory activity of an alkaloid from *Solanum trilobatum* on acute and chronic inflammation models. *Natural product research*, 25(12), 1132-1141.
- Pannala, A.S., Chan, T.S., O'Brien, P.J., Rice-Evans, C.A. (2001). Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 282 (5), pp. 1161–1168.
- Park, S. Y. (2010). Potential therapeutic agents against Alzheimer's disease from natural sources. *Archives of pharmacal research*, 33, 1589-1609.
- Patil, S. R., Chavan, A. B., Patel, A. M., Chavan, P. D., & Bhopale, J. V. (2023). A Review on Diabetes Mellitus its Types, Pathophysiology, Epidemiology and its Global Burden. *Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 2(4), 73-79.
- Paul, P., Bhattacharjee, A., Bordoloi, S. K., & Paul, U. K. (2024). The evolution of Alzheimer's disease therapies: A comprehensive review. *Annals of Medical Science & Research*, 3(1), 11-19.
- Pázmándi, K., Szöllösi, A. G., & Fekete, T. (2024). The “root” causes behind the anti-inflammatory actions of ginger compounds in immune cells. *Frontiers in Immunology*, 15, 1400956.
- Peled, B., Waisel, Y., & Carmeli, S. (1988). Alkaloid content in various chemocotypes of *Glaucium flavum* from Israel. *Phytochemistry*, 27(4), 1021-1024.
- Pereira, A. G., Cassani, L., Garcia-Oliveira, P., Otero, P., Mansoor, S., Echave, J., ... & Prieto, M. A. (2023). Plant Alkaloids: Production, Extraction, and Potential Therapeutic Properties. In *Natural Secondary Metabolites: From Nature, Through Science, to Industry* (pp. 157-200). Cham: Springer International Publishing.
- Phoophu, S., Wattanapiromsakul, C., Pitakbut, T., & Dej-Adisai, S. (2020). Chemical constituents of *Litsea elliptica* and their alpha-glucosidase inhibition with molecular docking. *Pharmacognosy Magazine*, 16(70).

- Pinto, L., Borrelli, F., Bombardelli, E., Cristoni, A., & Capasso, F. (1998). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of glaucine in rats and mice. *Pharmacy and Pharmacology Communications*, 4(10), 502-505.
- Pivec, T., Kargl, R., Maver, U., Bračič, M., Elschner, T., Žagar, E., ... & Stana Kleinschek, K. (2019). Chemical structure–Antioxidant activity relationship of water–based enzymatic polymerized rutin and its wound healing potential. *Polymers*, 11(10), 1566.
- Plazas, E., & Muñoz, D. R. (2022). “Natural isoquinoline alkaloids: Pharmacological features and multi-target potential for complex diseases. *Pharmacological Research*, 177, 106126.
- Polterait, O. (1997). Antioxidants and free radical scavengers of natural origin. *Current organic chemistry*, 1(4), 415-440].
- Pradeep, C. R., & Kuttan, G. (2004). Piperine is a potent inhibitor of nuclear factor- κ B (NF- κ B), c-Fos, CREB, ATF-2 and proinflammatory cytokine gene expression in B16F-10 melanoma cells. *International immunopharmacology*, 4(14), 1795-1803.
- Preethi, P. J. (2013). Herbal medicine for diabetes mellitus: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 3(2), 57-70.
- Qian, W., Yang, M., Li, X., Sun, Z., Li, Y., Wang, X., & Wang, T. (2020). Anti-microbial and anti-biofilm activities of combined chelerythrine-sanguinarine and mode of action against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans* in vitro. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 191, 111003.
- Qing, Z. X., Huang, J. L., Yang, X. Y., Liu, J. H., Cao, H. L., Xiang, F., ... & Zeng, J. G. (2018). Anticancer and reversing multidrug resistance activities of natural isoquinoline alkaloids and their structure-activity relationship. *Current medicinal chemistry*, 25(38), 5088-5114.
- Rahman, M. M., Rahaman, M. S., Islam, M. R., Rahman, F., Mithi, F. M., Alqahtani, T., ... & Uddin, M. S. (2021). Role of phenolic compounds in human disease: current knowledge and future prospects. *Molecules*, 27(1), 233.
- Rahman, N., Muhammad, I., Khan, H., Aschner, M., Filosa, R., & Daglia, M. (2019). Molecular docking of isolated alkaloids for possible α -glucosidase inhibition. *Biomolecules*, 9(10), 544.
- Rai, M. K., Cordell, G. A., Martinez, J. L., Marinoff, M., & Rastrelli, L. (Eds.). (2012). Medicinal plants: biodiversity and drugs. *CRC Press*.
- Rajput, A., Sharma, R., & Bharti, R. (2022). Pharmacological activities and toxicities of alkaloids on human health. *Materials Today: Proceedings*, 48, 1407-1415.
- Ramteke, A. M., Gourand, P. B., & Malode, S. M. (2024). Role of isolated compounds from spices and herbs in natural medicinal care or therapy-A review. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2974, No. 1). AIP Publishing.

- Rinaldi, M. V., Díaz, I. E., Suffredini, I. B., & Moreno, P. R. (2017). Alkaloids and biological activity of beribá (*Annona hypoglauca*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(1), 77-83.
- Rissardo, J. P., & Caprara, A. L. F. (2023). Action Myoclonus Secondary to Donepezil: Case Report and Literature Review. *Rambam Maimonides Medical Journal*, 14(4).
- Robinson, R. (2001). Plant sciences. *Macmillan Reference USA*.
- Roopashree, K., & Naik, D. H. A. N. A. N. J. A. Y. (2019). Saponins: properties, applications and as insecticides: a review. *Biosci. Trends*, 8, 1-14.
- Ruan, S., Guo, X., Ren, Y., Cao, G., Xing, H., & Zhang, X. (2023). Nanomedicines based on trace elements for intervention of diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 168, 115684.
- Ruhle, K. H., Criscuolo, D., Dieterich, H. A., Kohler, D., & Riedel, G. (1984). Objective evaluation of dextromethorphan and glaucine as antitussive agents. *British journal of clinical pharmacology*, 17(5), 521-524.
- Safa, O., Soltanipoor, M. A., Rastegar, S., Kazemi, M., Dehkordi, K. N., & Ghannadi, A. (2013). An ethnobotanical survey on hormozgan province, Iran. *Avicenna journal of phytomedicine*, 3(1), 64.
- Shirwaikar, A., Shirwaikar, A., Rajendran, K., & Punitha, I. S. R. (2006). In vitro antioxidant studies on the benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(9), 1906-1910.
- Salleh, W. M. N. H. W., Nafiah, M. A., Jauri, M. H., & Khamis, S. (2021). Chemical constituents and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Beilschmiedia insignis* Gamble. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 35(3), 685-691.
- Samanta, A., Das, G., & Das, S. K. (2011). Roles of flavonoids in Plants. *Carbon*, 100(6), 12-35.
- Santos-Buelga, C., González-Paramás, A. M., & González-Manzano, S. (2023). Phenolic Acids and Derivatives: Description, Sources, Properties, and Applications. In *Natural Secondary Metabolites: From Nature, Through Science, to Industry* (pp. 37-72). Cham: Springer International Publishing.
- Saraç, H., Daştan, T., Durukan, H., Daştan, S. D., Demirbaş, A., & Karaköy, T. (2018). Kırmızı Gelincik (Fam: Papaveraceae, *Glaucium grandiflorum* Boiss. & Huet var. *grandiflorum*) Bitkisinin Farklı Özütlерinin Besin Elementi İçeriğinin ve In Vitro Antiproliferatif Etkilerinin Değerlendirilmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 417-428.
- Sarkhosh-Inanlou, R., Molaparast, M., Mohammadzadeh, A., & Shafiei-Irannejad, V. (2020). Sanguinarine enhances cisplatin sensitivity via glutathione depletion in cisplatin-resistant ovarian cancer (A2780) cells. *Chemical Biology & Drug Design*, 95(2), 215-223.
- Sarkar, S. (2023). Role of Paclitaxel and Vinblastine in Modern Cancer Therapy”, *Biswas HS, et al. Progress in chemical and biological science*, 15-25.

- Saura-Calixto, F. and Goni, I. (2009). Definition of the Mediterranean diet based on bioactive compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 49 (2), pp. 145–152.
- Sauvaître, T., Barlier, M., Herlem, D., Gresh, N., Chiaroni, A., Guenard, D., & Guillou, C. (2007). New potent acetylcholinesterase inhibitors in the tetracyclic triterpene series. *Journal of medicinal chemistry*, 50(22), 5311-5323.
- Scudiero, D. A., Shoemaker, R. H., Paull, K. D., Monks, A., Tierney, S., Nofziger, T. H., ... & Boyd, M. R. (1988). Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer research*, 48(17), 4827-4833.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., & Leblebici, E. (1998). Tohumlu Bitkiler Sistematigi, *Ege Üniv. Basımevi*, Bornova-İzmir, 236-240.
- Seigler, D. S. (1998). Plant secondary metabolism. *Springer Science & Business Media*.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., & Tanaka, T. (2001). Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in central Anatolia. *Journal of ethnopharmacology*, 75(2-3), 95-115.
- Simchovitz, A., Heneka, M. T., & Soreq, H. (2017). Personalized genetics of the cholinergic blockade of neuroinflammation. *Journal of Neurochemistry*, 142, 178-187.
- Singh, S., Pathak, N., Fatima, E., & Negi, A. S. (2021). Plant isoquinoline alkaloids: Advances in the chemistry and biology of berberine. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 226, 113839.
- Shafiee, A., Lalezari, I., Lajevardi, S., & Khalafi, F. (1977). Alkaloids of *Glaucium flavum* grantz, populations isfahan and kazerun. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66(6), 873-874.
- Shafiee, A., Lalezari, I., & Mahjour, M. (1977). Alkaloids of *Glaucium oxylobum* Boiss and Buhse, population Ab-Ali. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66(4), 593-594.
- Shahidi, F. (2009). Nutraceuticals and functional foods: whole versus processed foods. *Trends in Food Science & Technology*, 20(9), 376-387.
- Shahrajabian, M. H., & Sun, W. (2023). Survey on medicinal plants and herbs in traditional Iranian medicine with anti-oxidant, anti-viral, anti-microbial, and anti-inflammation properties. *Letters in Drug Design & Discovery*, 20(11), 1707-1743.
- Shamma, M., & Slusarchyk, W. A. (1964). The aporphine alkaloids. *Chemical Reviews*, 64(1), 59-79.
- Sharma, E., Anand, G., Kapoor, R. (2017). Terpenoids in plant and arbuscular mycorrhiza-reinforced defence against herbivorous insects. *Annals of Botany*, 119(5), 791-801.
- Shi, J., Arunasalam, K., Yeung, D., Kakuda, Y., Mittal, G., & Jiang, Y. (2004). Saponins from edible legumes: chemistry, processing, and health benefits. *Journal of medicinal food*, 7(1), 67-78.

- Shoeb, M. (2006). Anti-cancer agents from medicinal plants. *Bangladesh Journal of Pharmacology* 1(2), 35-41.
- Shu, T., Li, C., She, C., & Zhao, H. P. (2022). Morphometric analysis and genetic diversity in *Glaucium* (Papaveraceae) using sequence related amplified polymorphism. *Caryologia*, 75(1), 29-39.
- Shukla, D., Suryavanshi, A., Bharti, S. K., Asati, V., & Kar Mahapatra, D. (2024). Recent Advances in the Treatment and Management of Alzheimer's Disease: A Precision Medicine Perspective. *Current Topics in Medicinal Chemistry*.
- Slavík, J., Slavíková, L., & Dolejš, L. (1984). Additional alkaloids from *Glaucium squamigerum* KAR. et KIR. *Collection of Czechoslovak chemical communications*, 49(5), 1318-1324.
- Slavíková, L., Slavík, J., & Dolejš, L. (1985). Quaternary alkaloids from *Glaucium oxylobum* BOISS. et BUSHE. *Collection of Czechoslovak chemical communications*, 50(4), 854-860.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.
- Song, L. S., Ren, G. J., Chen, Z. L., Chen, Z. H., Zhou, Z. N., & Cheng, H. (2000). Electrophysiological effects of protopine in cardiac myocytes: inhibition of multiple cation channel currents. *British journal of pharmacology*, 129(5), 893-900.
- Soureshjani, E. H., & Heidari, M. (2014). In vitro variation in antibacterial activity plant extracts on *Glaucium elegans* and saffron (*Crocus sativus*). *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 9(3), 275-278.
- Sugimoto, H., Ogura, H., Arai, Y., Iimura, Y., & Yamanishi, Y. (2002). Research and development of donepezil hydrochloride, a new type of acetylcholinesterase inhibitor. *The Japanese journal of pharmacology*, 89(1), 7-20.
- Sun, L. C., LI, S. Y., WANG, F. Z., & XIN, F. J. (2017). Research progresses in the synthetic biology of terpenoids. *Biotechnology Bulletin*, 33(1), 64.
- Sun, R., Jiang, H., Zhang, W., Yang, K., Wang, C., Fan, L., ... & Geng, Z. (2014). Cytotoxicity of aporphine, protoberberine, and protopine alkaloids from *dicranostigma leptopodum* (maxim.) fedde. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2014.
- Sun, Y., Xun, K., Wang, Y., & Chen, X. (2009). A systematic review of the anticancer properties of berberine, a natural product from Chinese herbs. *Anti-cancer drugs*, 20(9), 757-769.
- Sundarrajan, P., & Bhagtaney, L. (2024). Traditional medicinal plants as bioresources in health security. In *Ethnic Knowledge and Perspectives of Medicinal Plants* (pp. 53-75). Apple Academic Press.
- Staniek, A., Bouwmeester, H., Fraser, P. D., Kayser, O., Martens, S., Tissier, A., ... & Warzecha, H. (2013). Natural products—modifying metabolite pathways in plants. *Biotechnology Journal*, 8(10), 1159-1171.

- Szasz, A. (2024). Peto's "Paradox" and Six Degrees of Cancer Prevalence. *Cells*, 13(2), 197.
- Takahashi, A., & Ohnishi, T. (2004). The significance of the study about the biological effects of solar ultraviolet radiation using the exposed facility on the international space station. *Biological Sciences in Space*, 18(4), 255-260.
- Takeuchi, K., Sakamoto, S., Nagayoshi, Y., Nishizawa, H., & Matsubara, J. (2004). Reactivity of the human internal thoracic artery to vasodilators in coronary artery bypass grafting. *European journal of cardio-thoracic surgery*, 26(5), 956-959.
- Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*, 104(4), 1372-1378.
- Teh, B. S., Seow, W. K., Li, S. Y., & Thong, Y. H. (1990). Inhibition of prostaglandin and leukotriene generation by the plant alkaloids tetrandrine and berbamine. *International journal of immunopharmacology*, 12(3), 321-326.
- Teoh, E. S., (2016) Secondary metabolites of plants. *Medicinal orchids of Asia*, 59-73.
- Tian, J., Mo, J., Xu, L., Zhang, R., Qiao, Y., Liu, B., ... & Shi, G. (2020). Scoulerine promotes cell viability reduction and apoptosis by activating ROS-dependent endoplasmic reticulum stress in colorectal cancer cells. *Chemico-Biological Interactions*, 327, 109184.
- Timilsena, Y. P., Phosanam, A., & Stockmann, R. (2023). Perspectives on Saponins: Food Functionality and Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(17), 13538.
- Tokhirovna, E. G. (2024). Risk Factors For Developing Type 2 Diabetes Mellitus. *Образование Наука И Инновационные Идеи В Мире*, 36(5), 64-69.
- Tosun, A., Bahadir, Ö., & Altanlar, N. (2006). Antimicrobial activity of some plants used in folk medicine in Turkey. *Turk J Pharm Sci*, 3(3), 167-76.
- Tuzimski, T., Petruczynik, A., Szultka-Młyńska, M., Sugajski, M., & Buszewski, B. (2022). Isoquinoline alkaloid contents in *Macleaya cordata* extracts and their acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition. *Molecules*, 27(11), 3606.
- Tuzimski, T., & Petruczynik, A. (2023). New trends in the practical use of isoquinoline alkaloids as potential drugs applicated in infectious and non-infectious diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 168, 115704.
- Twaij, B. M., Hasan, M. N. (2022). Bioactive secondary metabolites from plant sources: Types, synthesis, and their therapeutic uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4-14.
- Upadhyay, E., Mohammad AlMass, A. A., Dasgupta, N., Rahman, S., Kim, J., & Datta, M. (2019). Assessment of occupational health hazards due to particulate matter originated from spices. *International journal of environmental research and public health*, 16(9), 1519.

- Vacek, J., Walterova, D., Vrublova, E., & Simanek, V. (2010). The chemical and biological properties of protopine and allocryptopine. *Heterocycles*, 81(8), 1773-1789.
- Vaishnav, P., & Demain, A. L. (2011). Unexpected applications of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 29(2), 223-229.
- Veeru, P., Kishor, M. P., & Meenakshi, M. (2009). Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(8), 608-612.
- Verma, S., & Singh, S. P. (2008). Current and future status of herbal medicines. *Veterinary world*, 1(11), 347.
- Ververidis, F., Trantas, E., Douglas, C., Vollmer, G., Kretzschmar, G., & Panopoulos, N. (2007). Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health. *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*, 2(10), 1214-1234.
- Vrba, J., Doležel, P., Vičar, J., & Ulrichová, J. (2009). Cytotoxic activity of sanguinarine and dihydrosanguinarine in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *Toxicology in vitro*, 23(4), 580-588.
- Wada, Y., Kaga, H., Uchiito, S., Kumazawa, E., Tomiki, M., Onozaki, Y., ... & Orito, K. (2007). On the synthesis of protopine alkaloids. *The Journal of Organic Chemistry*, 72(19), 7301-7306.
- Walden, P., & Walden, P. (1941). Ätherische Öle: Terpene und Campher. *Geschichte der organischen Chemie seit 1880*, 545-612.
- Wang, D. Y. (1986). Effects of alkaloids of *Corydalis decumbens* on cerebral and peripheral circulation in the dog. *Zhong xi yi jie he za zhi= Chinese journal of modern developments in traditional medicine*, 6(8), 477-454.
- Wang, Y. H., Zhong, M., Wang, L., Liu, Y. L., Wang, B., & Li, Y. (2019). Chelerythrine loaded composite magnetic thermosensitive hydrogels as a novel anticancer drug-delivery system. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 54, 101293.
- Wang, C., Song, P., & Niu, Y. (2022). The management of dementia worldwide: A review on policy practices, clinical guidelines, end-of-life care, and challenge along with aging population. *Bioscience trends*, 16(2), 119-129.
- Wei, Q. H., Cui, D. Z., Liu, X. F., Chai, Y. Y., Zhao, N., Wang, J. Y., & Zhao, M. (2020). In vitro antifungal activity and possible mechanisms of action of chelerythrine. *Pesticide biochemistry and physiology*, 164, 140-148.
- Wijaya, V. (2023). Alkaloids of *Dicranostigma franchetianum* (Prain) Fedde and their selected biological activity.
- Wijesekera, R. O. B. (2017). The medicinal plant industry. *Routledge*.
- Wink, M. (2016). Alkaloids: Toxicology and health effects. 106-114.
- Wink, M. (2010). Functions and biotechnology of plant secondary metabolites.

- Williams, P., Sorribas, A., & Howes, M. J. R. (2011). Natural products as a source of Alzheimer's drug leads. *Natural product reports*, 28(1), 48-77.
- Wu, S. Z., Xu, H. C., Wu, X. L., Liu, P., Shi, Y. C., Pang, P., ... & Chen, X. Y. (2019). Dihydrosanguinarine suppresses pancreatic cancer cells via regulation of mut-p53/WT-p53 and the Ras/Raf/Mek/Erk pathway. *Phytomedicine*, 59, 152895.
- Xiao, X., Liu, J., Hu, J., Zhu, X., Yang, H., Wang, C., & Zhang, Y. (2008). Protective effects of protopine on hydrogen peroxide-induced oxidative injury of PC12 cells via Ca²⁺ antagonism and antioxidant mechanisms. *European journal of pharmacology*, 591(1-3), 21-27.
- Xiao, H. T., Peng, J., Liang, Y., Yang, J., Bai, X., Hao, X. Y., ... & Sun, Q. Y. (2011). Acetylcholinesterase inhibitors from *Corydalis yanhusuo*. *Natural product research*, 25(15), 1418-1422.
- Xu, W., Chen, S., Wang, X., Wu, H., Yamada, H., & Hirano, T. (2020). Bisbenzylisoquinoline alkaloids and P-glycoprotein function: A structure activity relationship study. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 28(12), 115553.
- Xu, X. H., Wang, Z. T., Yu, G. D., Ruan, B. F., & Li, J. (2002). Alkaloids from *Rhizoma corydalis*, *Journal-China Pharmaceutical University*, 33(6), 483-486.
- Yadav, B., Kaur, S., Yadav, A., Verma, H., Kar, S., Sahu, B. K., ... & Mantha, A. K. (2024). Implications of organophosphate pesticides on brain cells and their contribution toward progression of Alzheimer's disease. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 38(3), e23660.)
- Yadav, N., Singh Chandel, S., Venkatachalam, T., & Fathima, S. N. (2024). Herbal Medicine Formulation, standardization, and Commercialization challenges and sustainable strategies for improvement. In *Herbal Medicine Phytochemistry: Applications and Trends* (pp. 1769-1795). Cham: Springer International Publishing.
- Yakhontova, L. D., Sheichenko, V. I., & Tolkachev, O. N. (1972). A study of the alkaloids of *Glaucium flavum* the structure of glauvine. *Chemistry of Natural Compounds*, 8, 212-215.
- Yakhontova, L. D., Tolkachev, O. N., & Pakaln, D. A. (1973). Glaucine-containing plants of the genus *Glaucium*. *Chemistry of Natural Compounds*, 9(5), 661-661.
- Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., & Li, M. (2021). Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: A review. *Antibiotics*, 10(3), 318.
- Yang, C. W., Chen, W. L., Wu, P. L., Tseng, H. Y., & Lee, S. J. (2006). Anti-inflammatory mechanisms of phenanthroindolizidine alkaloids. *Molecular pharmacology*, 69(3), 749-758.
- Yang, I. W., Chou, C. C., & Yung, B. Y. M. (1996). Dose-dependent effects of berberine on cell cycle pause and apoptosis in Balb/c 3T3 cells. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 354, 102-108.

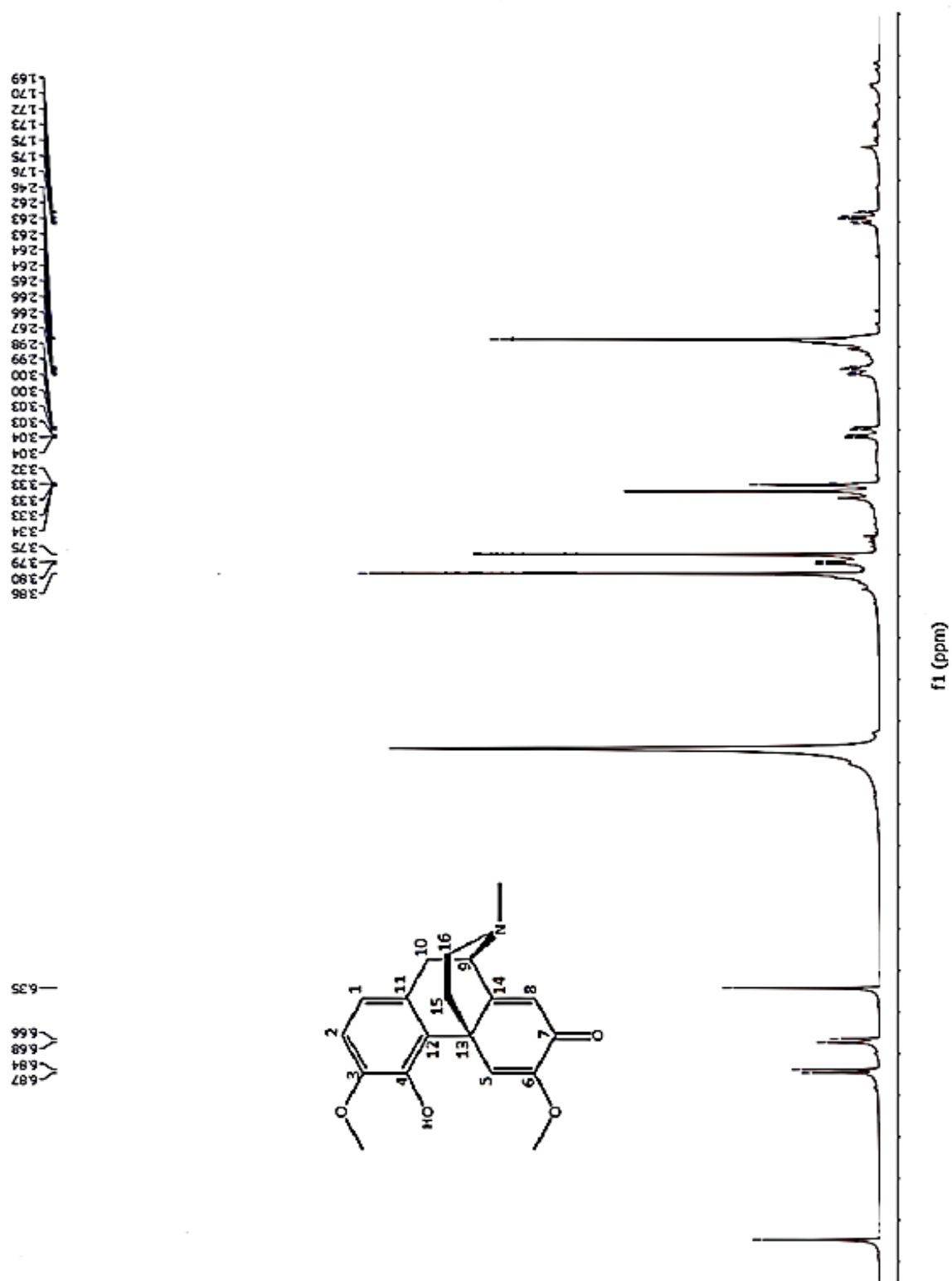
- Yang, L., Zhao, H., Yin, X., Liang, H., Zheng, Z., Shen, Q., & Hu, W. (2020). Exploring cisplatin resistance in ovarian cancer through integrated bioinformatics approach and overcoming chemoresistance with sanguinarine. *American Journal of Translational Research*, 12(3), 923.
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 762.
- Yang, Z., Zhang, D., Ren, J., Yang, M., & Li, S. (2012). Acetylcholinesterase inhibitory activity of the total alkaloid from traditional Chinese herbal medicine for treating Alzheimer's disease. *Medicinal Chemistry Research*, 21, 734-738.
- Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z., & Yu, X. (2020). Advances in pharmacological activities of terpenoids. *Natural Product Communications*, 15(3), 1934578X20903555.
- Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., ... & Takaishi, Y. (1995). Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of ethnopharmacology*, 46(3), 133-152.
- Yıldırım, Ş. (2012). Türkiye'nin jipizçin bitki çeşitliliği cenneti: Kopen, Sivrihisar, Eskişehir, 13 yeni üye. *Türkiye. OT Sistemik Botanik Dergisi*, 19, 34-38.
- Yuan, G., Wahlqvist, M. L., He, G., Yang, M., & Li, D. (2006). Natural products and anti-inflammatory activity. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 15(2)
- Zargari, A. (1991). Medicinal Plants, 4th Edition. *Tahran University Publications*. 1991, Nr: 1810/5.
- Zeb, A., & Zeb, A. (2021). Phenolic Antioxidants in Edible Oils. *Phenolic Antioxidants in Foods: Chemistry, Biochemistry and Analysis*, 239-280.
- Zeybek, U., ve Zeybek N., 2002. Farmasötik Botanik (3. baskı), *Ege Üniv. Eczacılık Fak. Yayınları*, No:3, İzmir.
- Zhang, Z. H., Mi, C., Wang, K. S., Wang, Z., Li, M. Y., Zuo, H. X., ... & Jin, X. (2018). Chelidonine inhibits TNF- α -induced inflammation by suppressing the NF- κ B pathways in HCT116 cells. *Phytotherapy Research*, 32(1), 65-75.
- Zhang, Q., Lyu, Y., Huang, J., Zhang, X., Yu, N., Wen, Z., & Chen, S. (2020). Antibacterial activity and mechanism of sanguinarine against *Providencia rettgeri* in vitro. *PeerJ*, 8, e9543.
- Zhang, Y., Wu, F., He, Z., Fang, X., & Liu, X. (2023). Optimization and Molecular Mechanism of Novel α -Glucosidase Inhibitory Peptides Derived from Camellia Seed Cake through Enzymatic Hydrolysis. *Foods*, 12(2), 393.
- Zhu, D., Li, W., Wen, H. M., Hu, Y., Wang, J., Zhu, J. M., ... & Gu, C. Q. (2015). Development of polyacrylic acid-functionalized porous zinc sulfide nanospheres for a non-aqueous solid phase extraction procedure toward alkaloids. *RSC Advances*, 5(38), 29820-29827.

- Zeng, J., Zhan, J., Qiao, X., & Fidan, O. (2023). Microbial production of medicinally important agents. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1274087.
- Zheng, S., & Zheng, S. (2020). Bocconoline from *Glaucium fimbriigerum* Boiss. Induces Apoptosis of Human Breast Cancer MCF-7 Cells via Mitochondria-Dependent Pathway. *Latin American Journal of Pharmacy*, 39(10), 2022-2028.
- Ziegler, J., & Facchini, P. J. (2008). Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 735-769.
- Zor, M., Aydin, S., Güner, N. D., Başaran, N., & Başaran, A. A. (2017). Antigenotoxic properties of *Paliurus spina-christi* Mill fruits and their active compounds. *BMC complementary and alternative medicine*, 17, 1-10.
- Zuo, F., Nakamura, N., Akao, T., & Hattori, M. (2006). Pharmacokinetics of berberine and its main metabolites in conventional and pseudo germ-free rats determined by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition*, 34(12), 2064-2072.

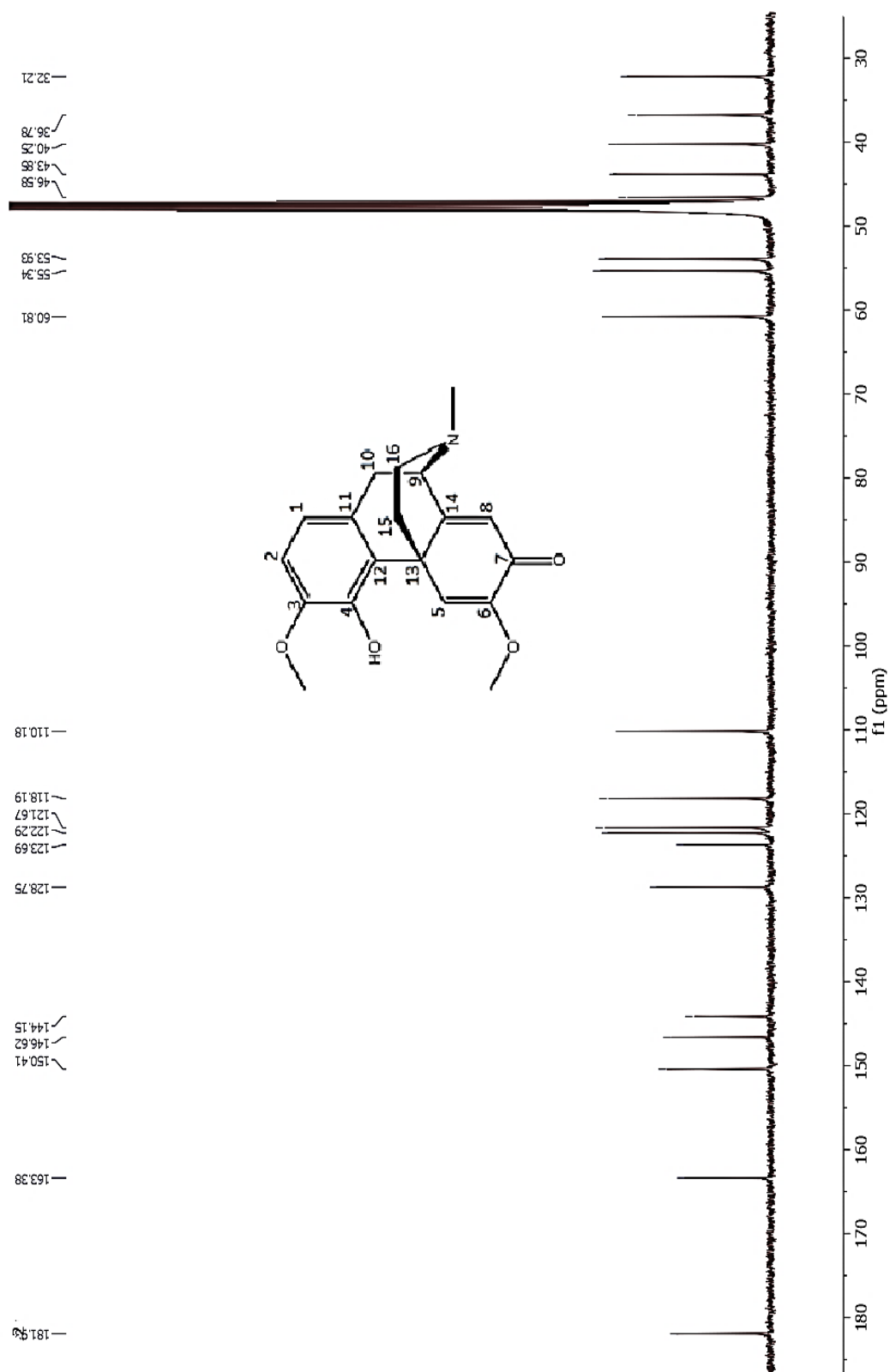
EKLER



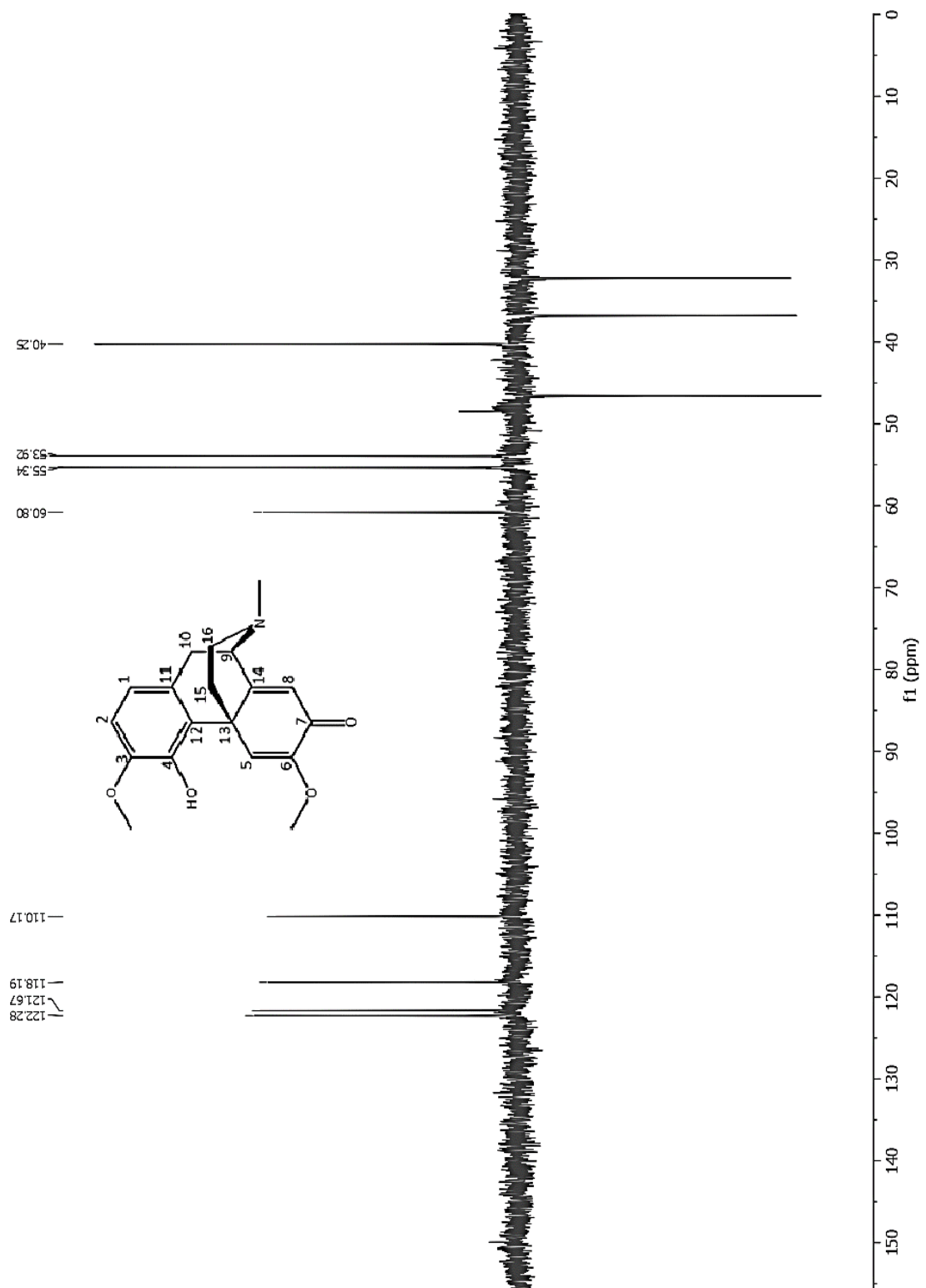
Ek-1. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu



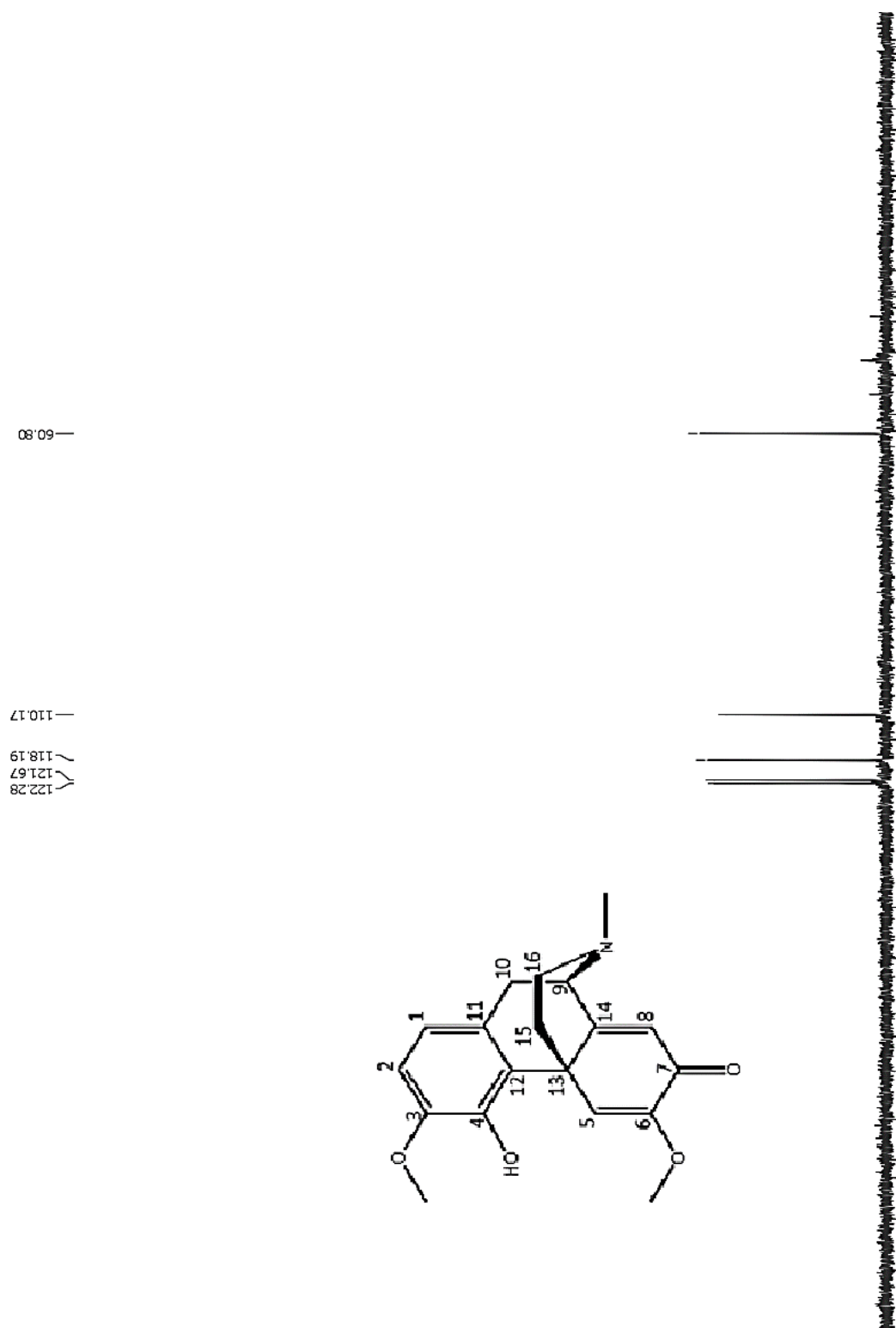
Ek-2. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



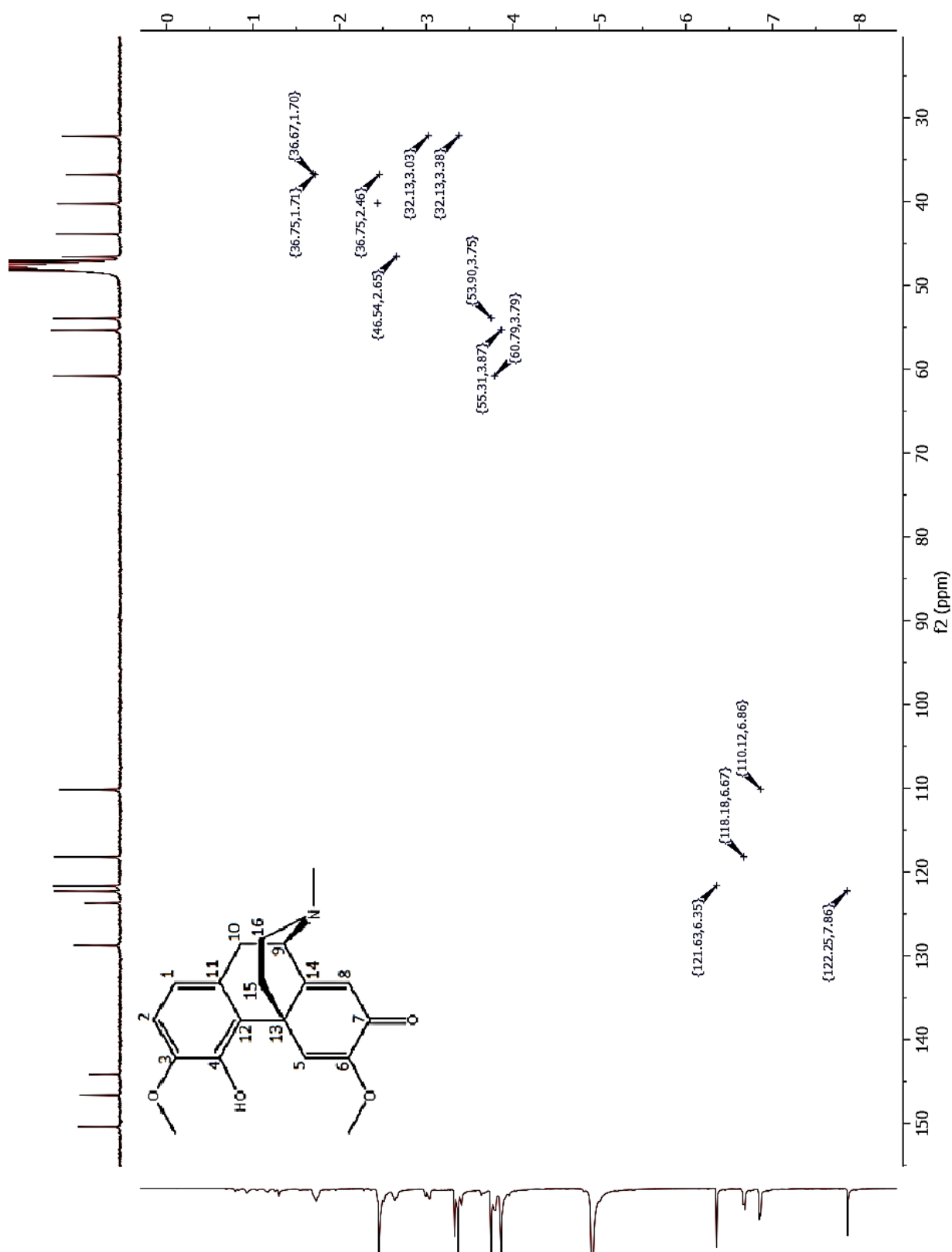
Ek-3. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşığının DEPT 135 spektrumu



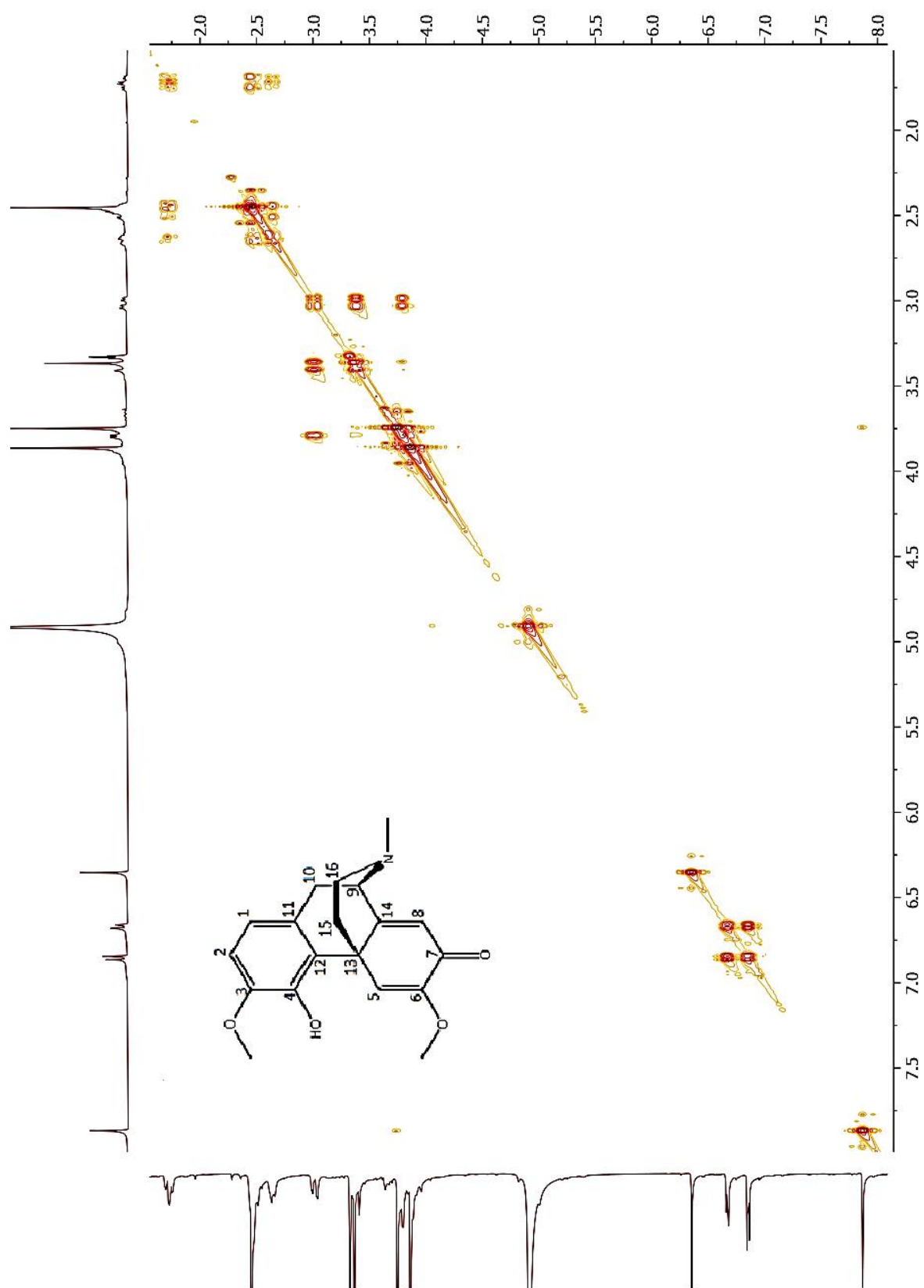
Ek-4. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşığının DEPT 90 spektrumu



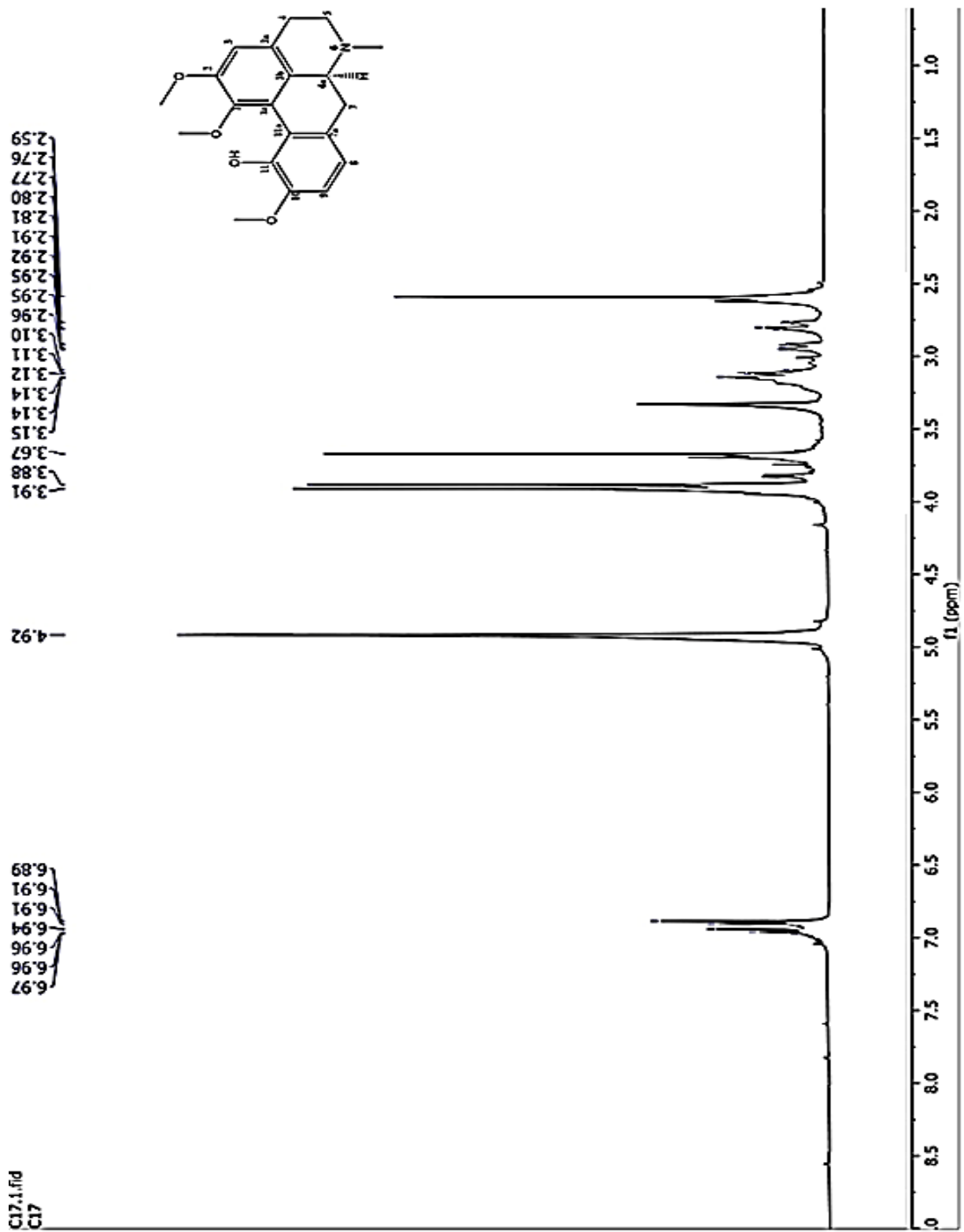
Ek-5. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşığının HETCOR spektrumu



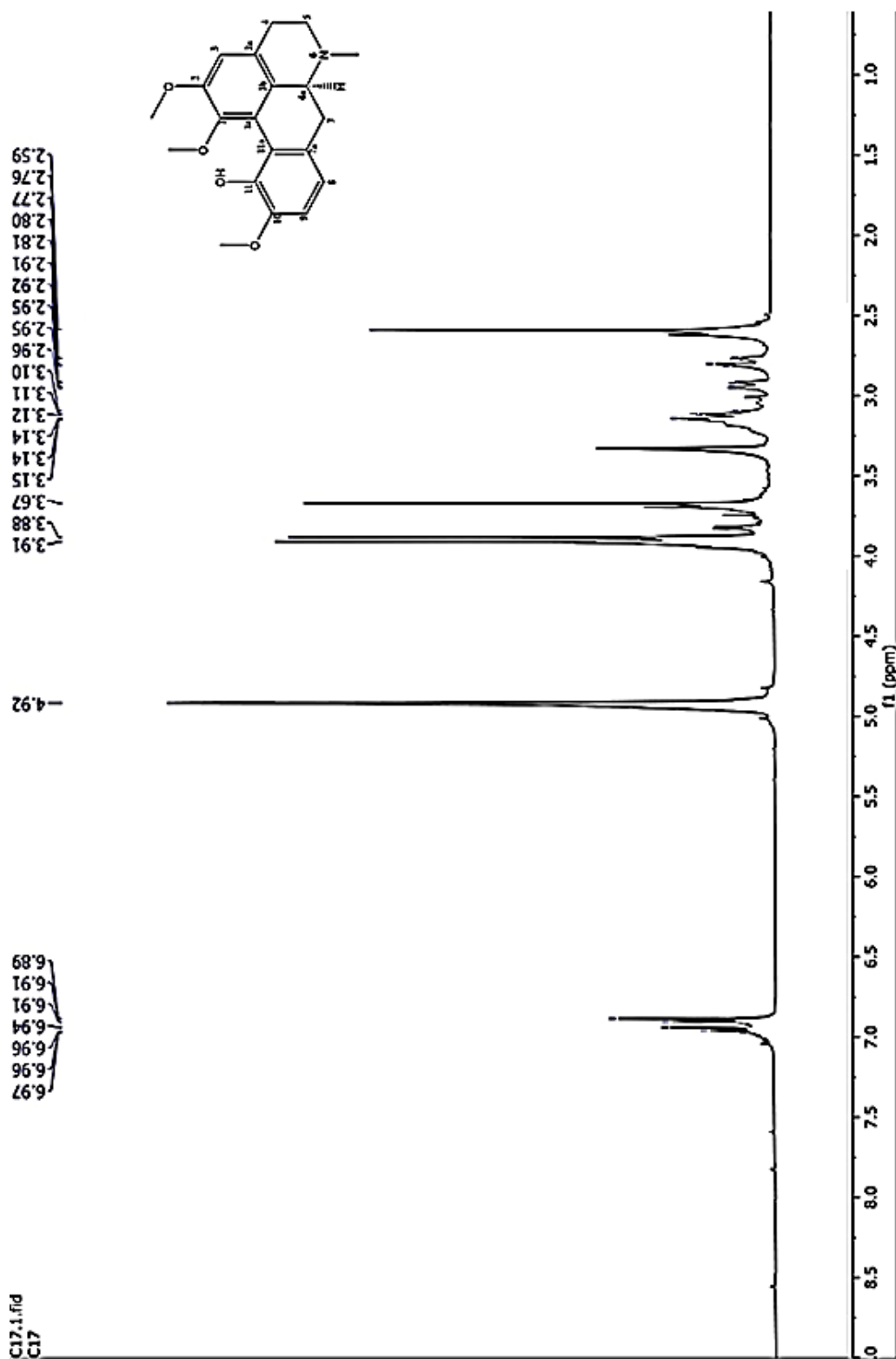
Ek-6. Salutaridin (Salutaridine, BGB-6) bileşiğinin COSY spektrumu



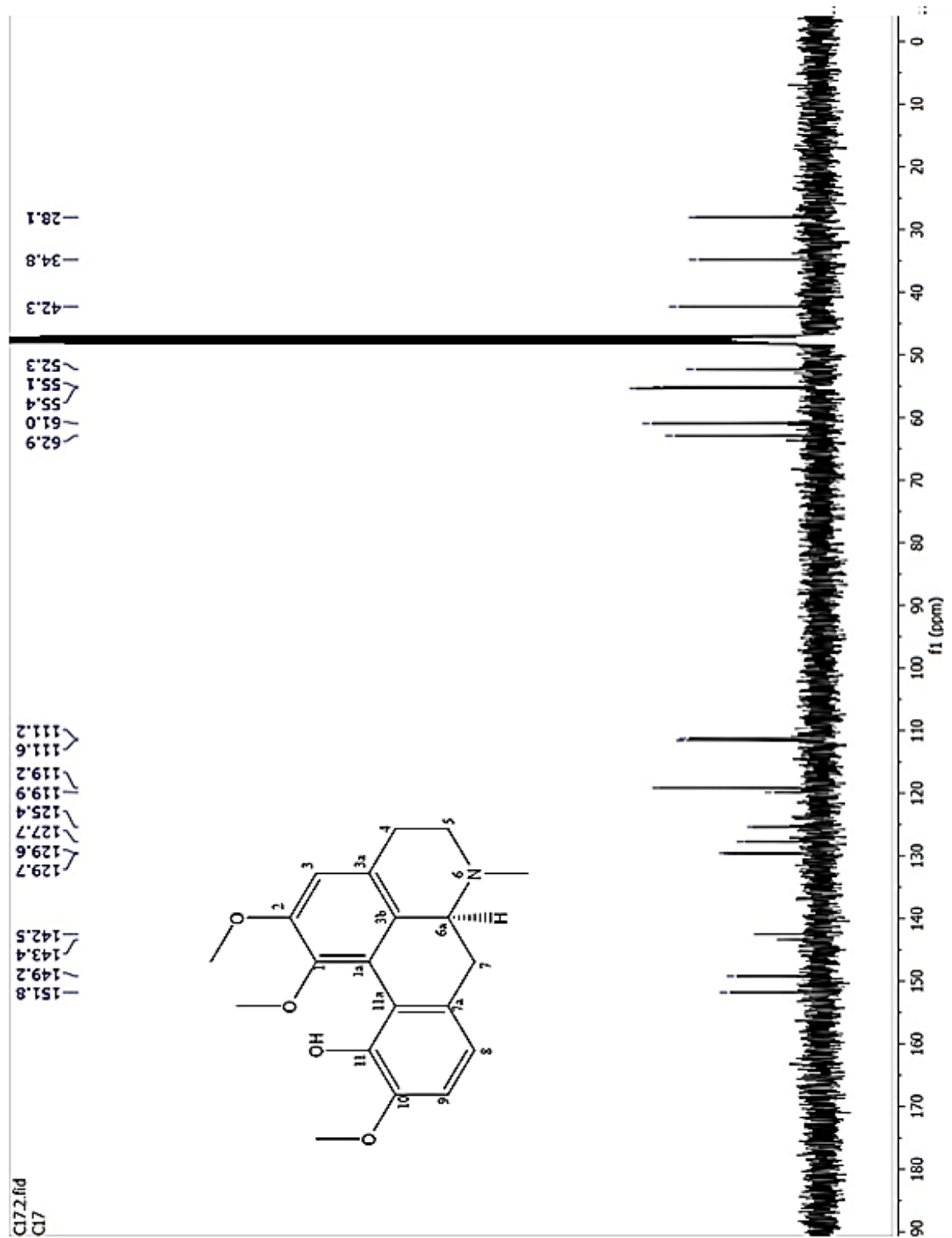
Ek-8. İzokoridin (C17) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu



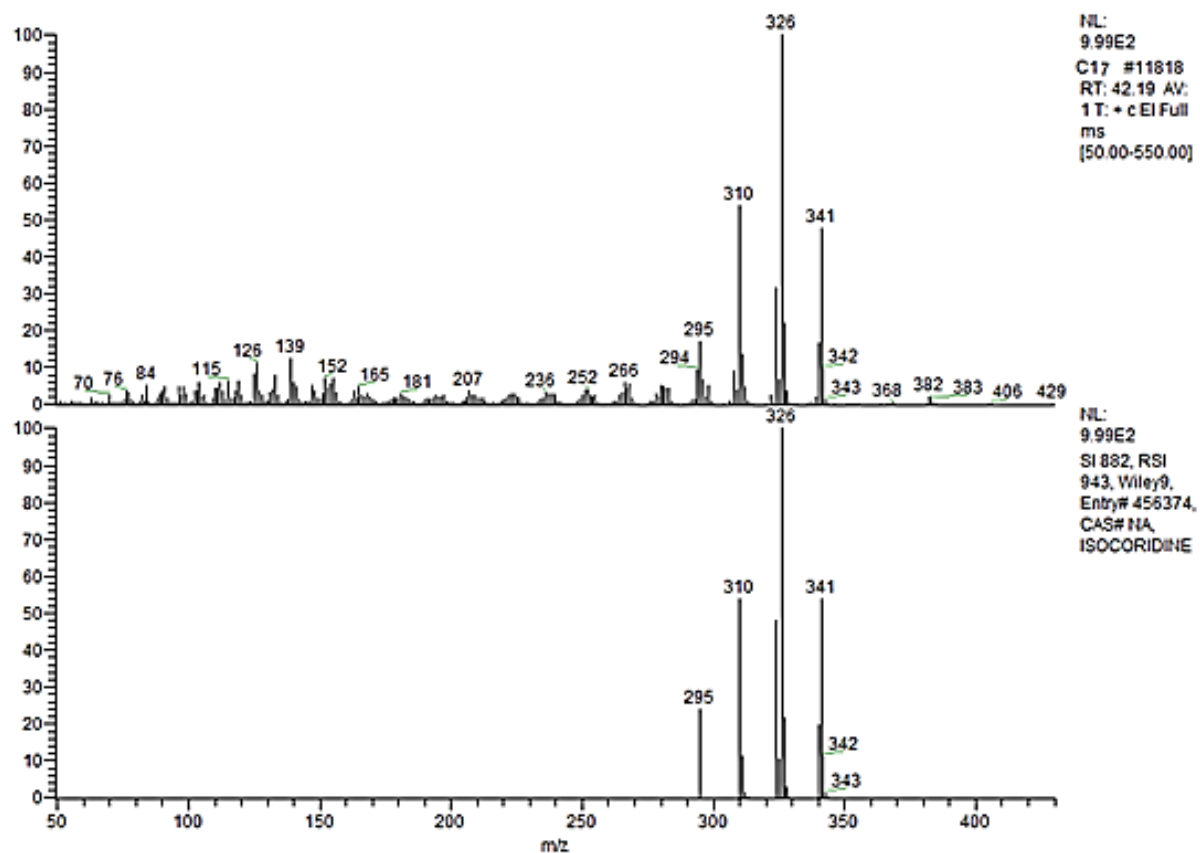
Ek-8. İzokoridin (C17) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu



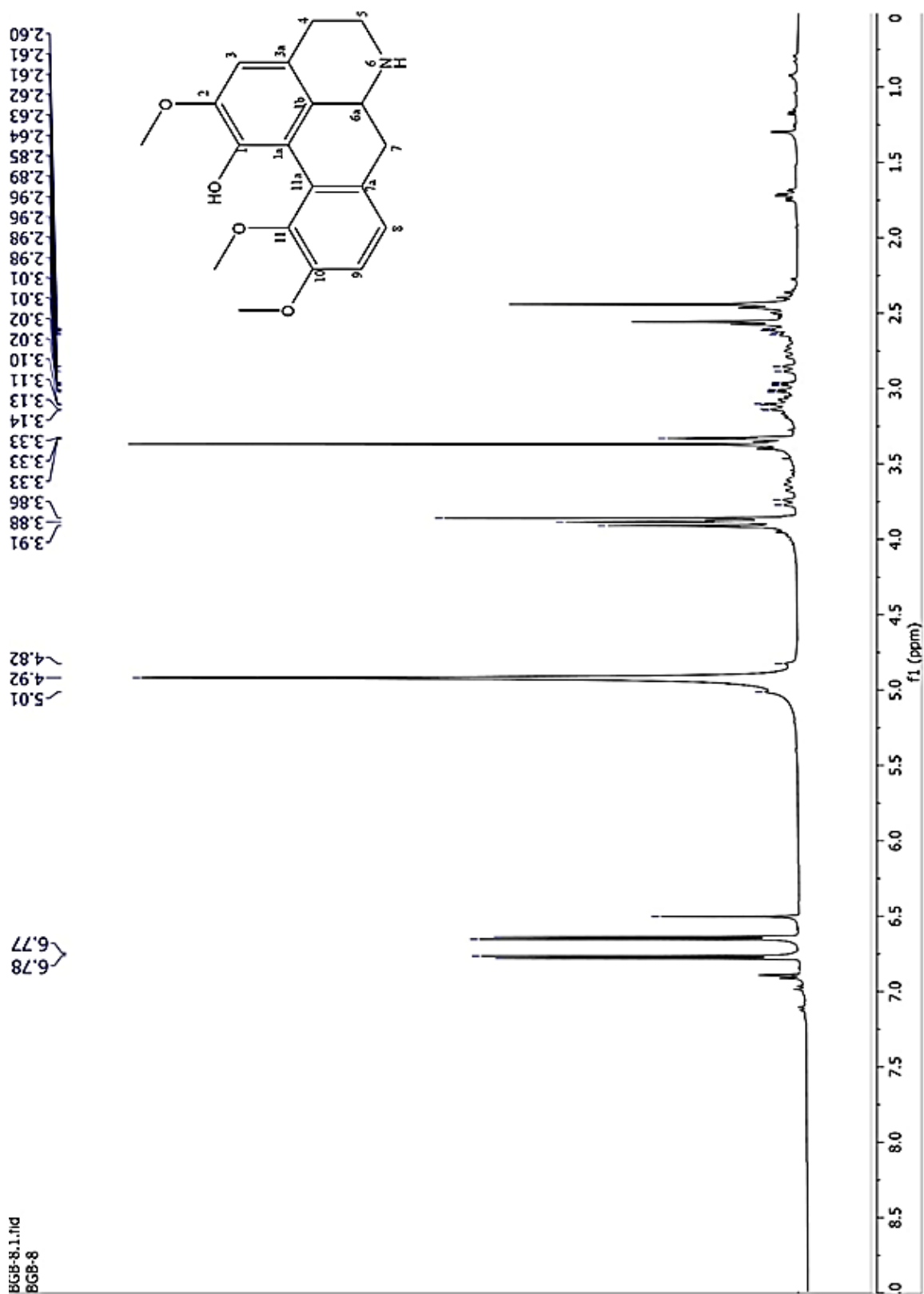
Ek-9. İzokoridin (C17) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



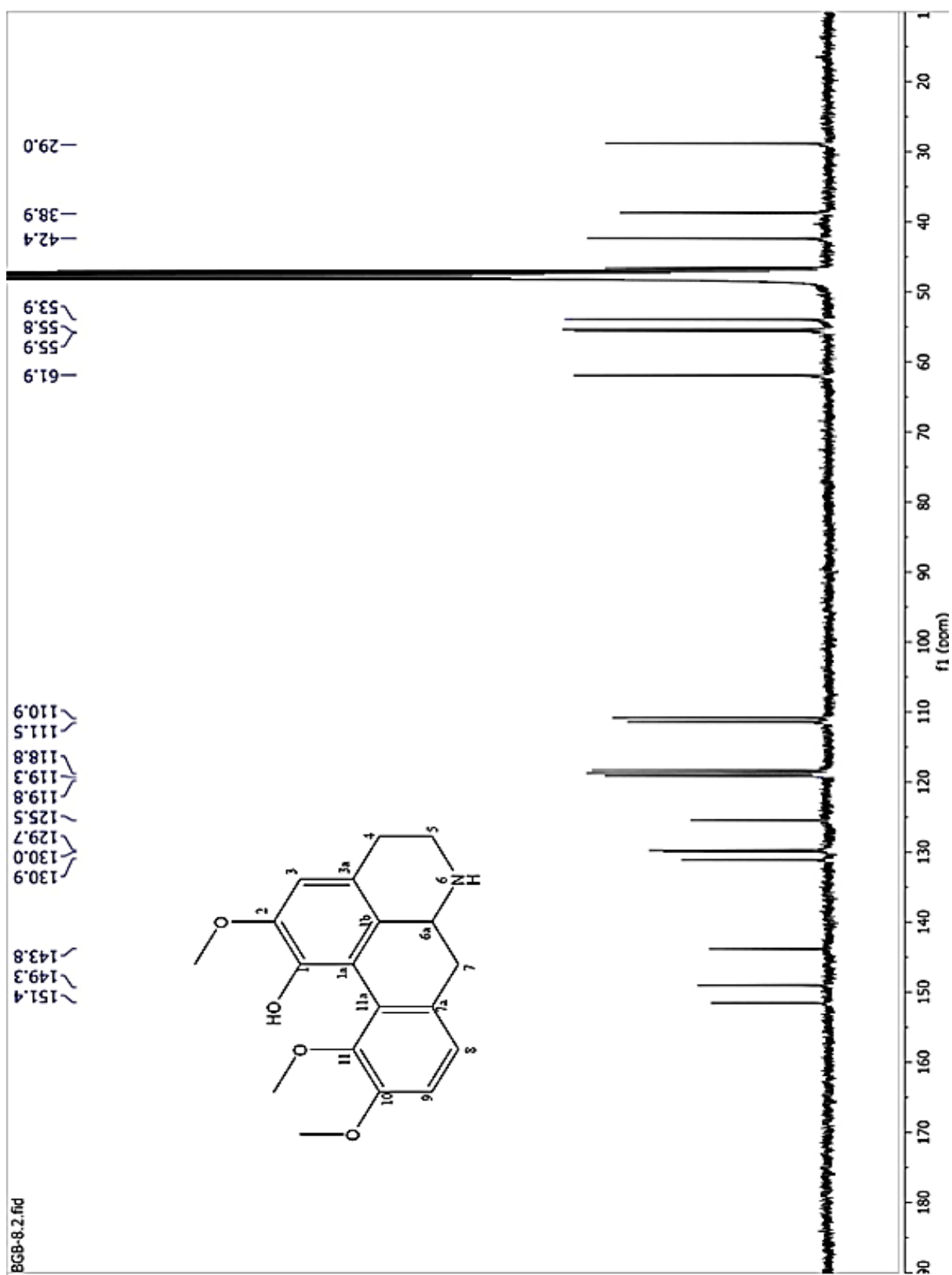
Ek-10. İzokoridin (C17) bileşiğinin GC-MS spektrumu



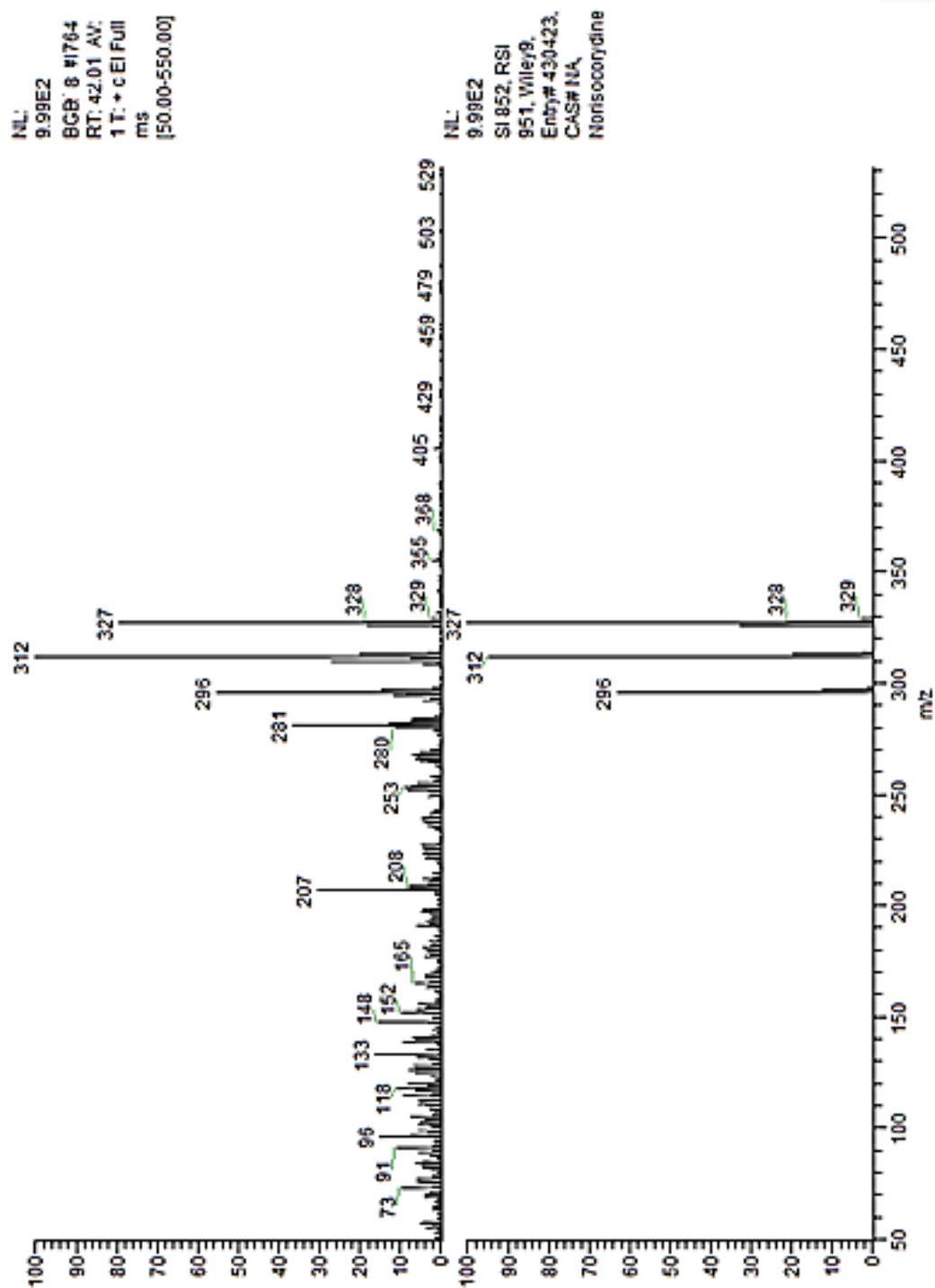
Ek-11. Norizokoridin (BGB8) bileşiminin ^1H -NMR spektrumu



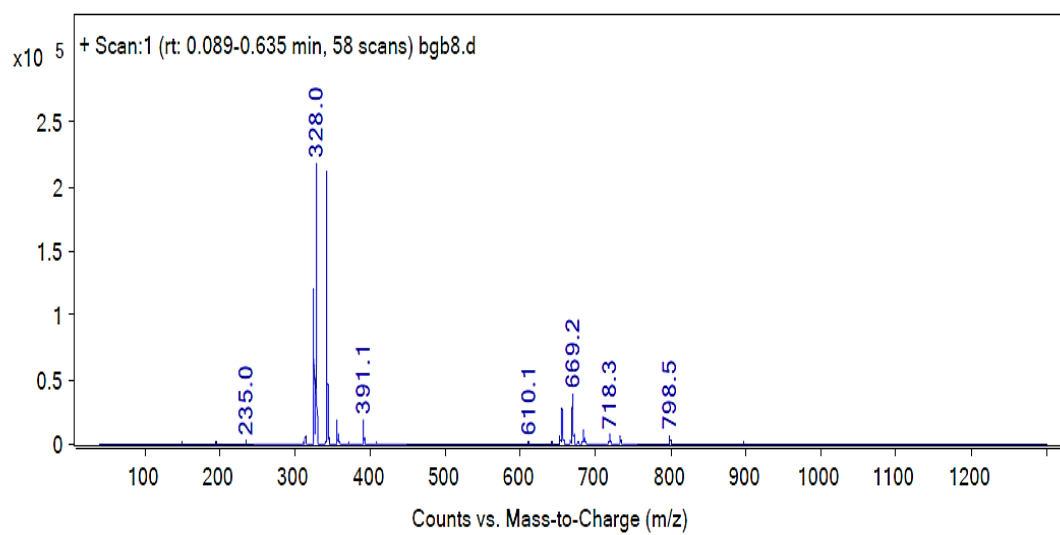
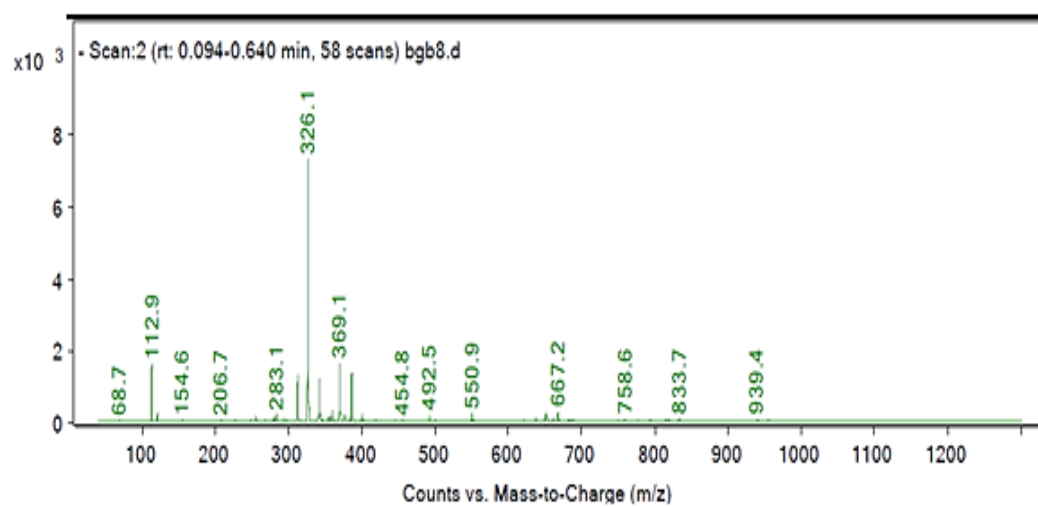
Ek-12. Norizokoridin (BGB8) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



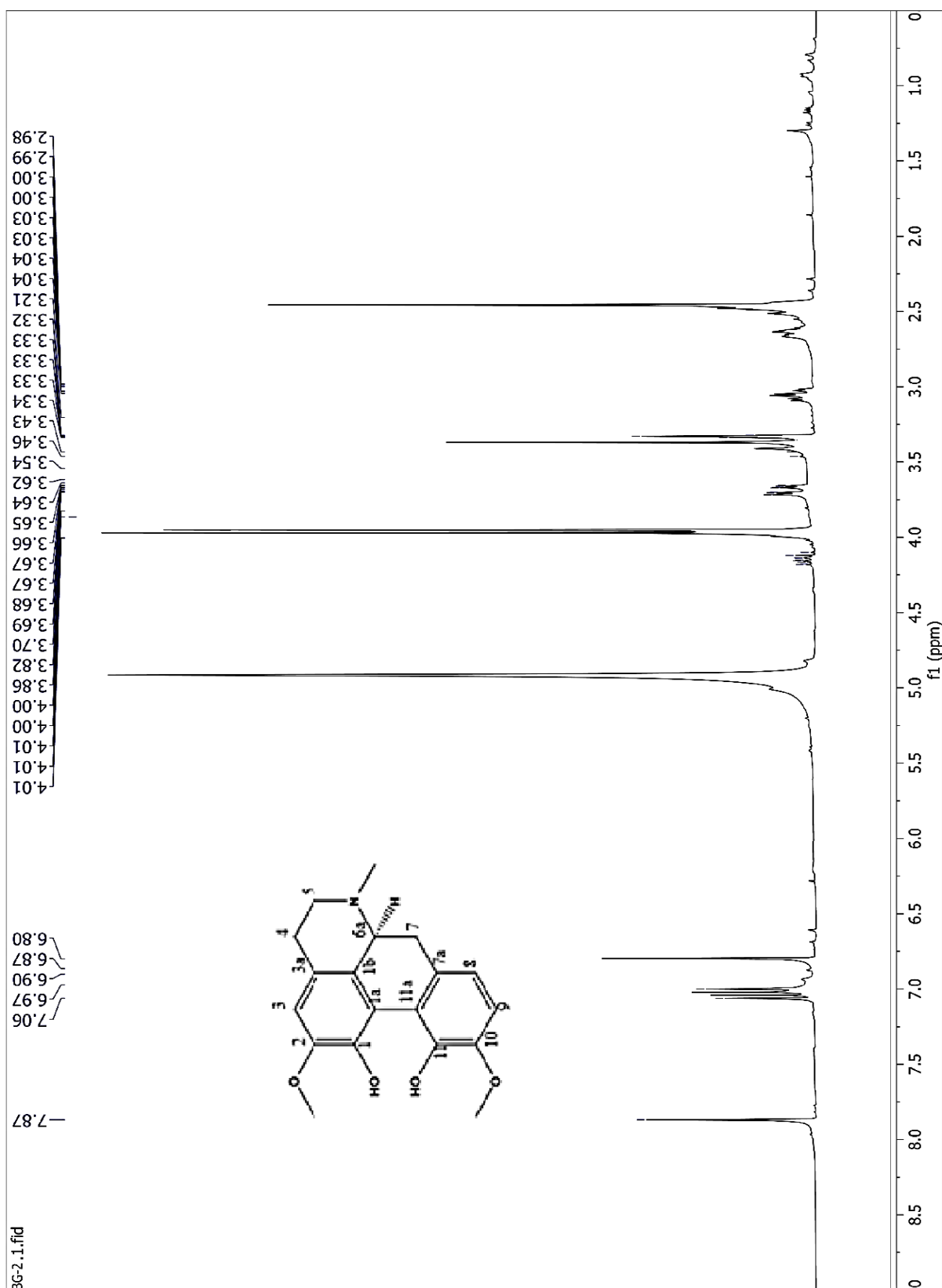
Ek-13. Norizokoridin (BGB8) bileşiminin GC-MS spektrumu



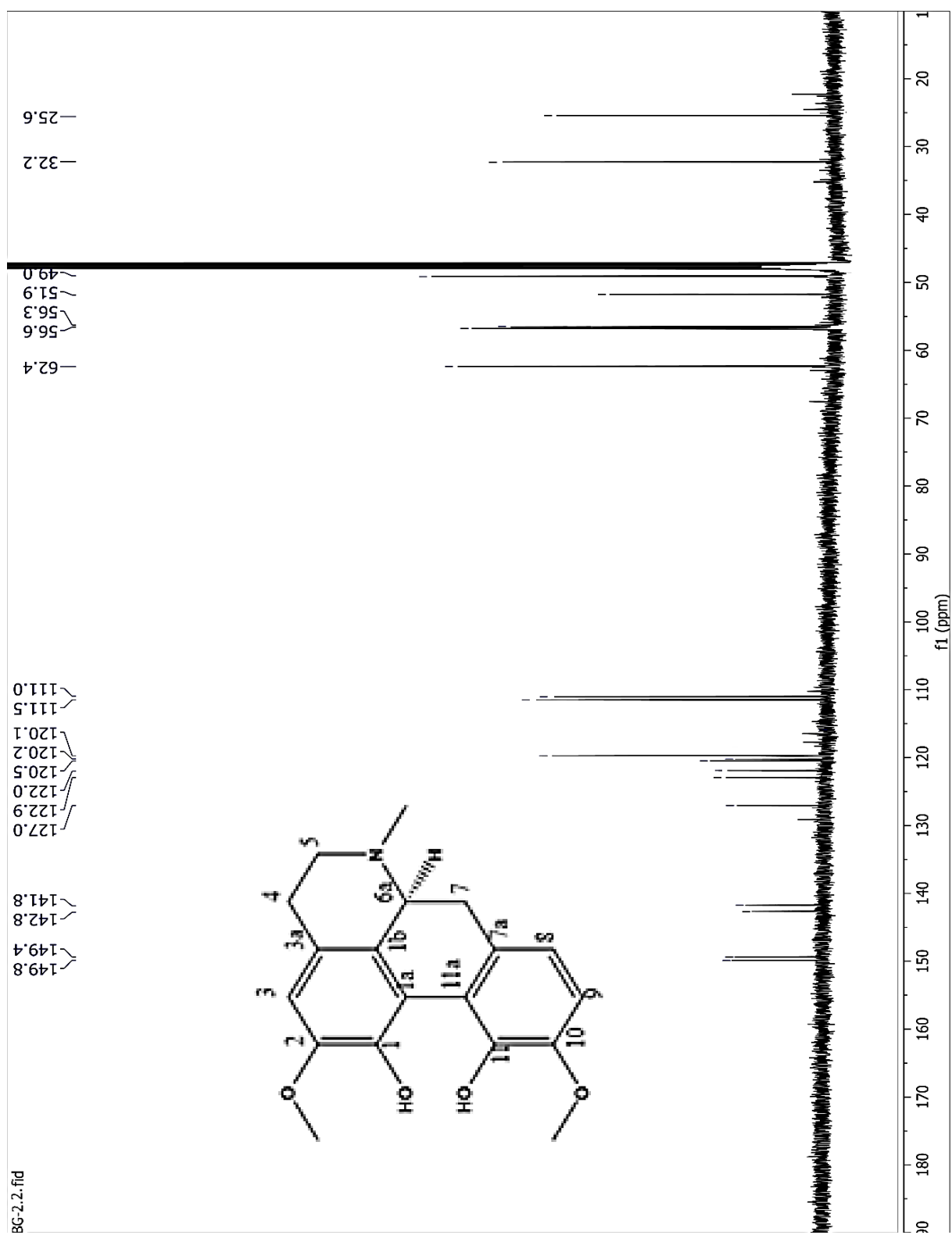
Ek-14. Norizokoridin (BGB8) bileşiminin LC-MS spektrumu



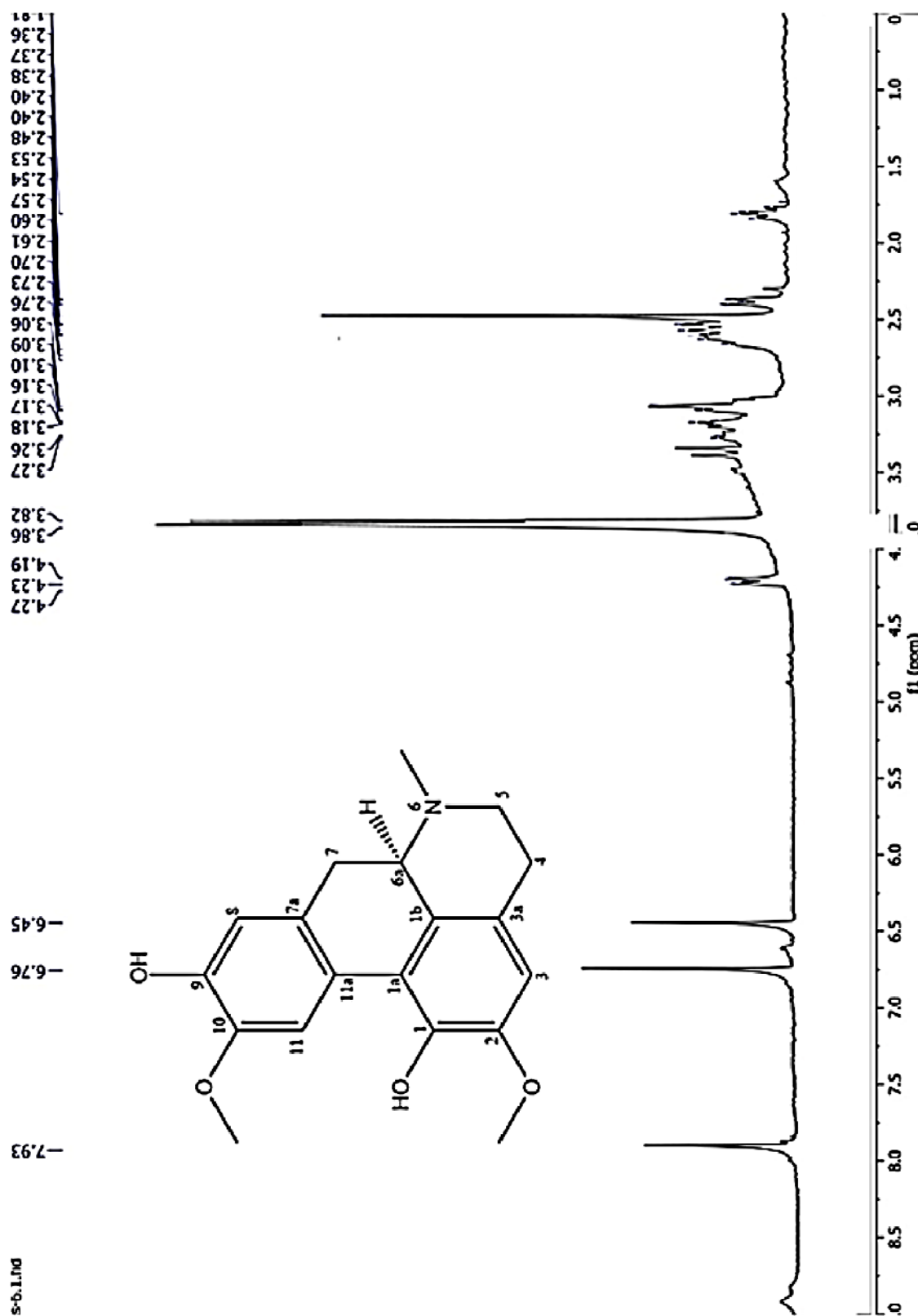
Ek-15. Korytüberin (BG2) bileşığının ^1H -NMR spektrumu



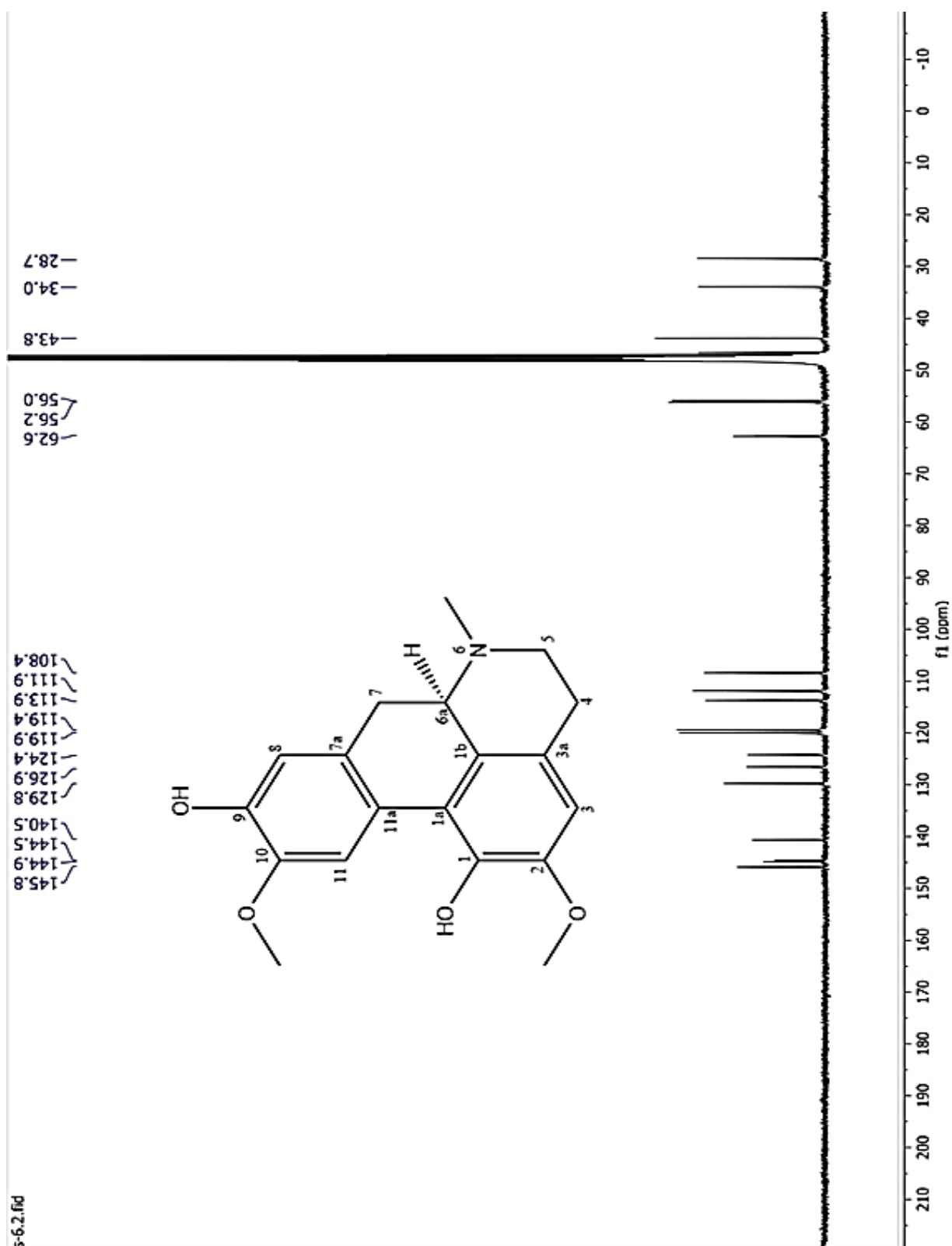
Ek-16. Korytüberin (BG2) bileşığının ^{13}C -NMR spektrumu



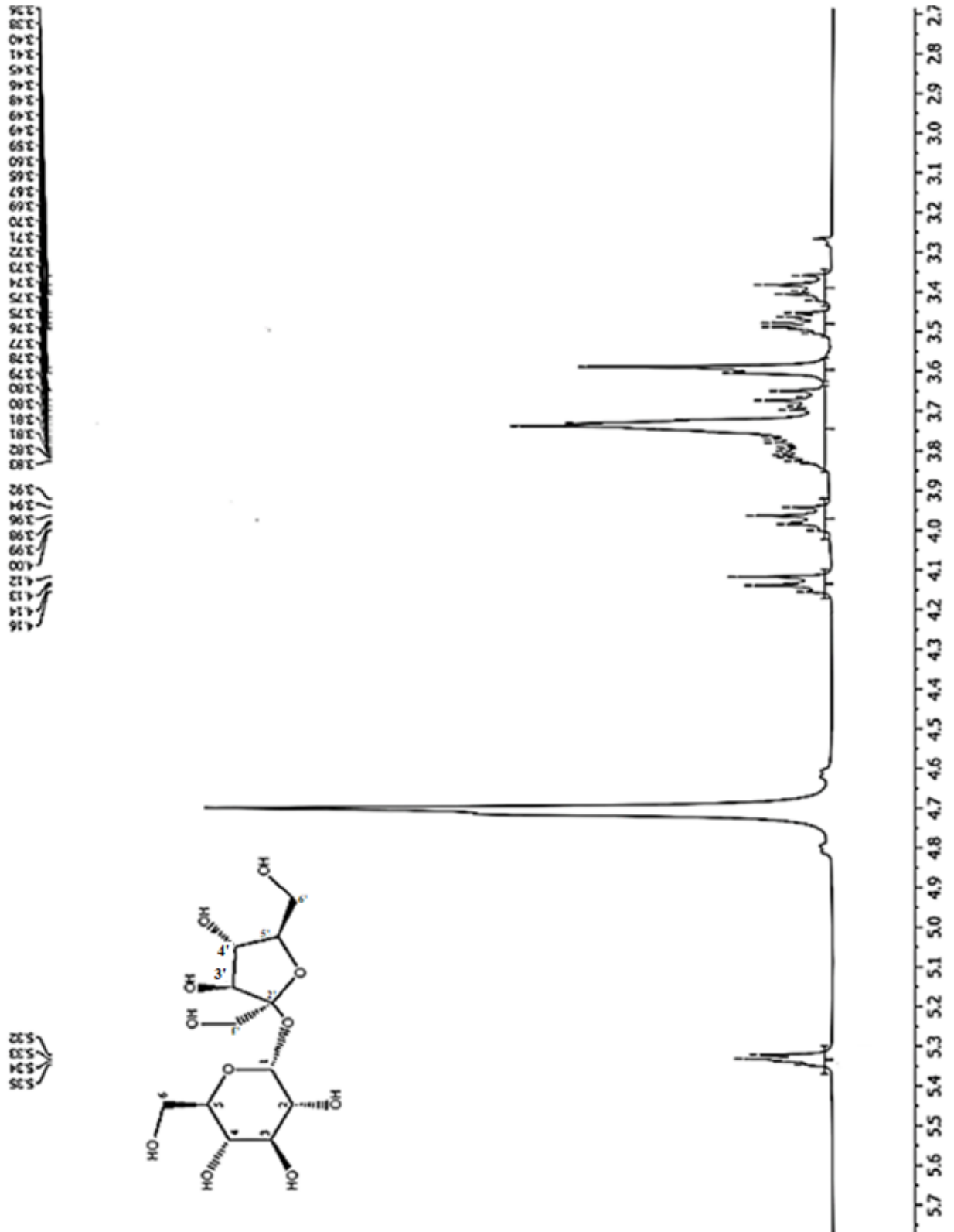
Ek-17. İzoboldin (S6) bileşiğinin ^1H - NMR spektrumu



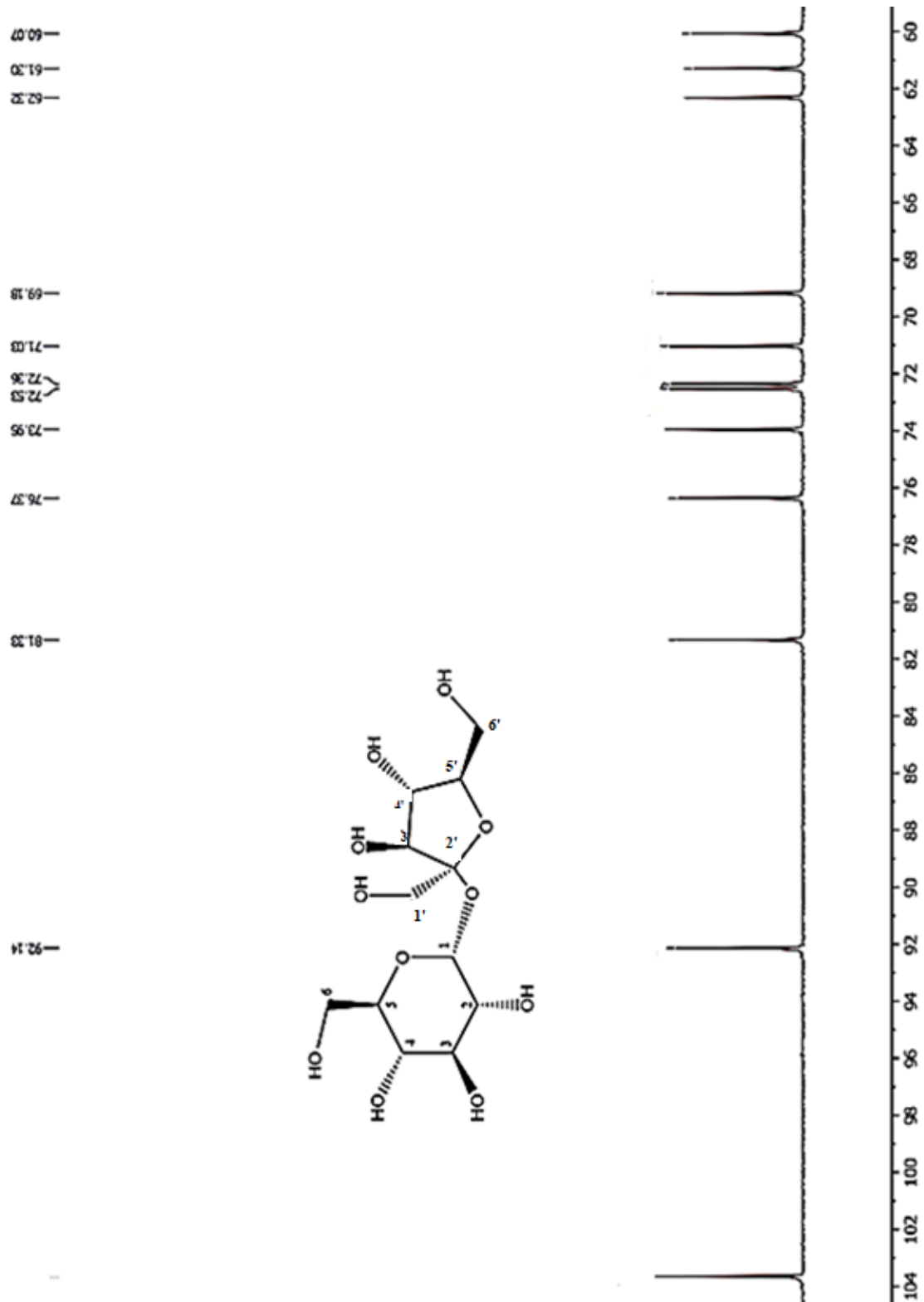
Ek-18. İzoboldin (S6) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



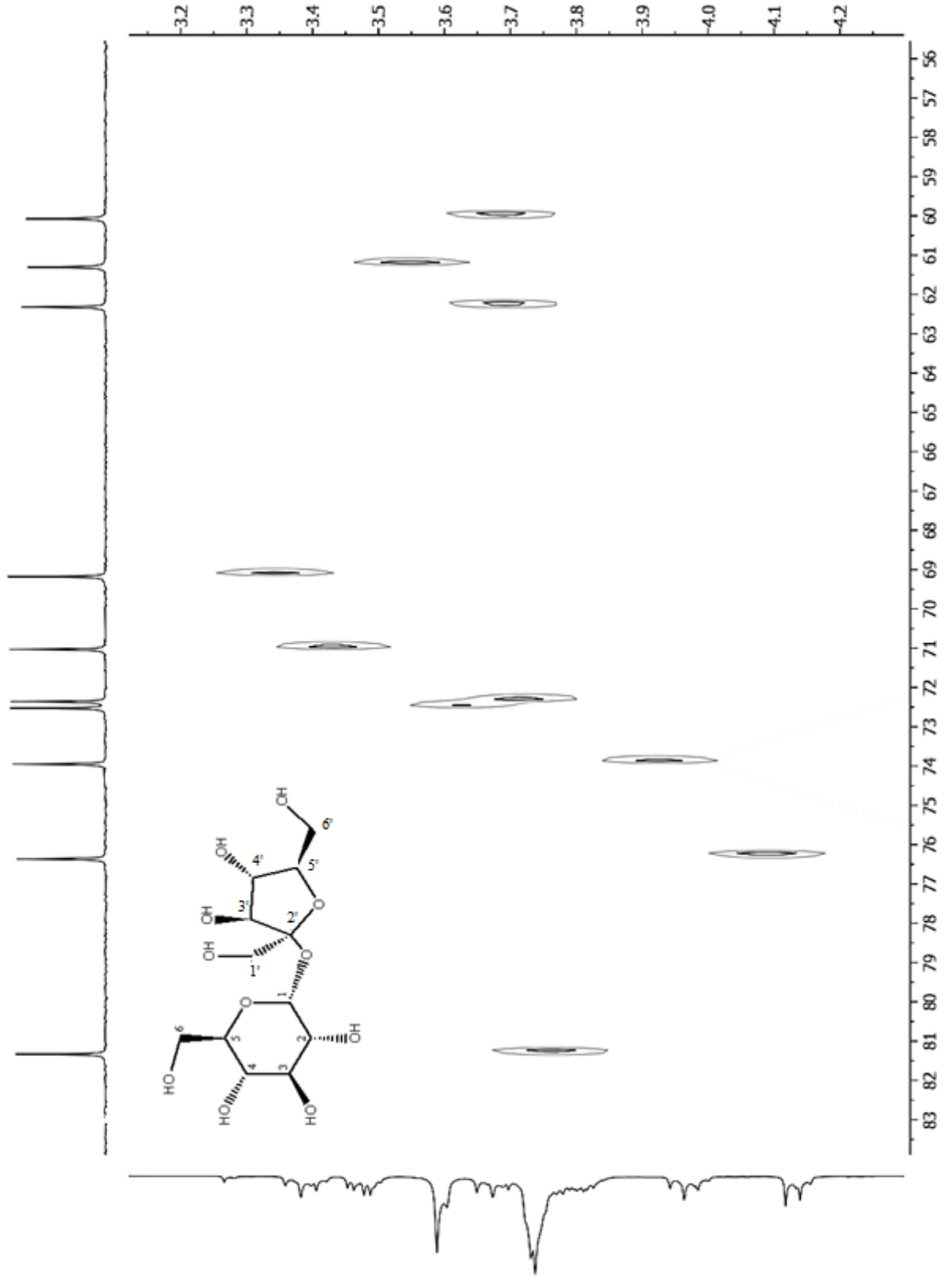
Ek-19. Sükroz (GH58) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu



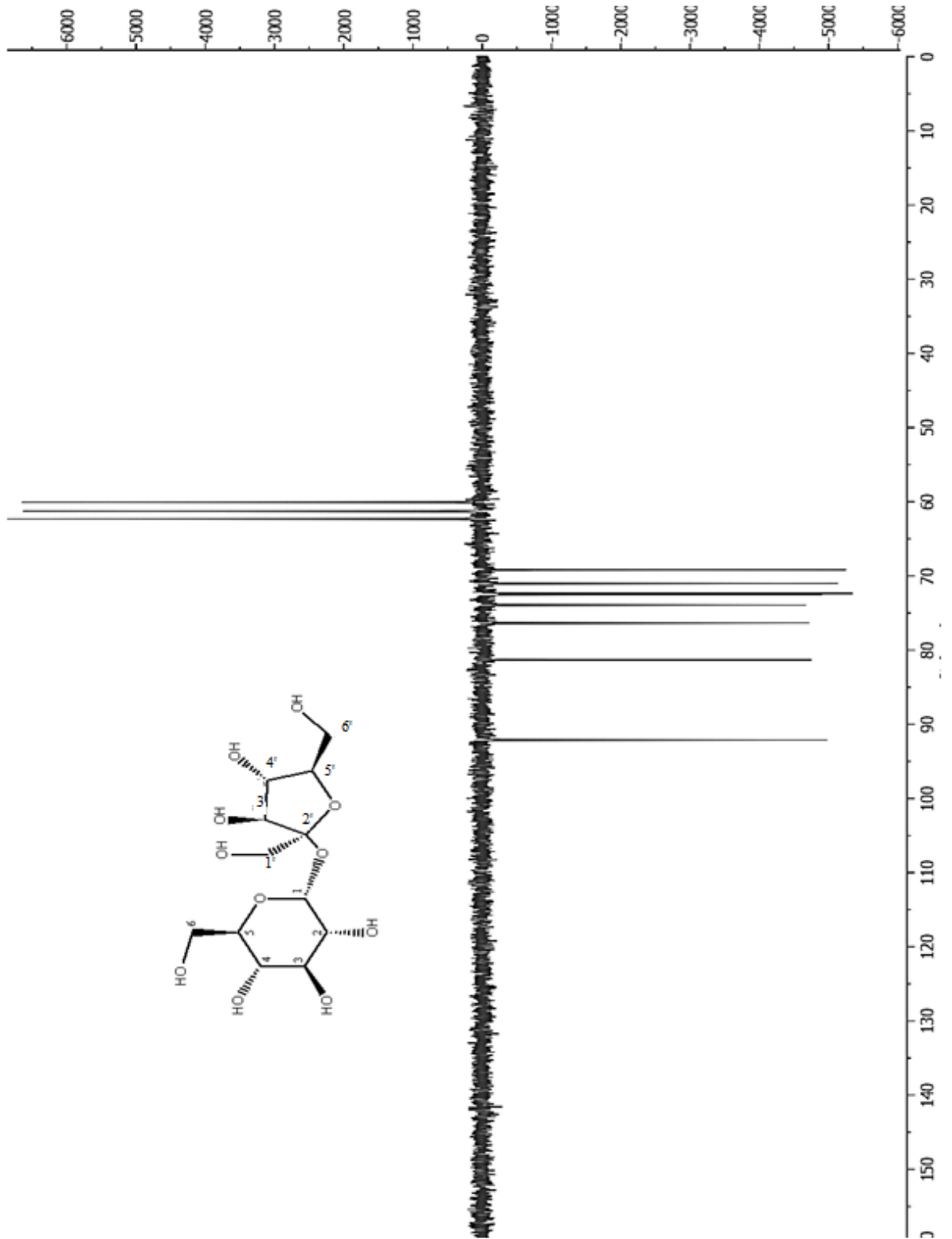
Ek-20. Sükroz (GH58) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



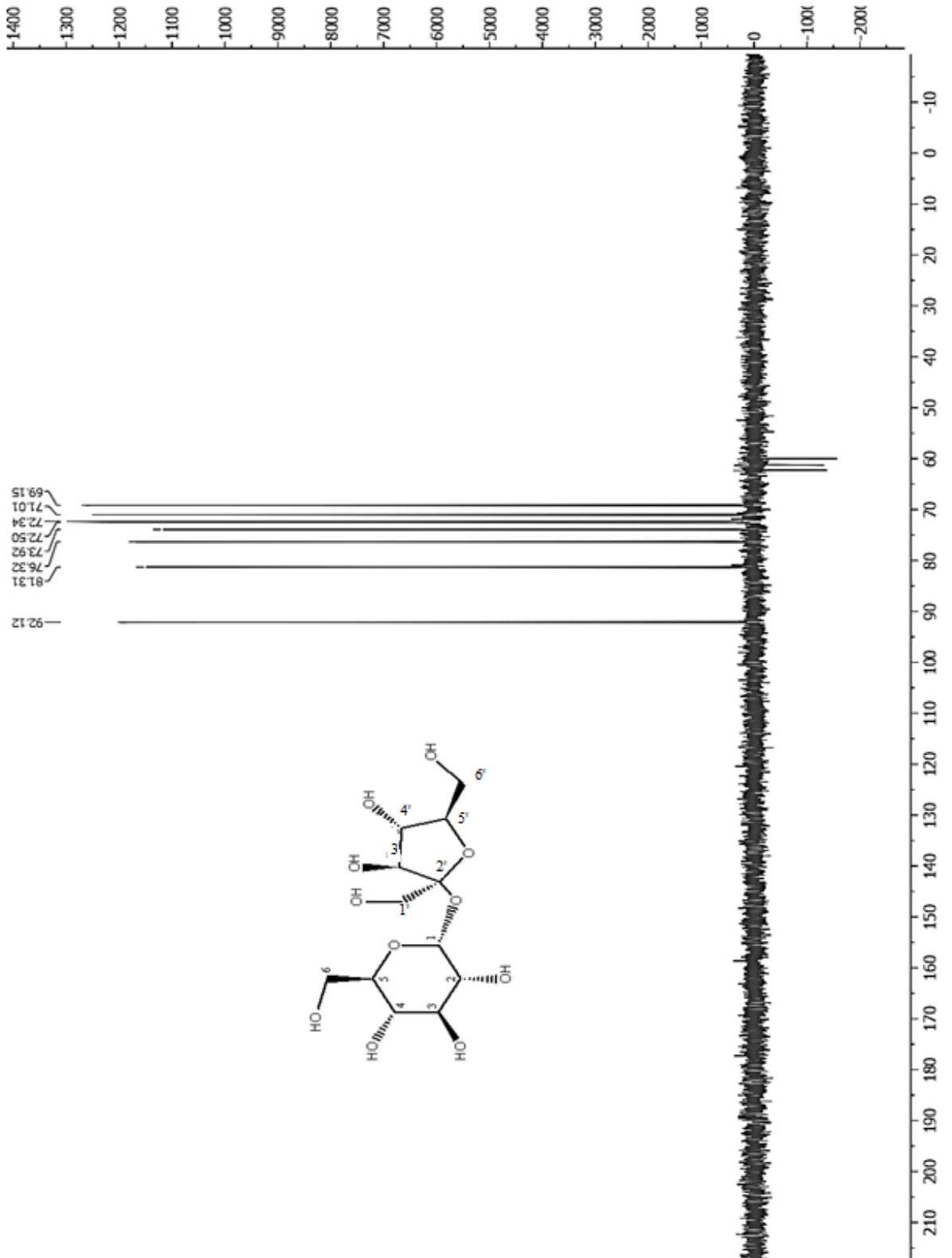
Ek-21. Sükroz (GH58) bileşığının HETGOR spektrumu



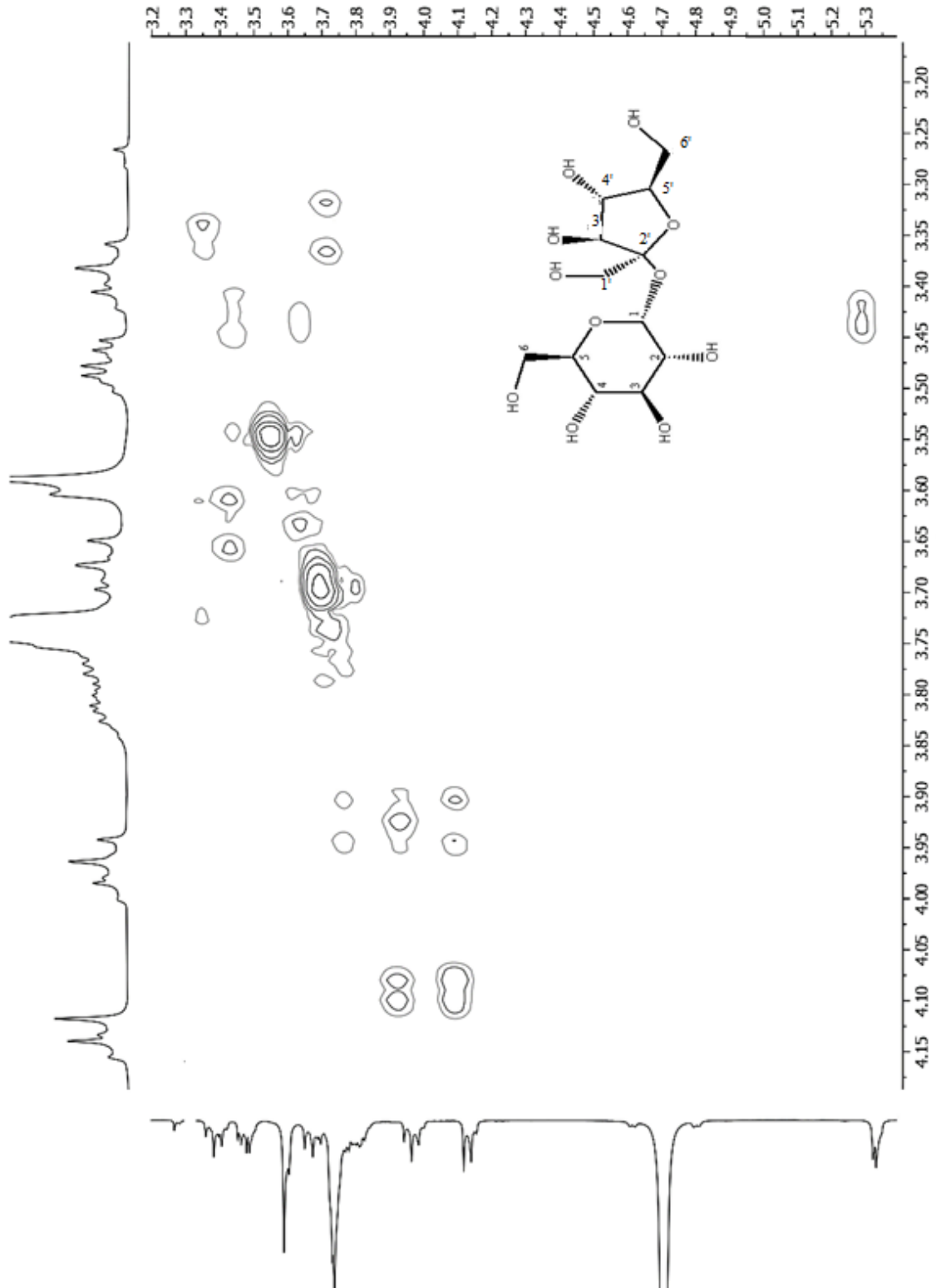
Ek-22. Sükroz (GH58) bileşığının DEPT 135 spektrumu



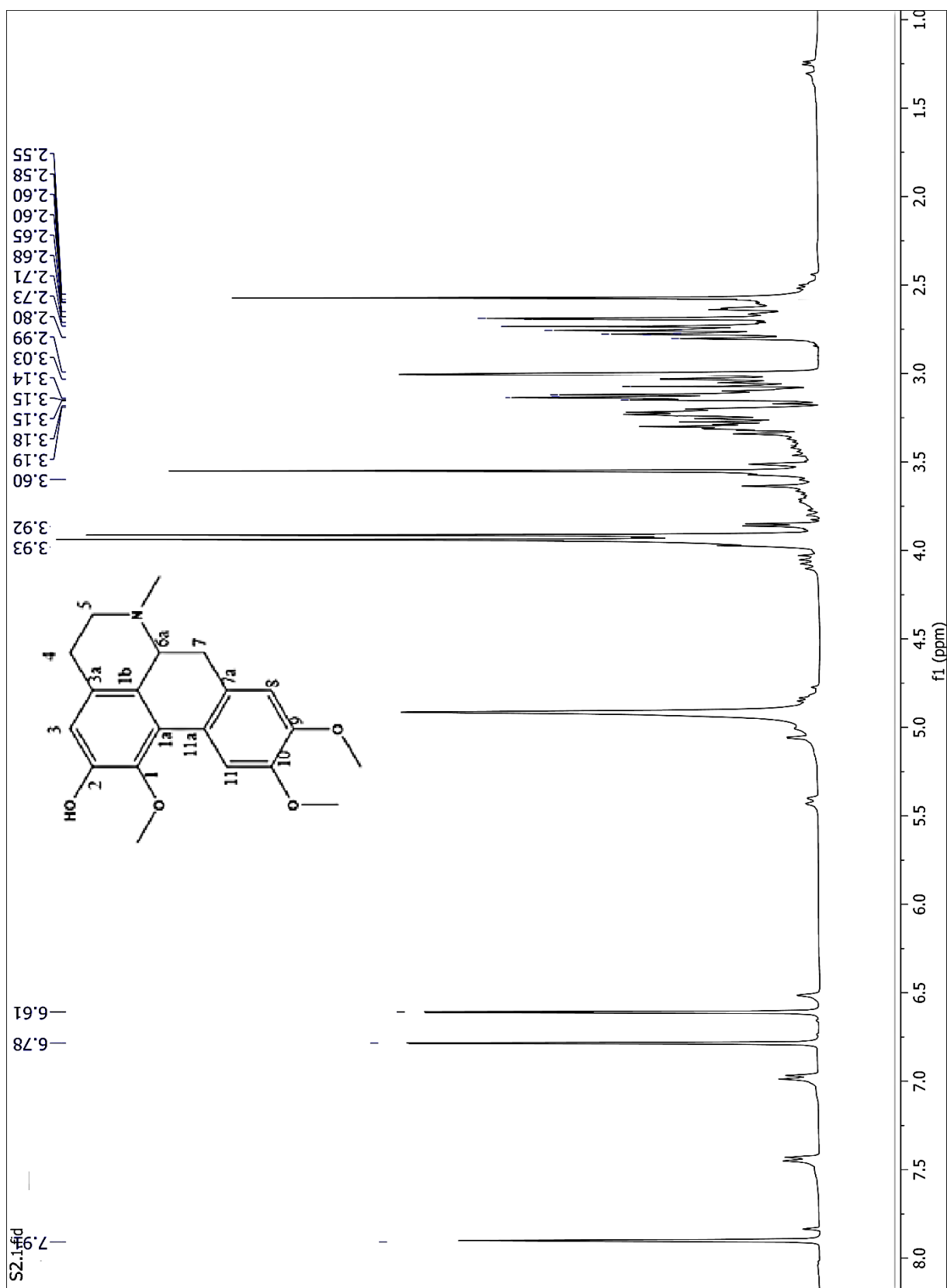
Ek-23. Sükroz (GH58) bileşığının DEPT spektrumu



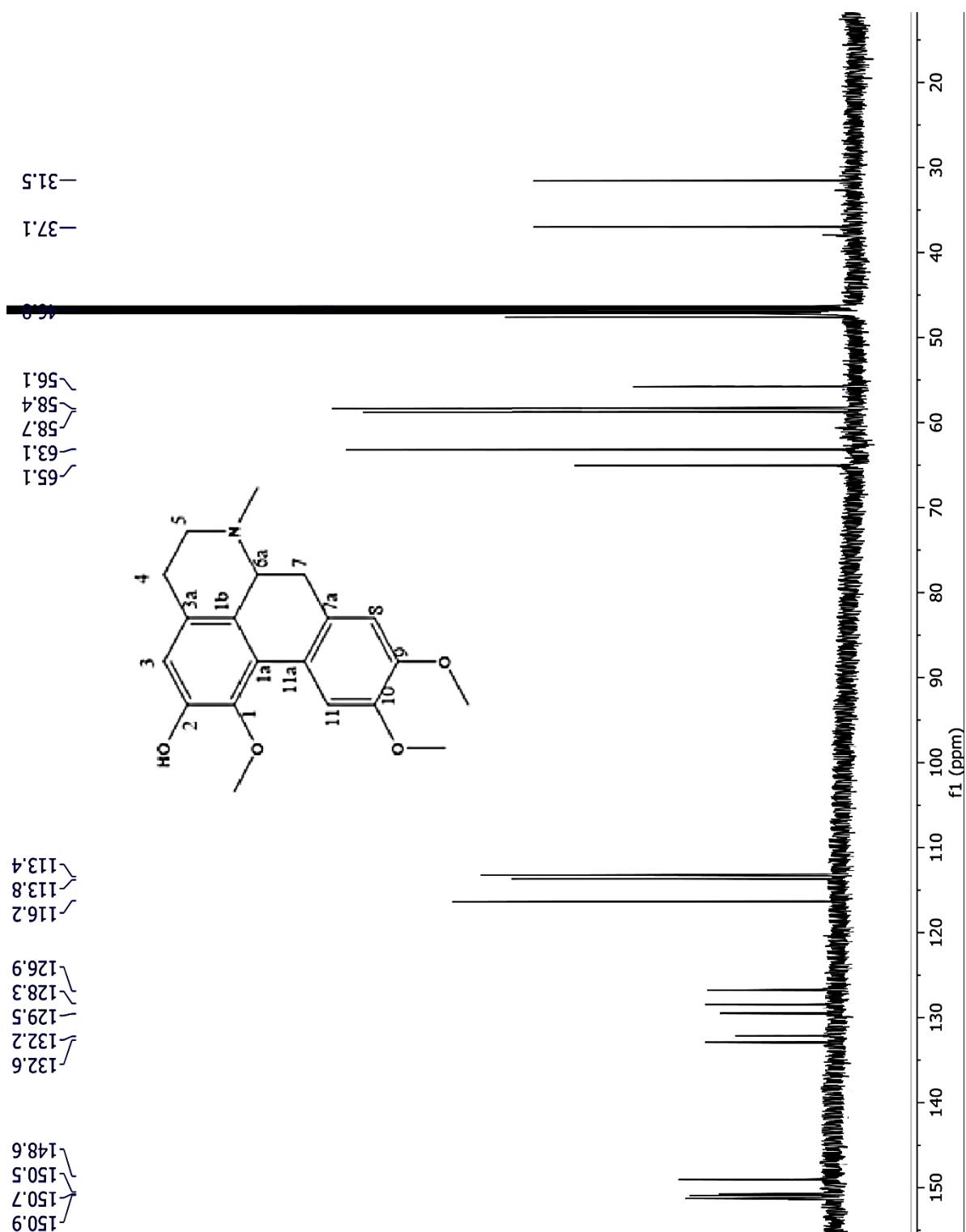
Ek-24. Sükroz (GH58) bileşığının COSY spektrumu



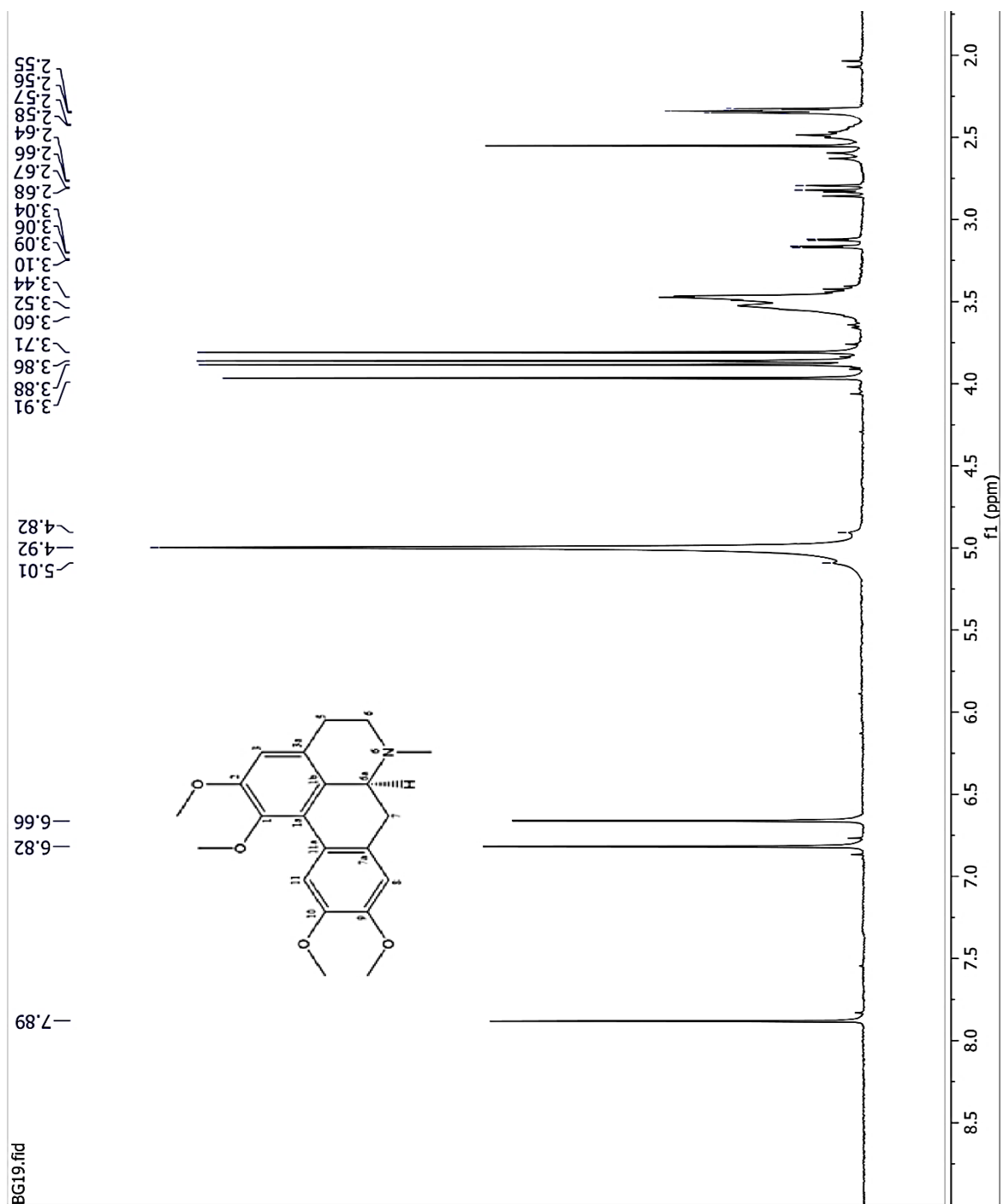
Ek-25. Predisentrin (S2) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu



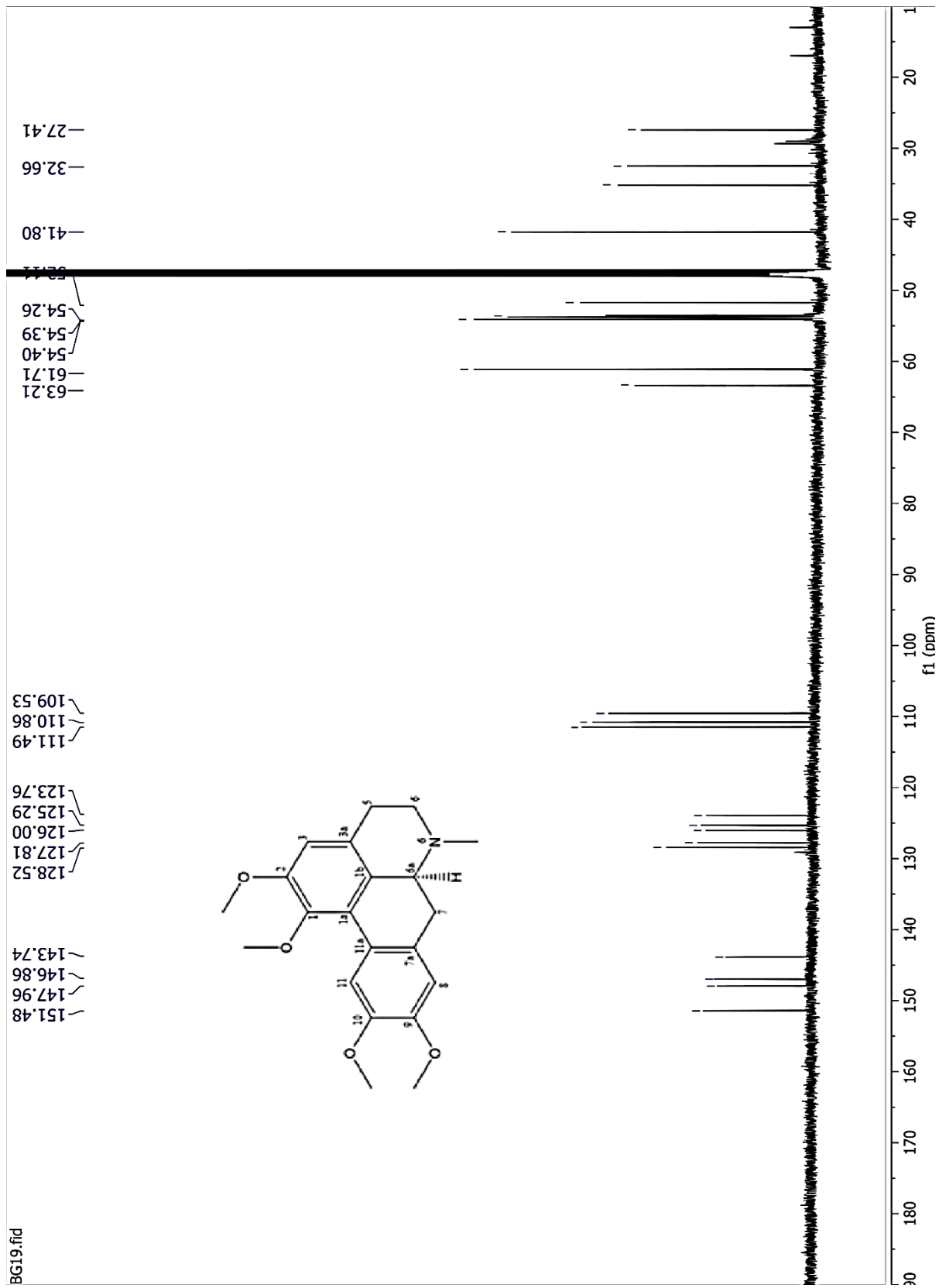
Ek-26. Predisentrin (S2) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



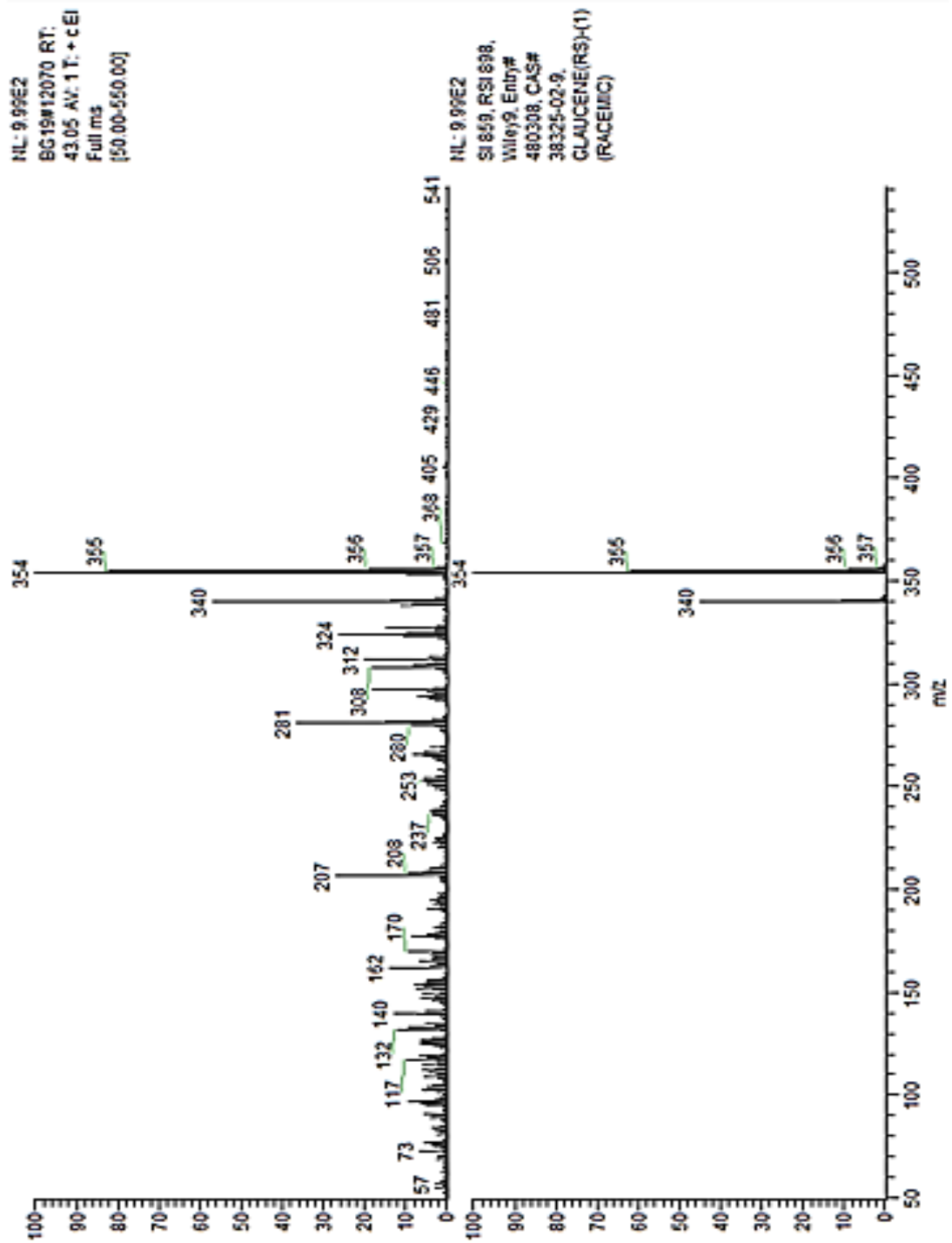
Ek-27. Glausin (BG19) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu



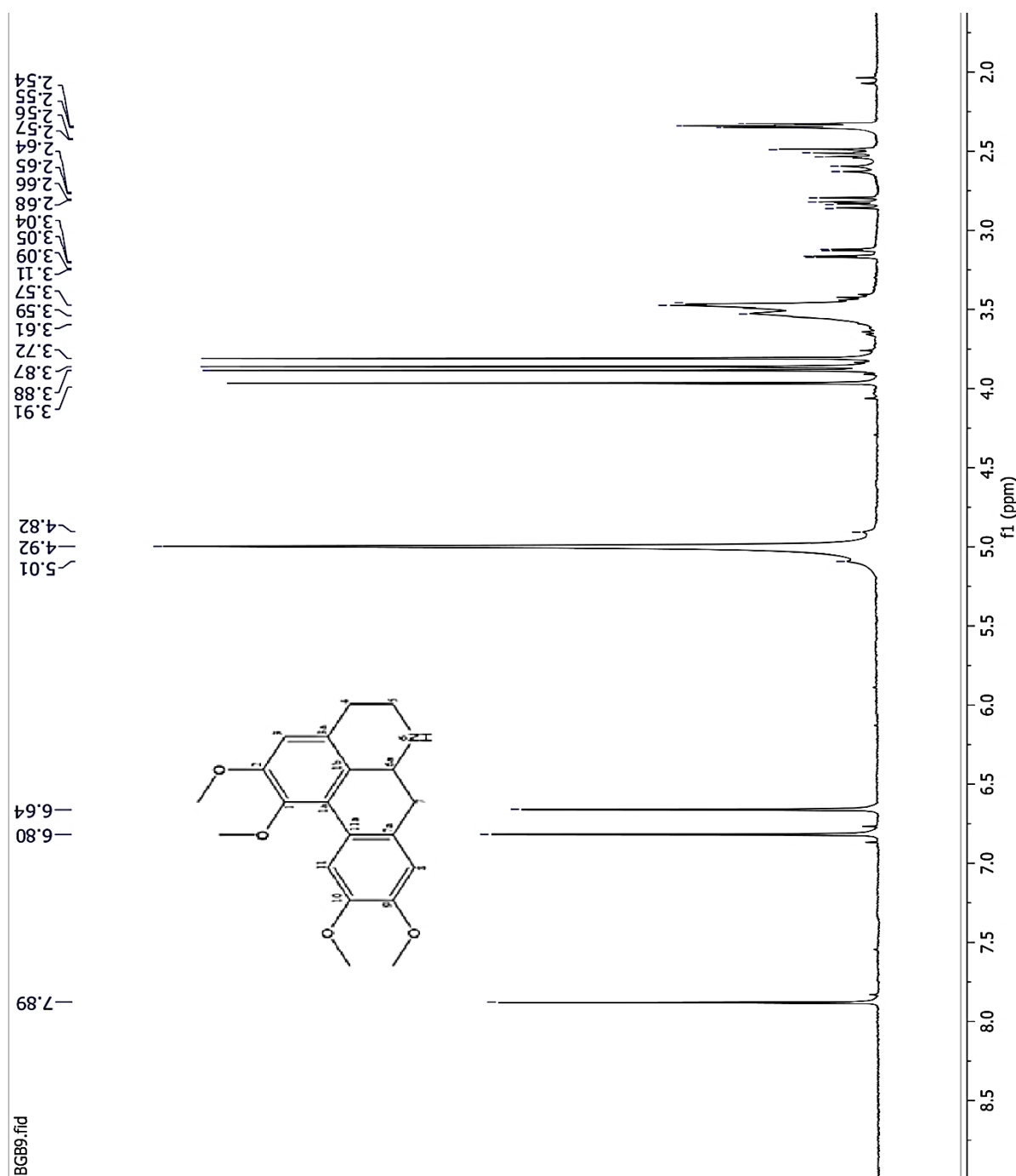
Ek-28. Glausin (BG19) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



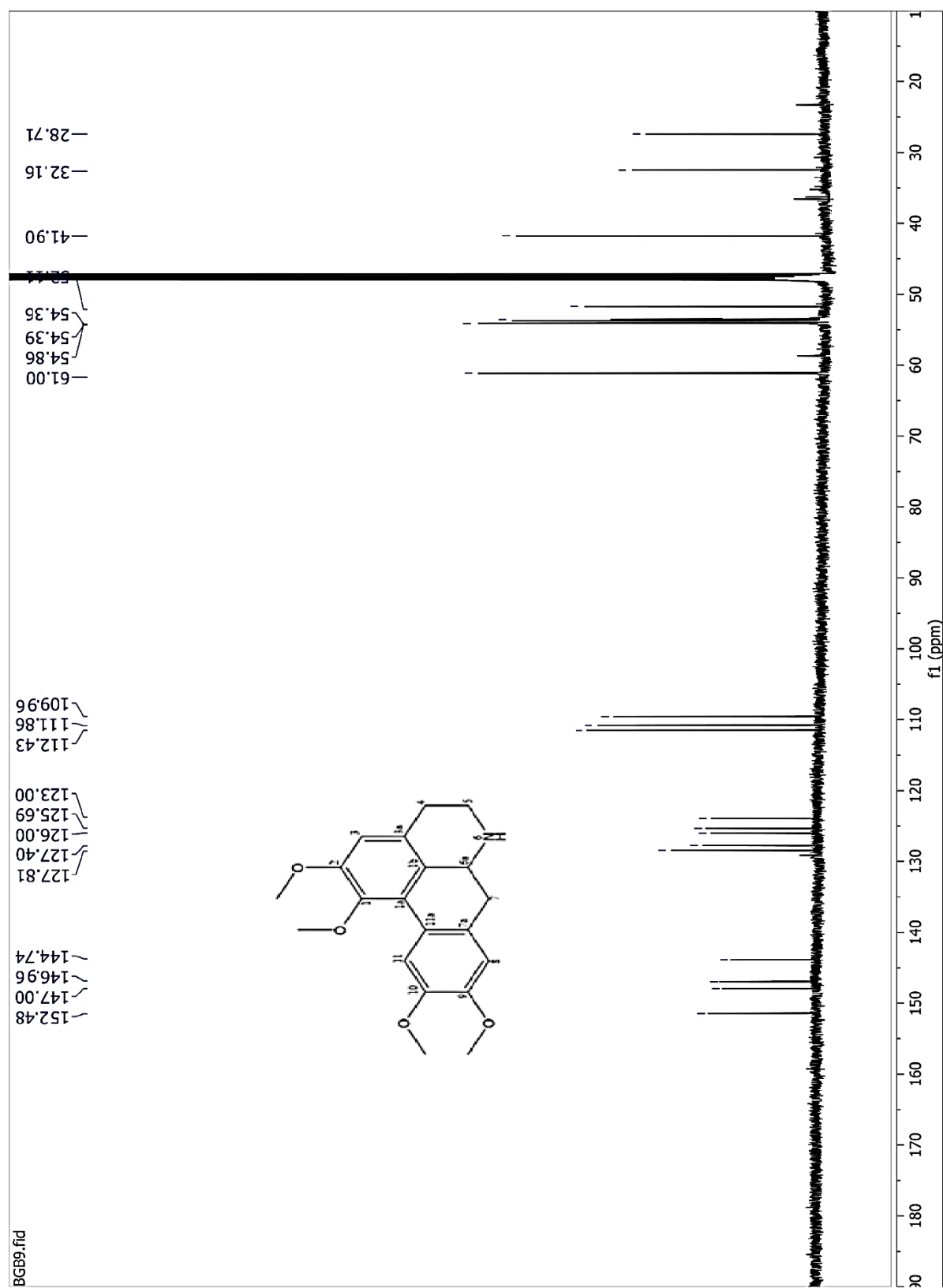
Ek-29. Glausin (BG19) bileşiğinin GC-MS spektrumu



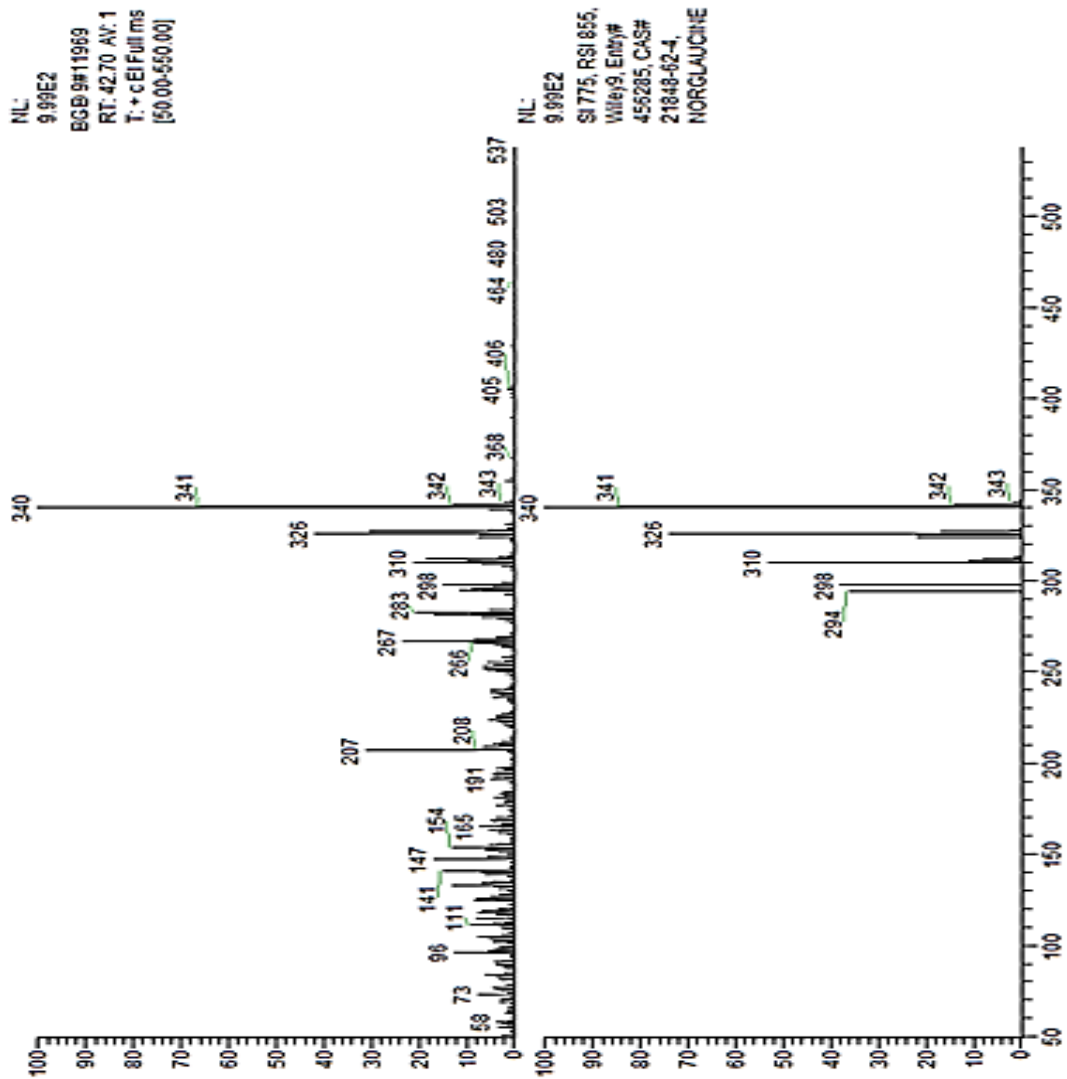
Ek-30. Norglausin (BGB9) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu



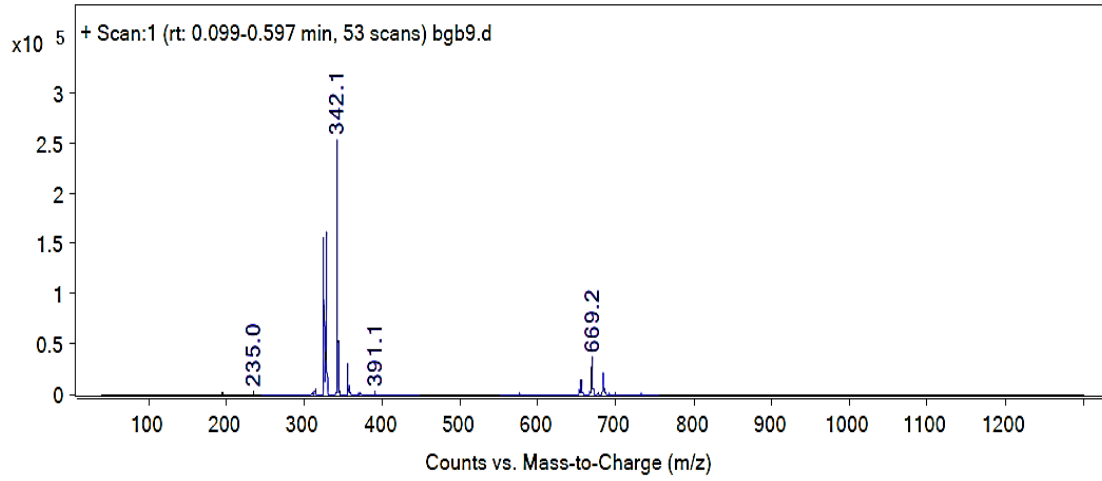
Ek-31. Norglausin (BGB9) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



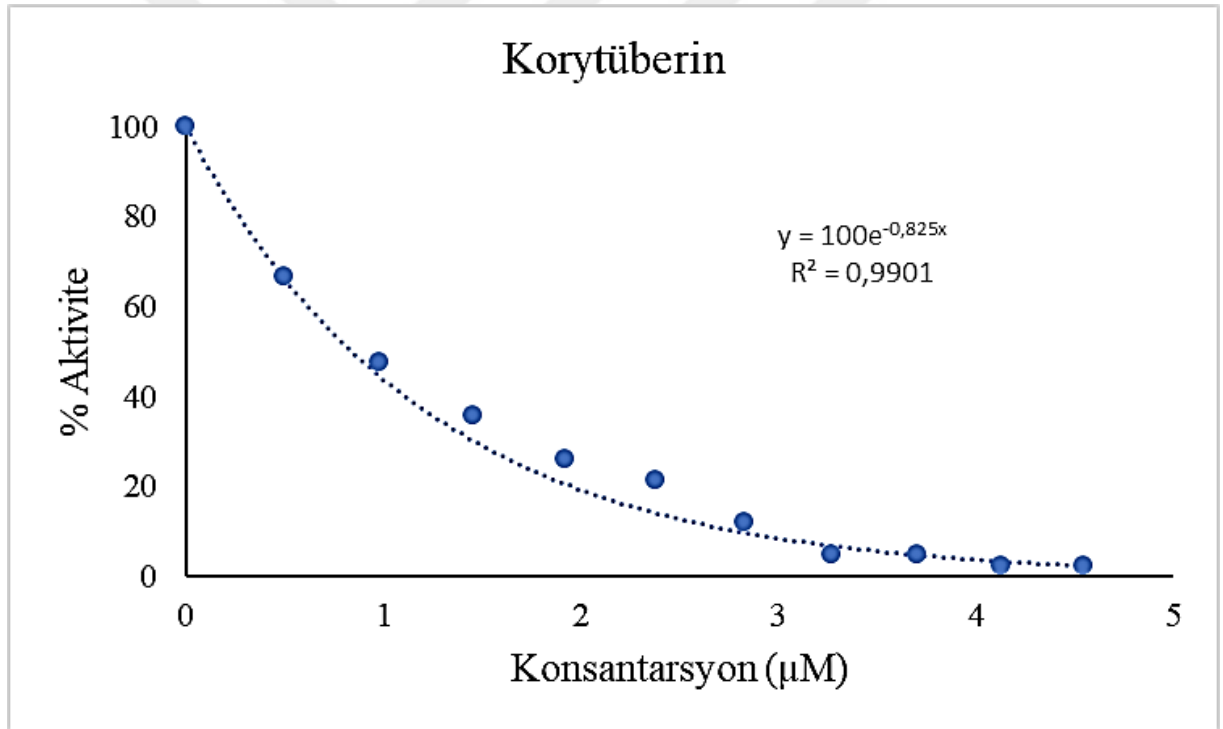
Ek-32. Norglausin (BGB9) bileşğinin GC-MS spektrumu



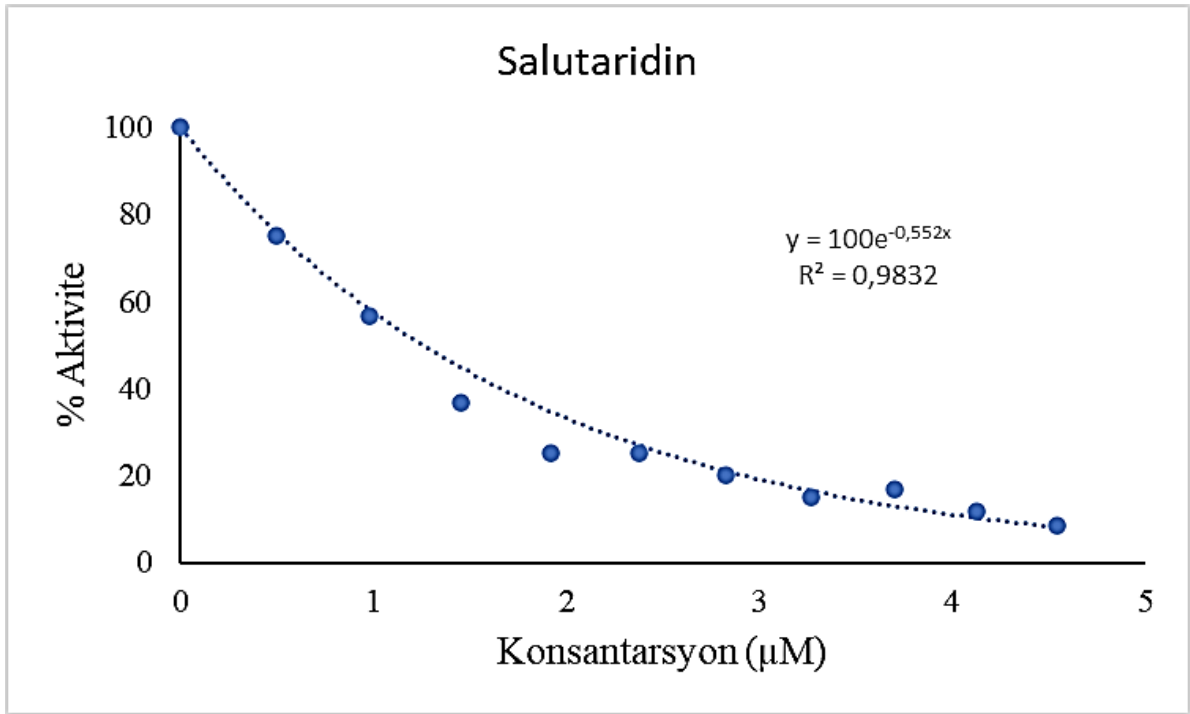
Ek-33. Norglausin (BGB9) bileşiminin LC-MS spektrumu



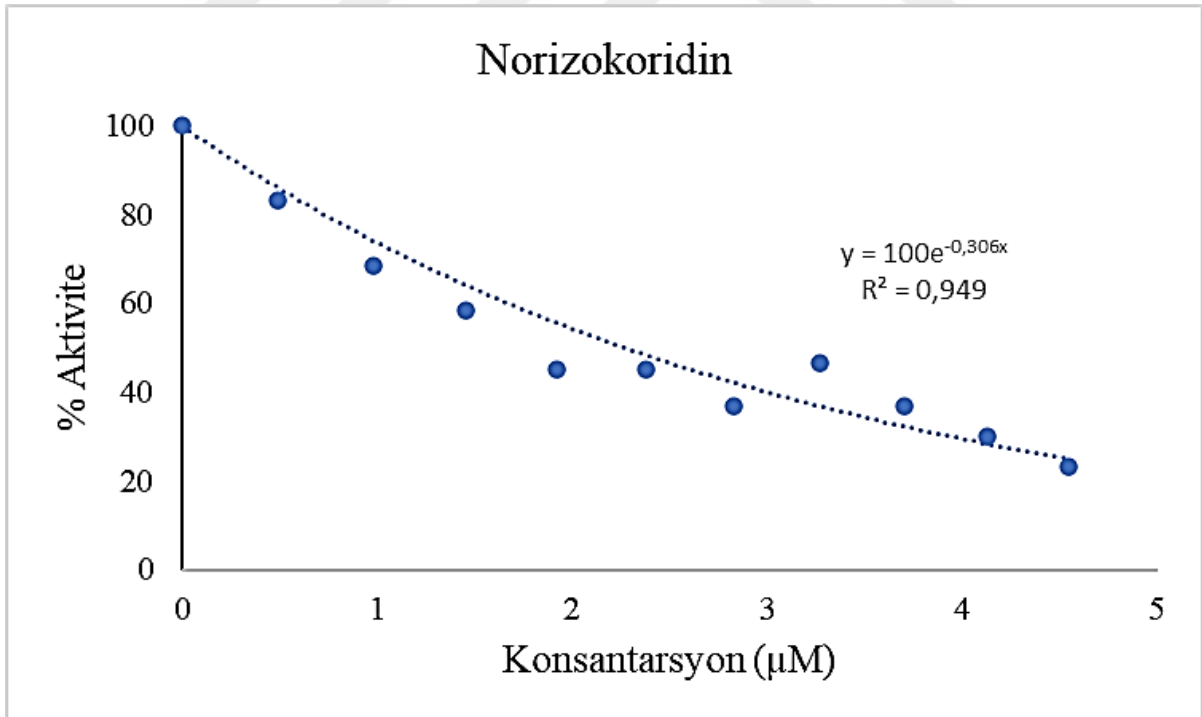
Ek-34. Korytüberin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



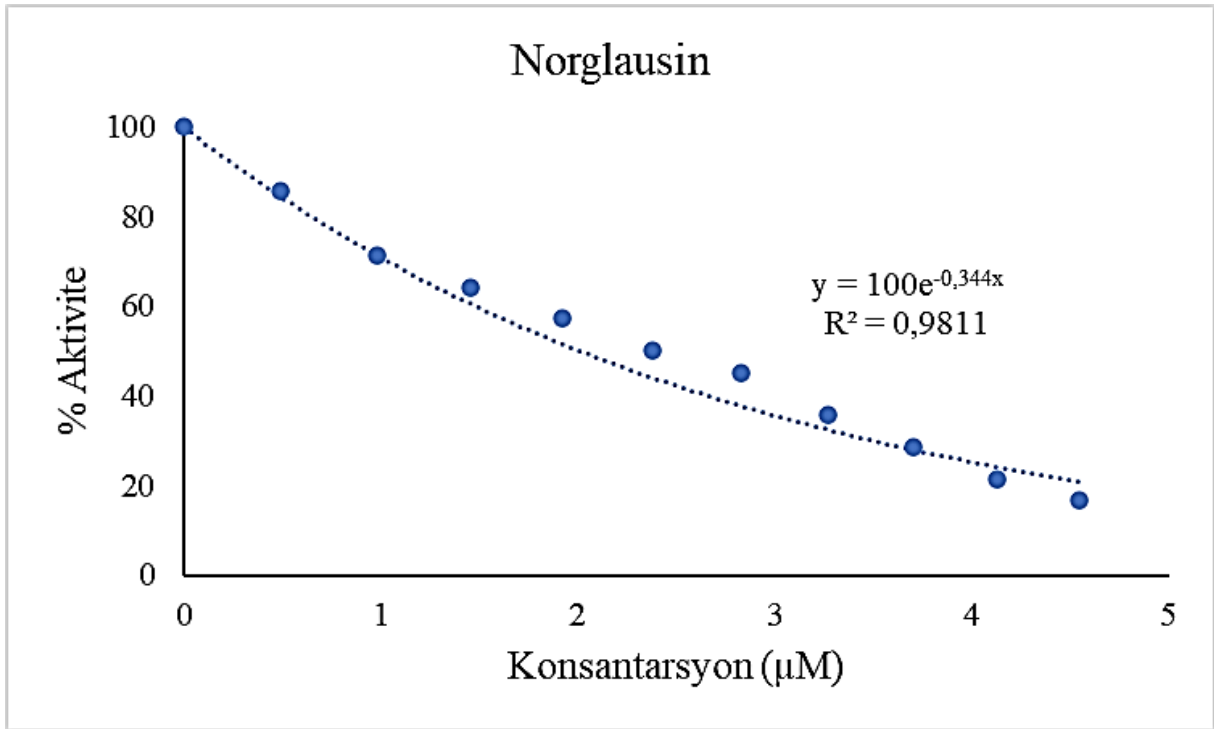
Ek-35. Salutaridin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



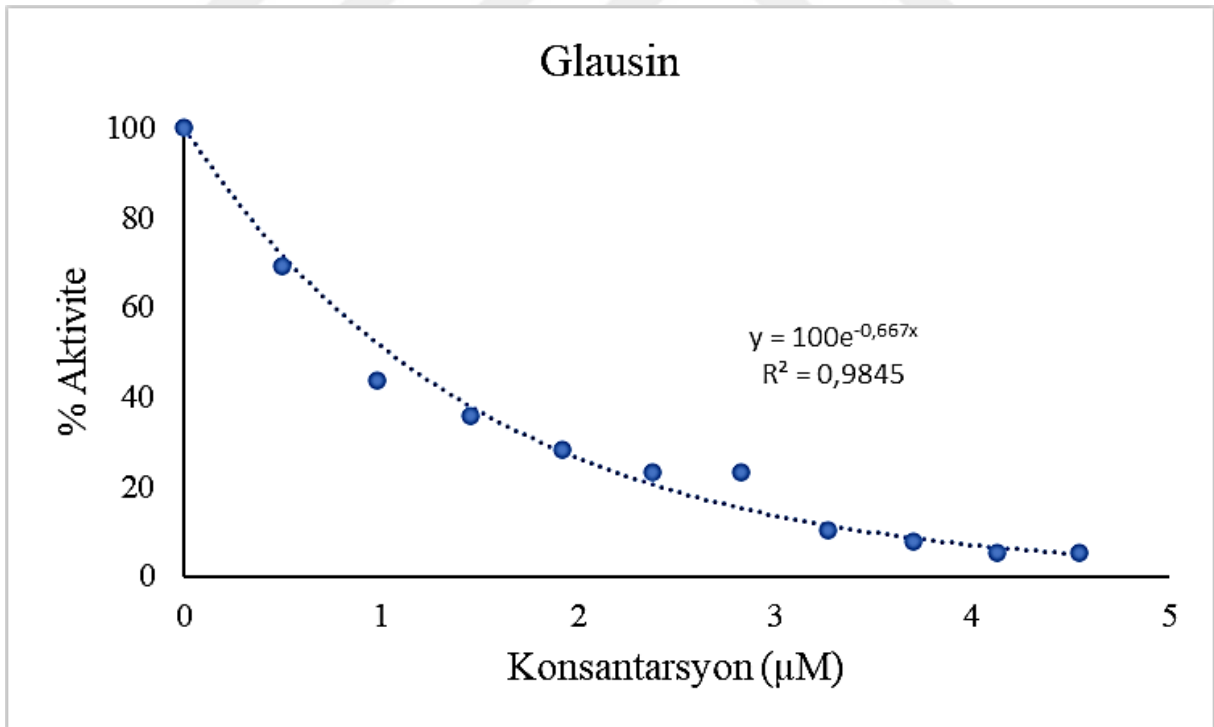
Ek-36. Norizokoridin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



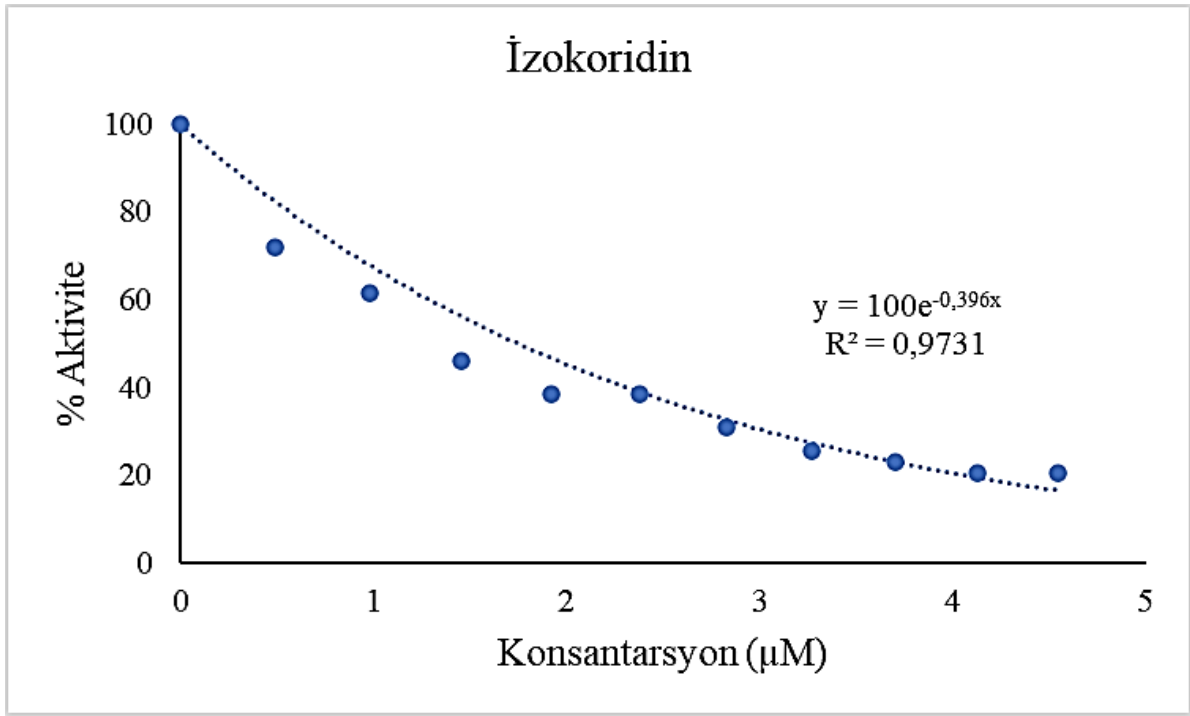
Ek-37. Norglausin moleküllüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



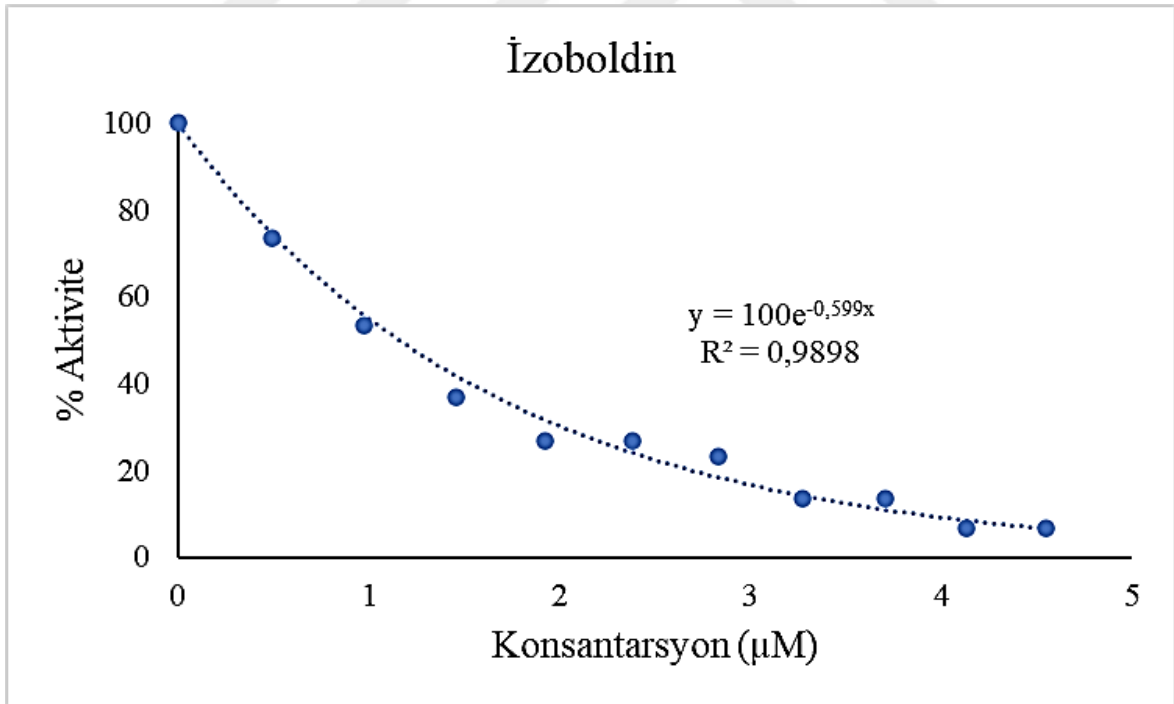
Ek-38. Glausin moleküllüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



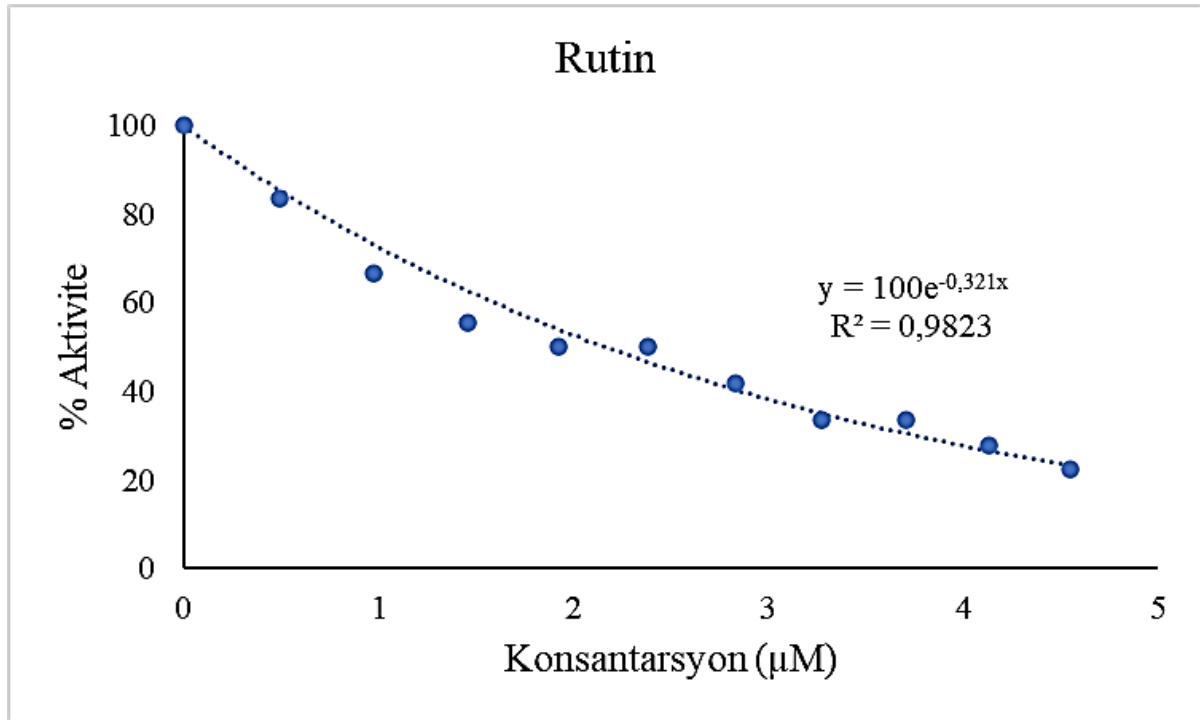
Ek-39. İzokoridin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



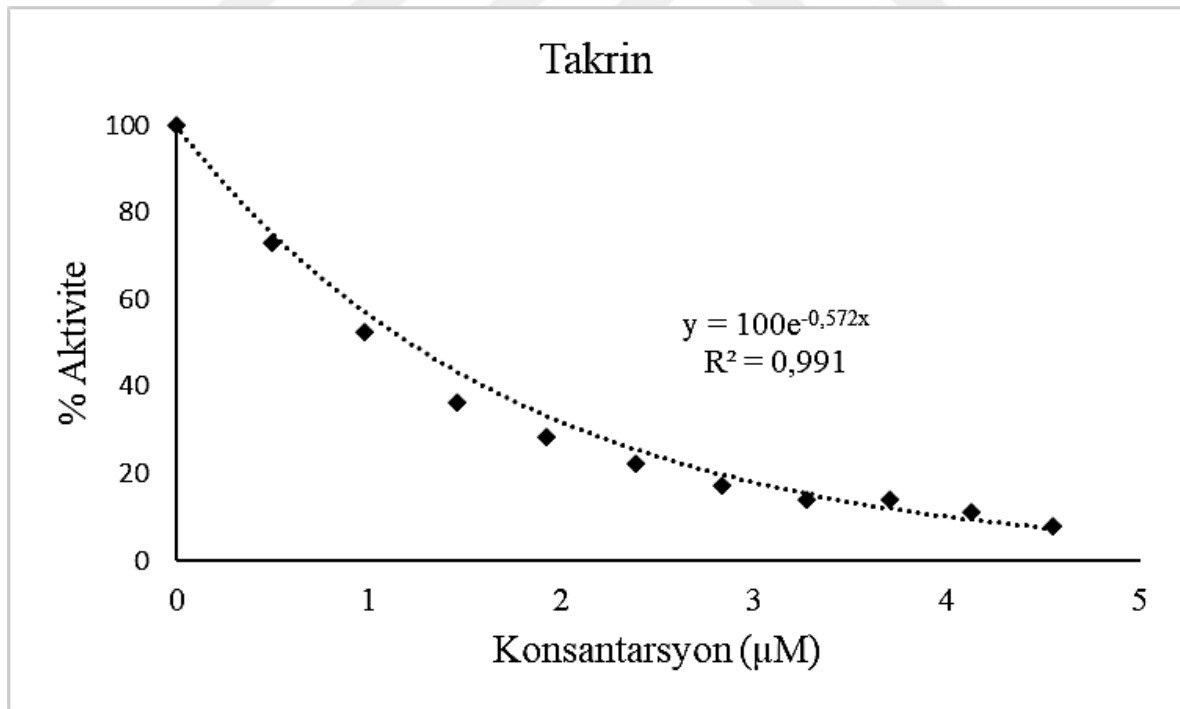
Ek-40. İzoboldin molekülüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



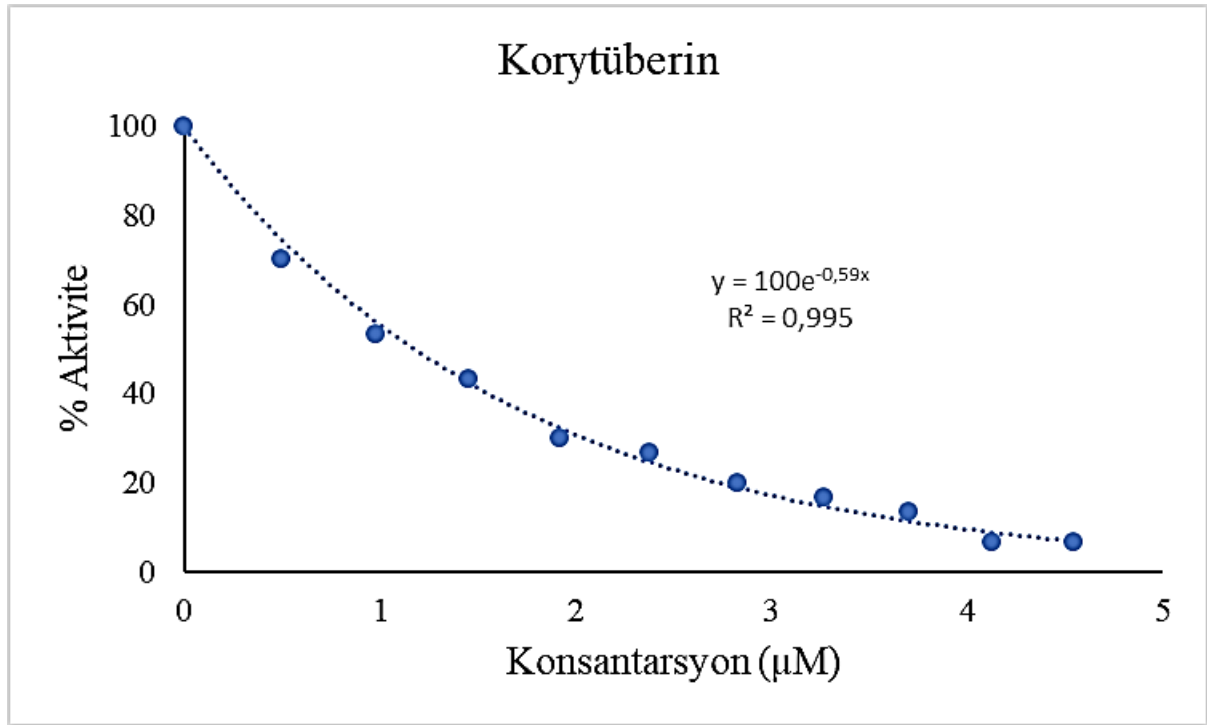
Ek-41. Rutin moleküllüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



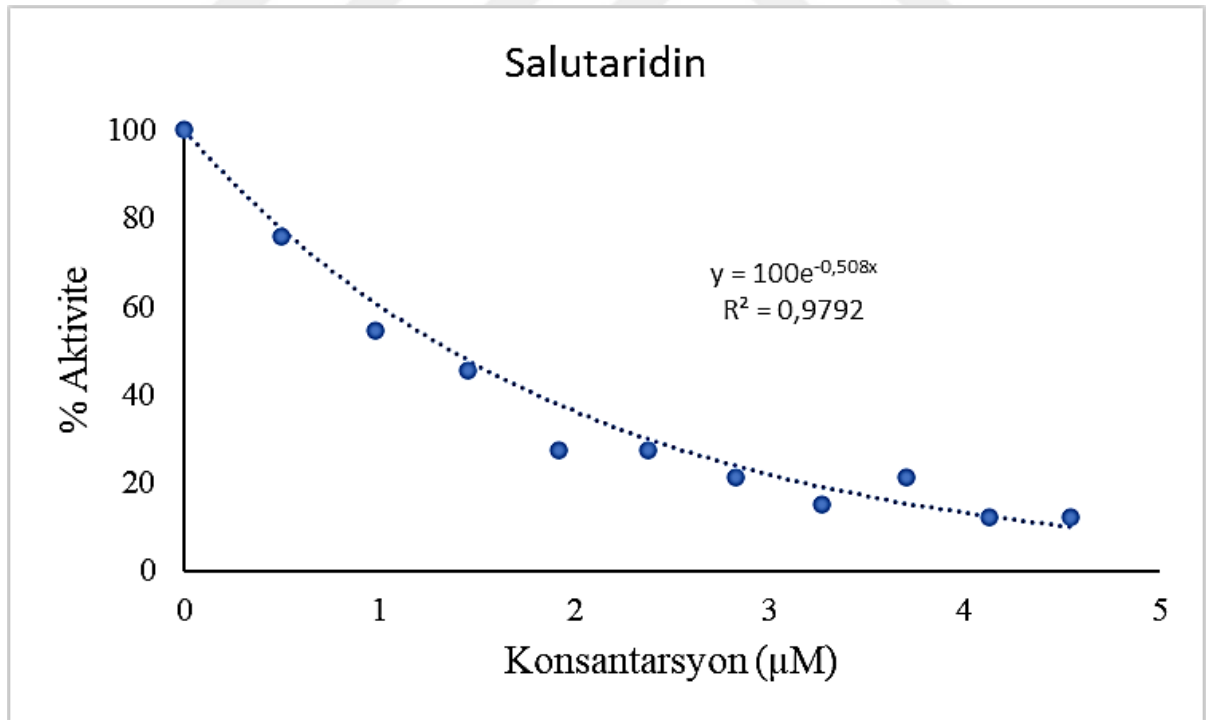
Ek-42. Takrin moleküllüne ait AChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



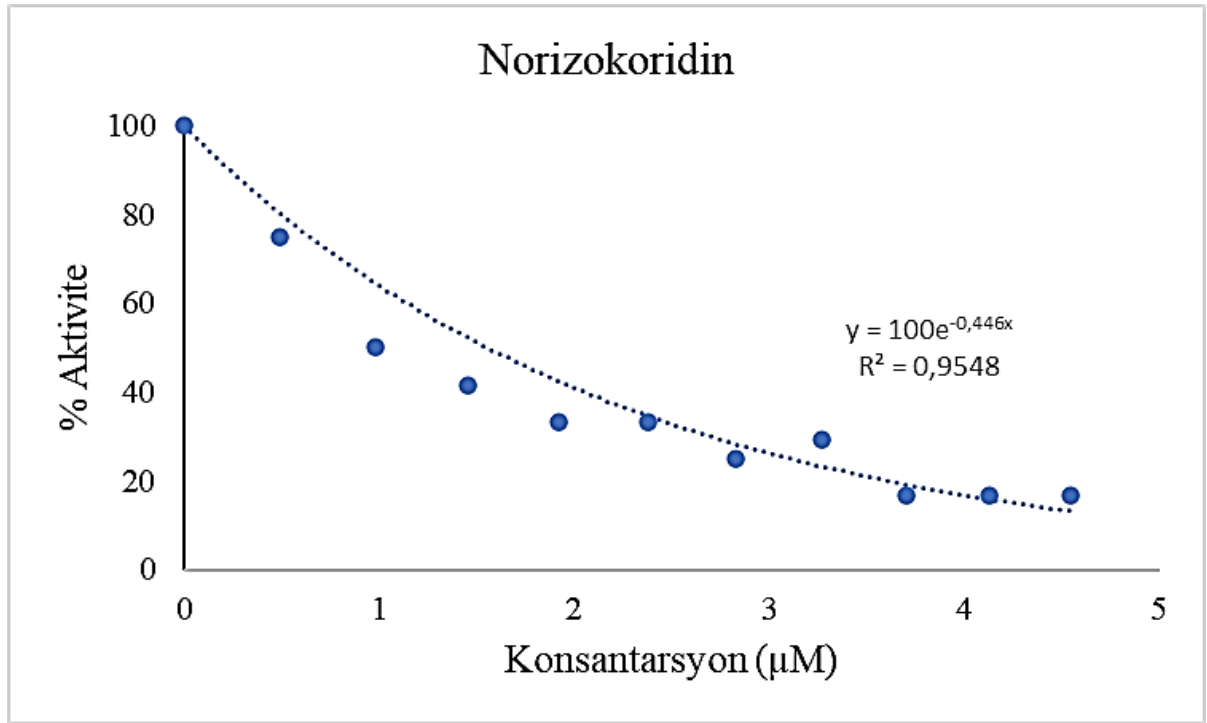
Ek-43. Korytüberin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



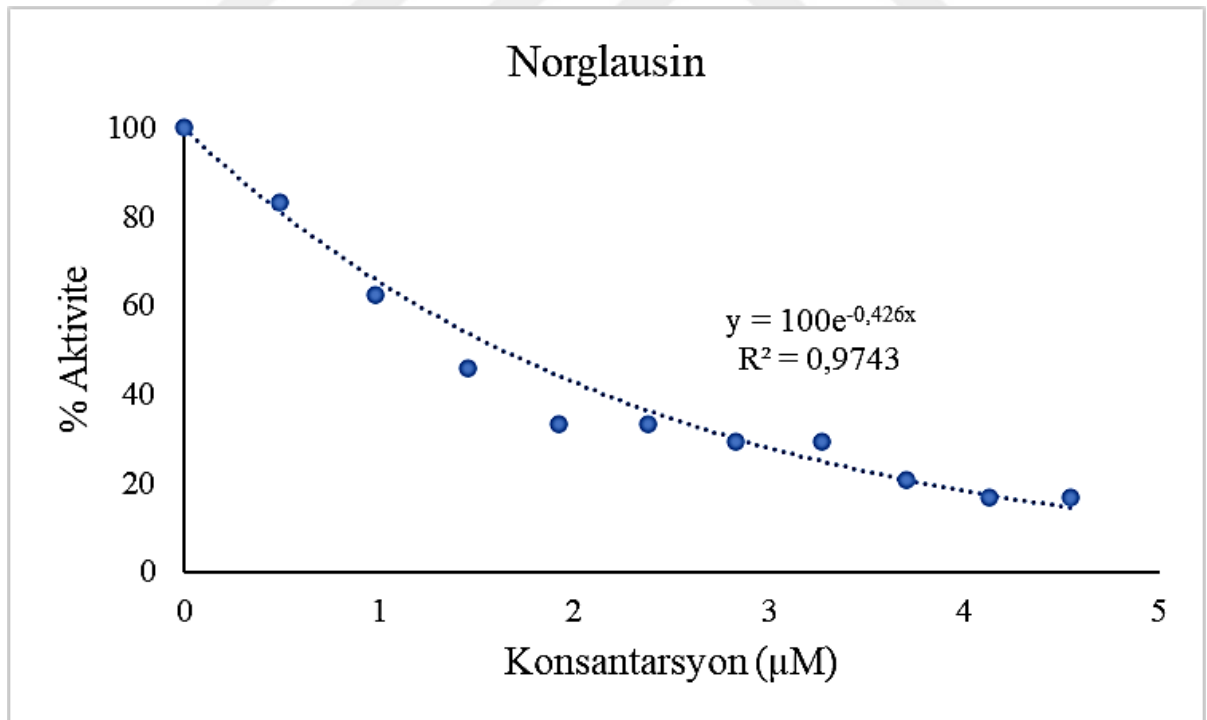
Ek-44. Salutaridin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



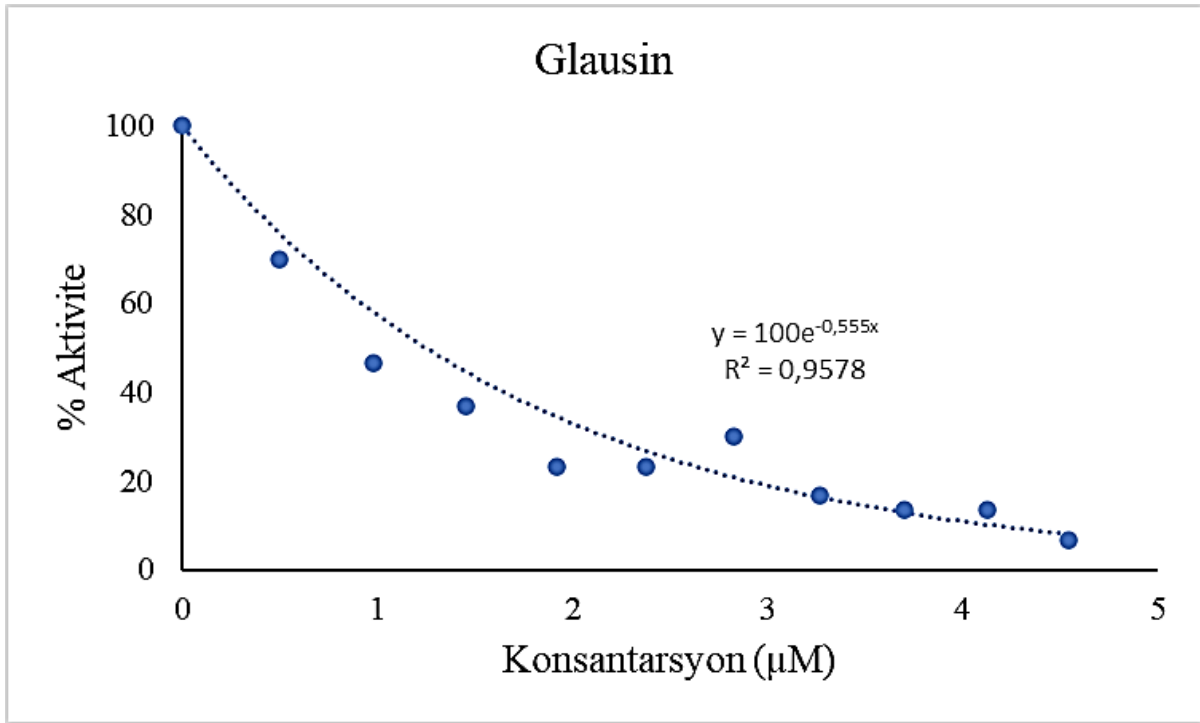
Ek-45. Norizokoridin moleküllüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



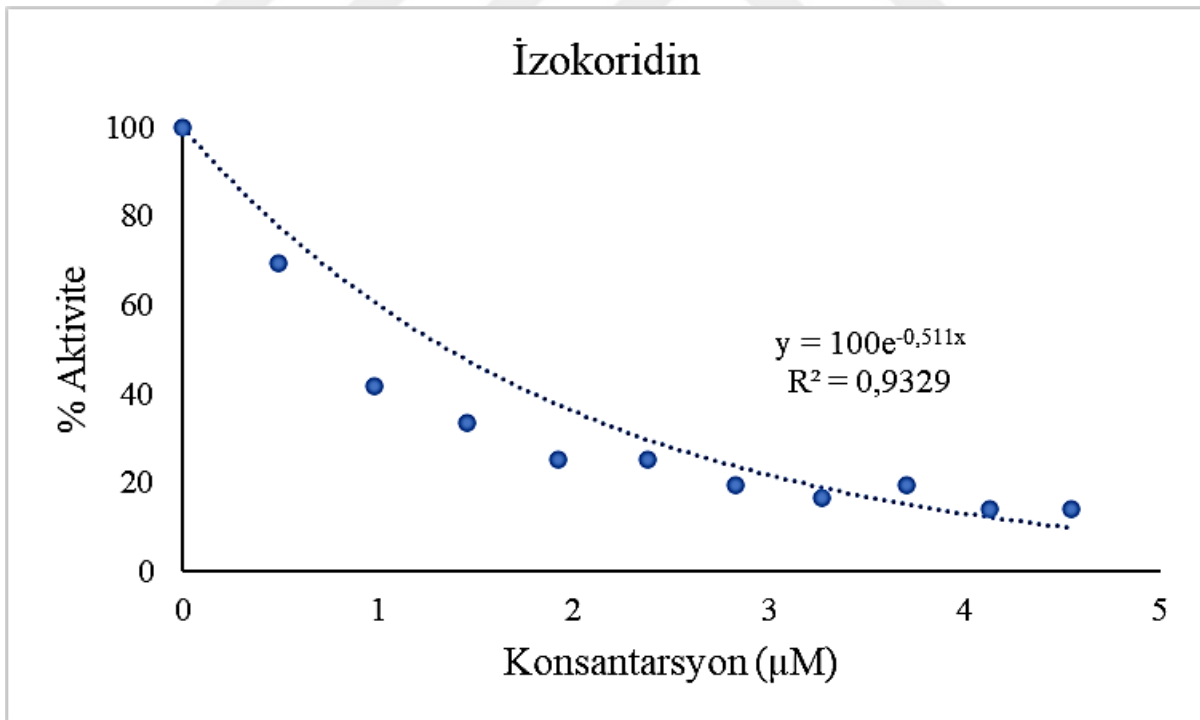
Ek-46. Norglausin moleküllüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



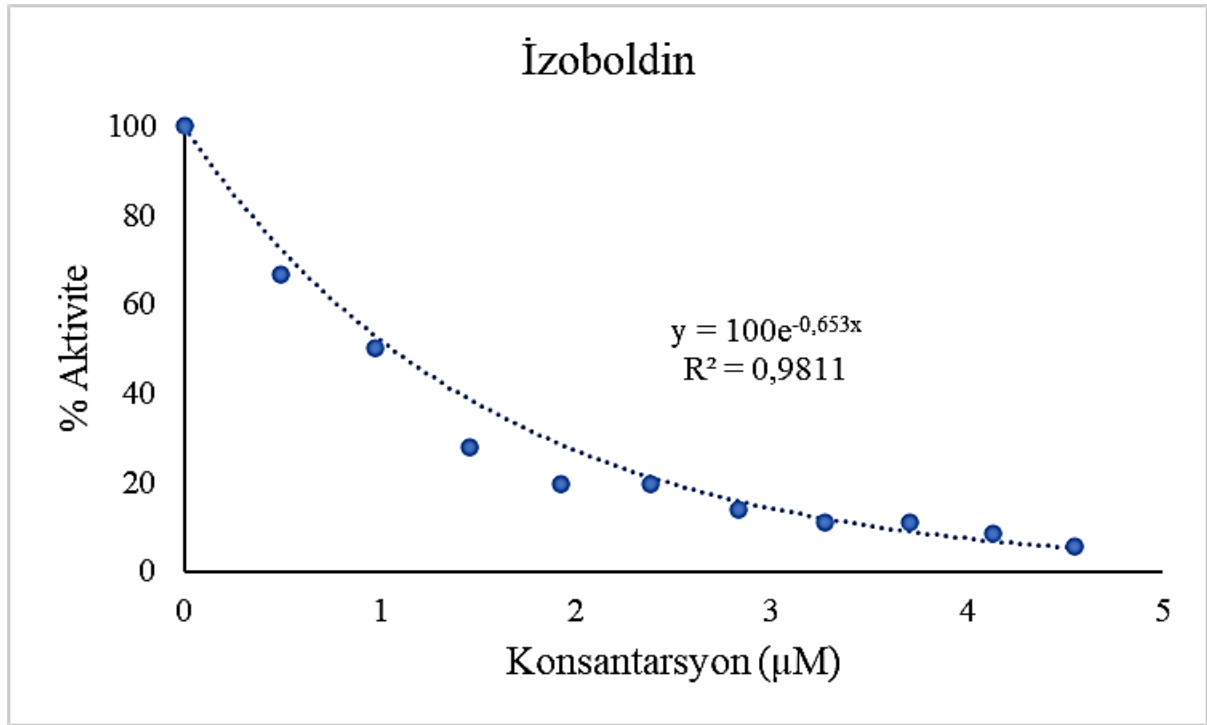
Ek-47. Glausin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



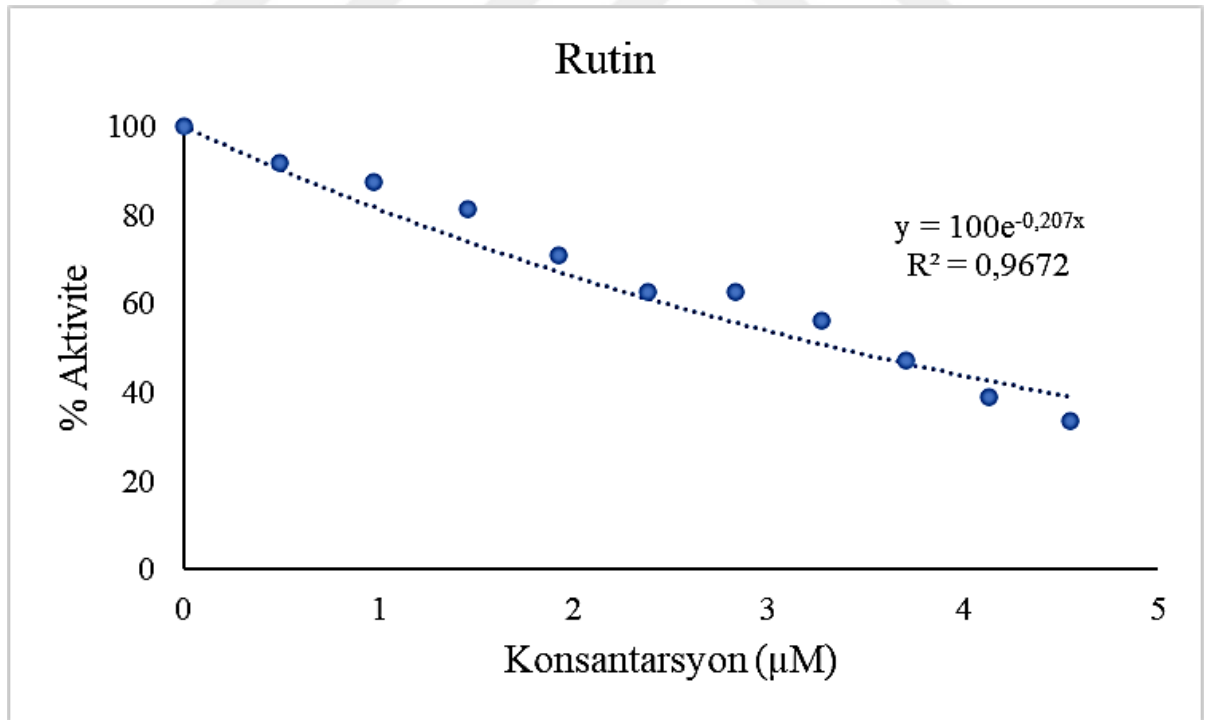
Ek-48. İzokoridin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



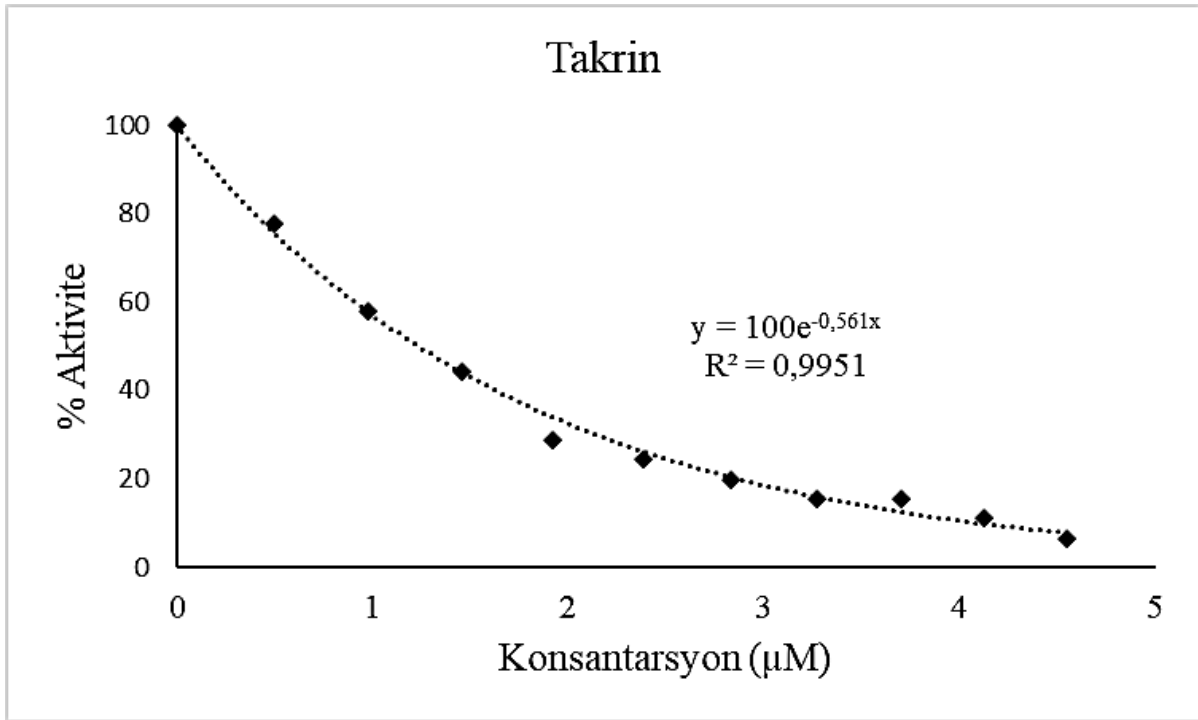
Ek-49. İzoboldin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



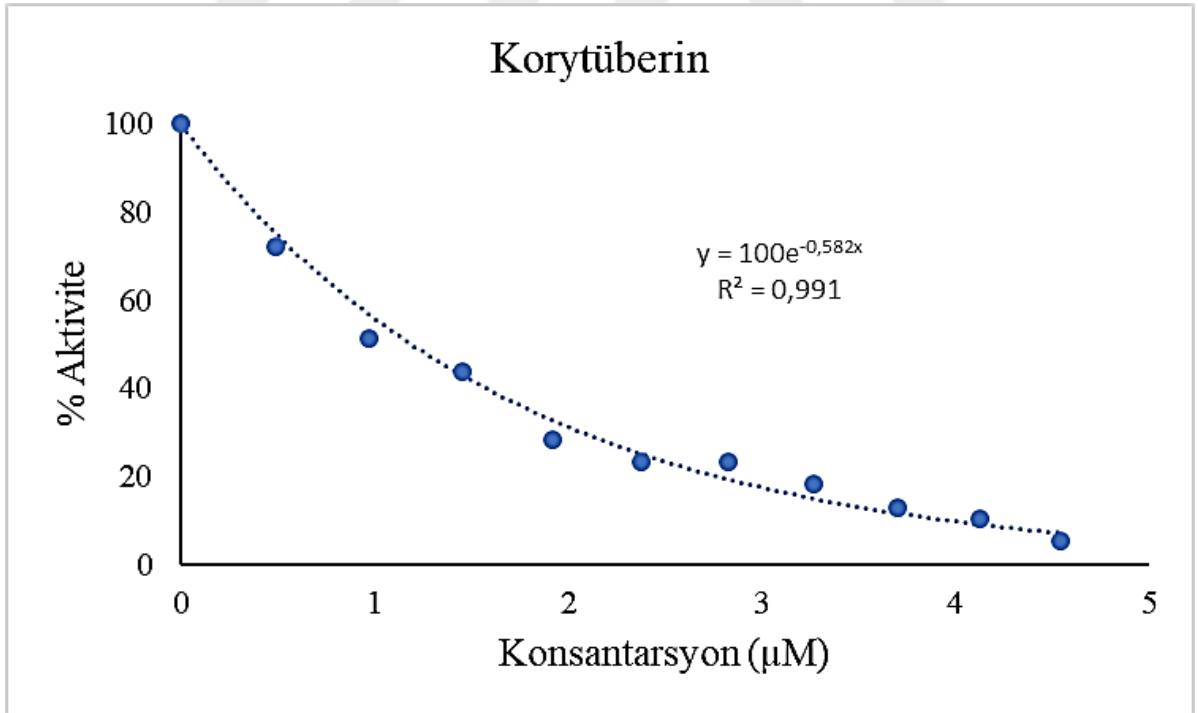
Ek-50. Rutin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



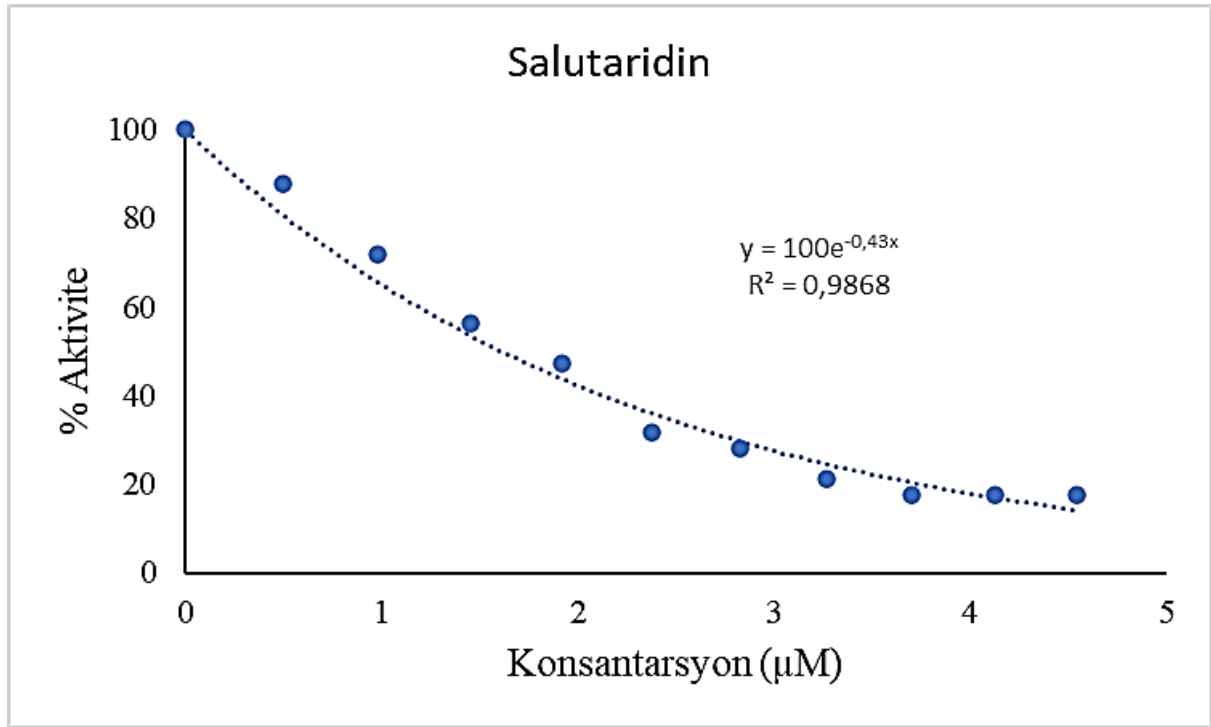
Ek-51. Takrin molekülüne ait BChE %aktivite-konsantrasyon grafiği



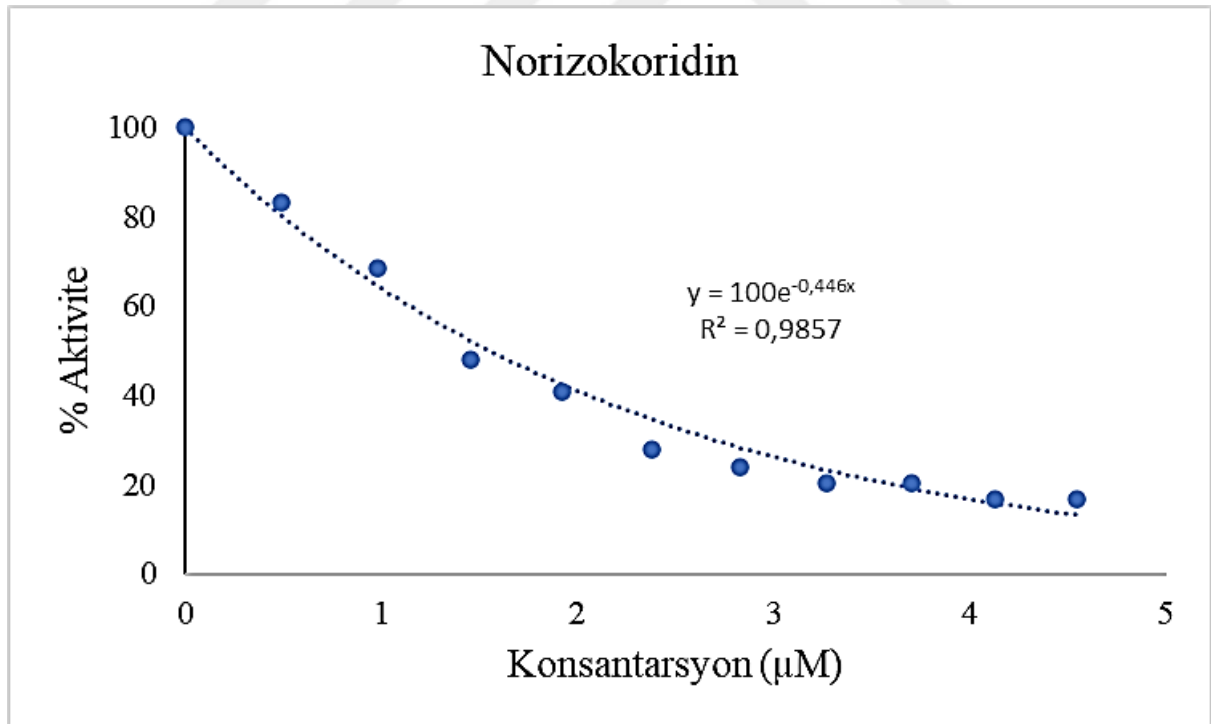
Ek-52. Korytüberine ait α -glukozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



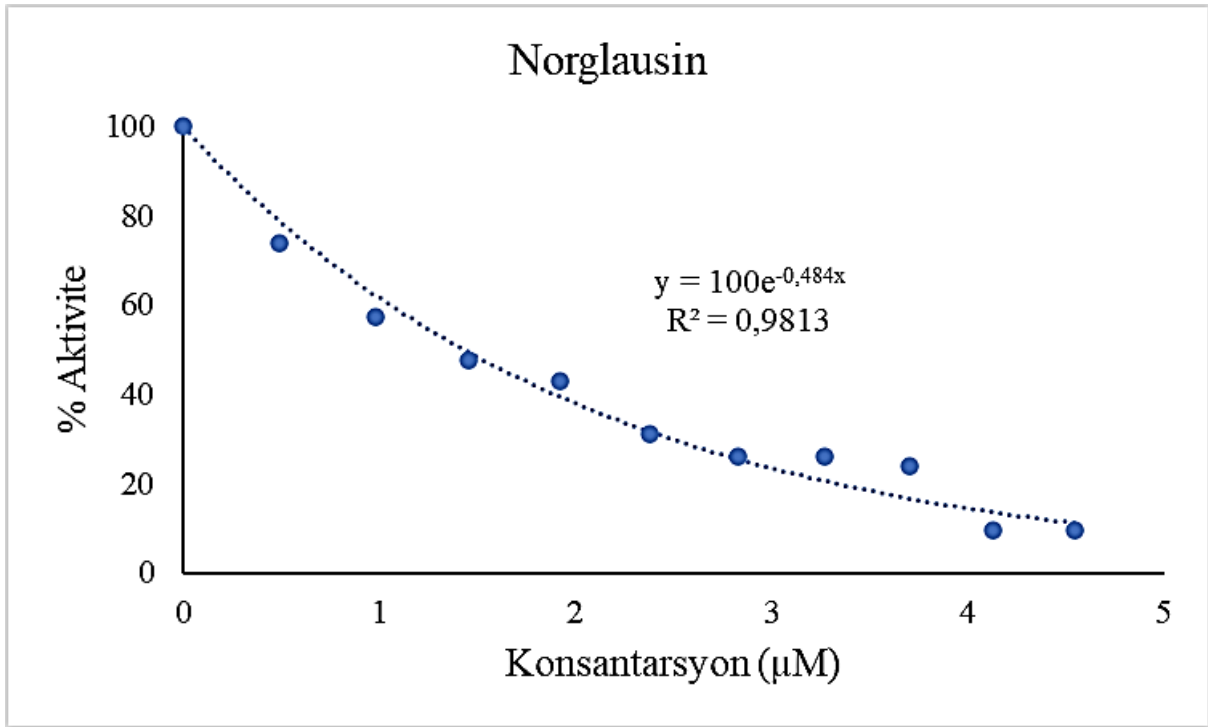
Ek-53. Salutaridine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



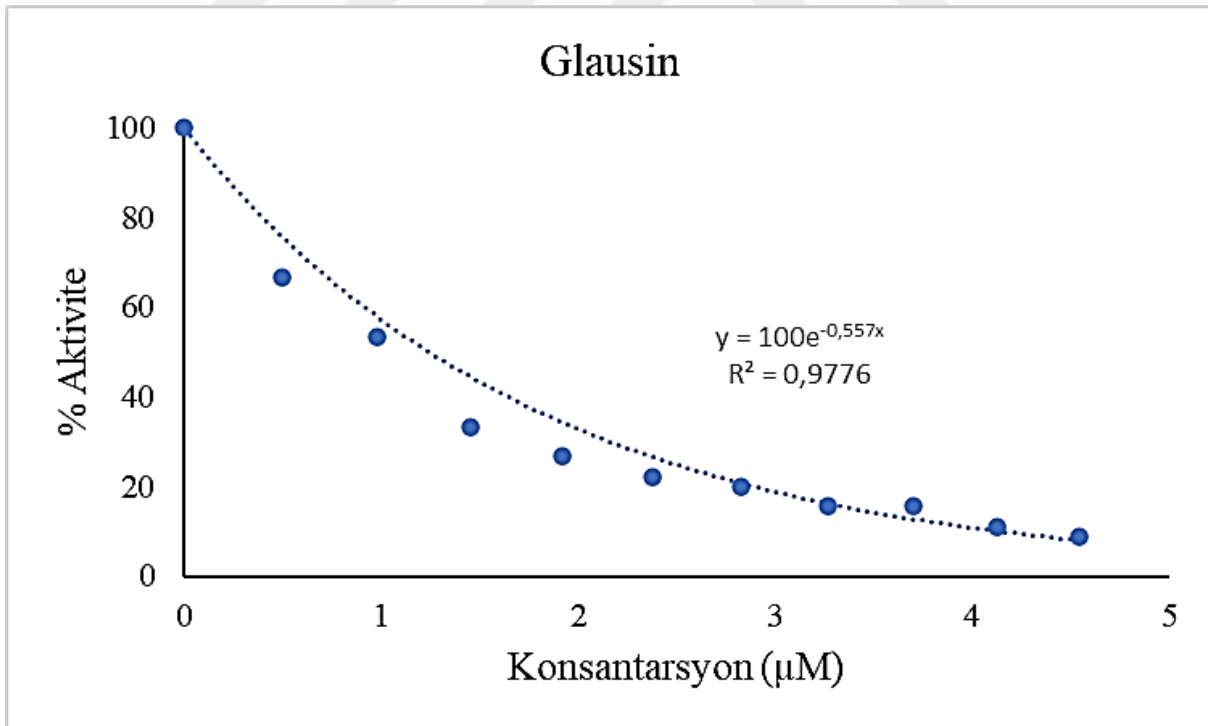
Ek-54. Norizokoridine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



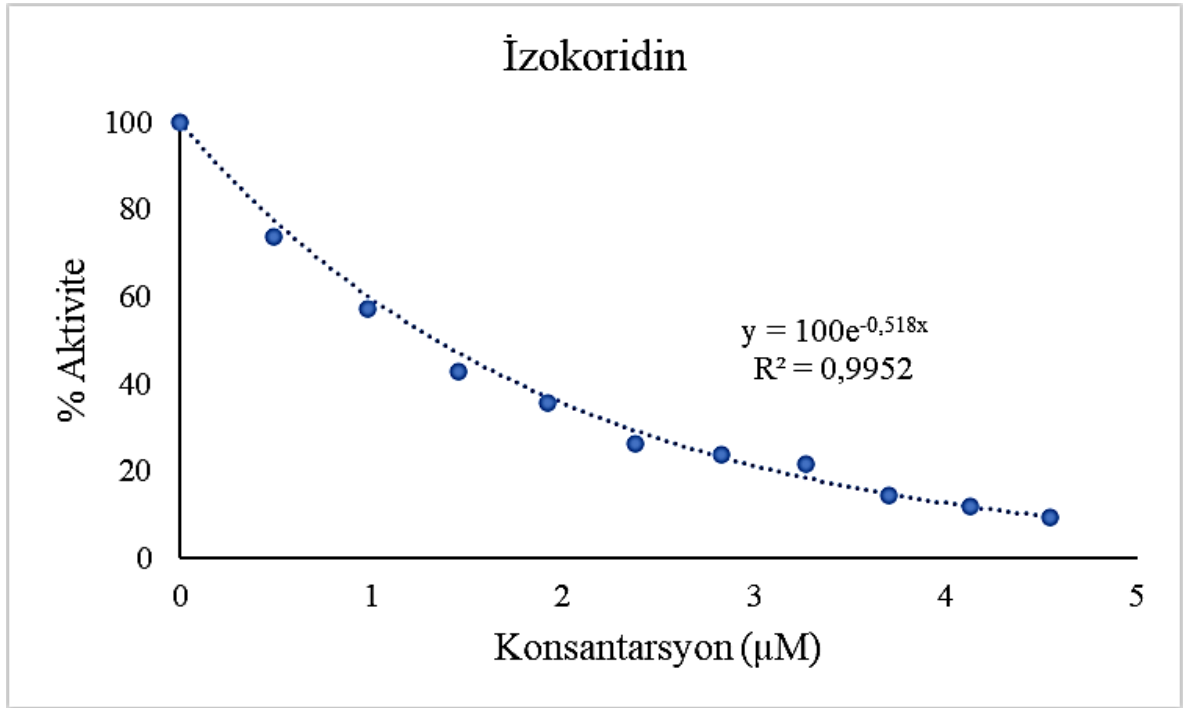
Ek-55. Norglausine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



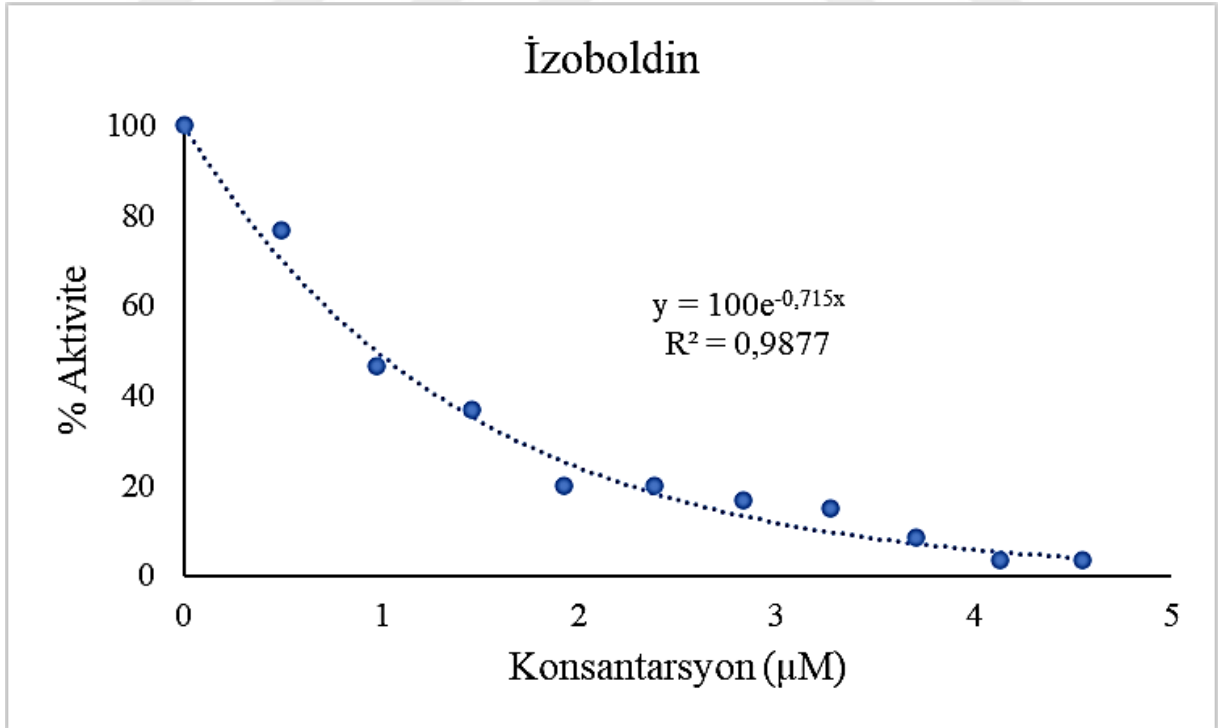
Ek-56. Glausine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



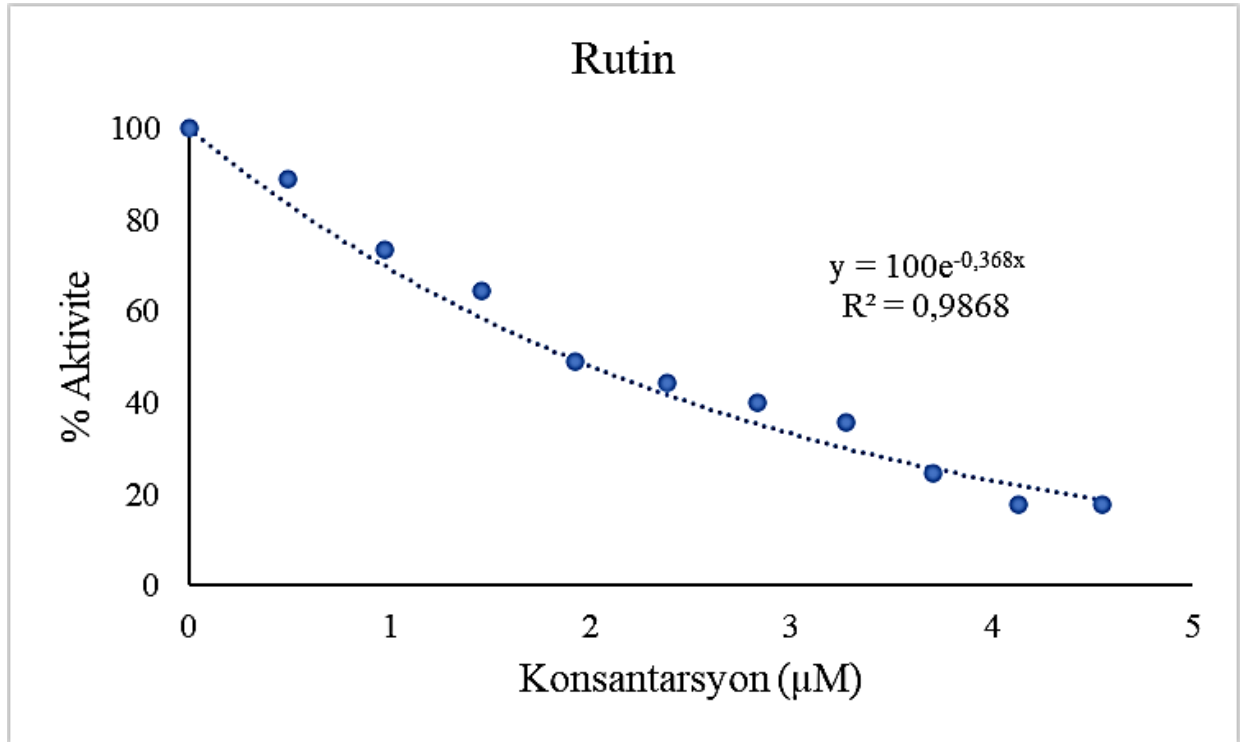
Ek-57. İzokoridine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



Ek-58. İzoboldine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



Ek-59. Rutine ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği



Ek-60. Akarboza ait α -glikozidaz enzimi için %aktivite-konsantrasyon grafiği

