



***PISTACIA* L. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN
FİTOKOZMETİK ALANDA POTANSİYEL
KULLANIMLARININ FARMAKOĞNOZİK
AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Doktora Tezi

Burak TEMİZ

Eskişehir 2025

**PISTACIA L. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLEİN FİTOKOZMETİK ALANDA
POTANSİYEL KULLANIMLARININ FARMAKOGNOZİK AÇIDAN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Burak TEMİZ

DOKTORA TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hale Gamze AĞALAR

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Haziran 2025

Eskişehir

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 2208S152 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Burak Temiz'in "*Pistacia L. Cinsine Ait Bazı Türlerin Fitokozmetik Alanda Potansiyel Kullanımlarının Farmakognozik Açıdan Değerlendirilmesi*" başlıklı tezi .././2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognози Anabilim dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Unvanı Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Doç. Dr. Hale Gamze AĞALAR

Üye : Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ

Üye : Prof. Dr. Gökalp İŞCAN

Üye : Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN

Üye : Prof. Dr. Müberra KOŞAR

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

PISTACIA L. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN FİTOKOZMETİK ALANDA POTANSİYEL KULLANIMLARININ FARMAKOGNOZİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Burak TEMİZ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Haziran 2025

Danışman: Doç. Dr. Hale Gamze AĞALAR

Ülkemizde yetişen *Pistacia* L. cinsine ait dört türün (*P. atlantica*, *P. lentiscus*, *P. terebinthus* ve *P. vera*) yapraklarından sıralı maserasyon ile farklı polaritede (*n*-hekzan, etil asetat, metanol su) ekstreler hazırlanmıştır. Ön çalışmalarda antioksidan aktivite DPPH ve ABTS⁺ radikal süpürücü etkinlik ve bakır (II) indirgeme kuvveti ile incelenmiştir. Kozmetikte kullanım potansiyellerini değerlendirmek için tirozinaz, elastaz ve kolajenaz üzerine olan inhibitör etkiler araştırılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde *P. terebinthus* metanol ekstresi tirozinaz ve elastaz üzerine, diğer türlere ait ekstrelerle karşılaştırıldığında daha kuvvetli inhibisyon gösterdiği için izolasyon çalışmalarına bu tür üzerinden devam edilmiştir. Poliamit dolgulu kolon ile fraksiyonlama çalışmaları sonucunda sekiz adet fraksiyon elde edilmiş ve YPSK-KS/KS ile kimyasal içerikleri belirlenmiştir. Toplamda 63 adet bileşik, standart madde kullanılarak ya da tentatif olarak *Pistacia* türlerine ait yapraklarda tanımlanmıştır. *In vitro* tirozinaz ve elastaz inhibisyonları tekrarlanmış ve etkinin ana ekstreya göre düştüğü gözlemlenmiştir. Bu sebeple etkili fraksiyonlar arasında sinerji çalışmaları gerçekleştirilmiş ve Chou-Talalay yöntemi ile Kombinasyon İndeksleri hesaplanmıştır. Tirozinaz üzerine F, G ve H fraksiyonları arasında kuvvetli sinerjik etkiler gözlemlenmiş ve etkiden sorumlu bileşikler YPİTK-EYA tekniği ile belirlenmiştir. İnhibitör özellikteki bantlar plak üzerinden izole edilerek YPSK-KS/KS ve NMR ile yapı tayini çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Tirozinaz inhibisyonundan doğrudan sorumlu bileşikler metil gallat, 3,5-di-*O*-galloilkinik asit, 3,4-di-*O*-galloilkinik asit ve mirsetin-3-*O*-(3"-*O*-galloil) ramnozit olarak tanımlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Pistacia* L., fitokozmetik, YPSK-KS/KS, sinerji, YPİTK-EYA.

ABSTRACT

PHARMACOGNOSTIC EVALUATION OF THE POTENTIAL PHYTOCOSMETIC APPLICATIONS OF SOME *PISTACIA* L. SPECIES

Burak TEMİZ

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School, June 2025

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Hale Gamze AGALAR

Extracts of differing polarity (*n*-hexane, ethyl acetate, methanol, and water) were obtained by sequential maceration from the leaves of four *Pistacia* L. species grown in Türkiye (*P. atlantica*, *P. lentiscus*, *P. terebinthus*, and *P. vera*). In preliminary studies, antioxidant activity was investigated with DPPH and ABTS⁺ radical scavenging activity and copper (II) reducing power. To evaluate their potential cosmetic use, inhibitory effects on tyrosinase, elastase and collagenase were evaluated. LC–MS/MS analyses were performed on the bioactive methanol extracts. The methanol extract of *P. terebinthus* displayed the strongest tyrosinase and elastase inhibition relative to the other species; therefore, subsequent isolation work focused on this extract. Fractionation on a polyamide-packed column yielded eight fractions and their chemical contents were determined with LC-MS/MS. Totally 63 compounds were identified by using standard compound or tentatively in the leaves of *Pistacia* species. *In vitro* tyrosinase and elastase inhibition was repeated and it was observed that the effect decreased when compared to mother extract. Therefore, synergy studies were performed between effective fractions and Combination Indexes were calculated by Chou-Talalay method. Strong synergistic effects were observed between fraction F, G and H on tyrosinase and the compounds responsible for the effect were investigated by High Performance Thin Layer Chromatography-Effect Directed Analysis (HPTLC-EDA) technique. Inhibitory bands were isolated from the plate and identified by LC-MS/MS. The compounds directly responsible for tyrosinase inhibition were found to be methyl gallate, 3,5-di-*O*-galloylquinic acid, 3,4-di-*O*-galloylquinic acid and myricetin-3-*O*-(3"-*O*-galloyl) rhamnoside.

Keywords: *Pistacia* L., phytocosmetics, LC-MS/MS, synergy, HPTLC-EDA.

TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca her anımda yanımda olan, bilgi ve tecrübelerini daima benimle paylaşan, akademik yolda bana cesaret veren, vizyonu ve misyonu ile ve her şeyden öte insanlığı ile bana yol gösteren çok sevgili danışman hocam Doç. Dr. Hale Gamze AĞALAR'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Bitkisel materyallerin teşhisinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE hocama, fraksiyonlama çalışmalarında bilgi ve tecrübeleri ile yardımları için Prof. Dr. Hasan KIRMIZIBEKMEZ hocama teşekkür ederim.

NMR analizlerinde imkanlarını sunan Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezine (AÜBİBAM) ve Dr. Süleyman YUR'a teşekkür ederim.

Bilimsel ve deneysel anlamda tüm imkanlarını sunan Farmakognozi Anabilim Dalı ailesine, tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederim.

Doktora eğitimimin bir döneminde 'Pandemi Özel Çağrısı' kapsamında 100/2000 doktora burs desteği dolayısıyla Yükseköğretim Kuruluna teşekkür ederim.

Tez sürecimdeki desteklerinden dolayı sevgili Beğüm ÇATALKAYA'ya teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca beni daima destekleyen ve cesaretlendiren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Burak TEMİZ

ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında, yürütülmesinde, verilerin analizinde Etik Kurul İzni'ne gerek yoktur.

Burak TEMİZ



ÜRETKEN YAPAY ZEKA KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken üretken yapay zeka programlarından destek almadığımı beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Burak TEMİZ

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ	vii
ÜRETKEN YAPAY ZEKA KULLANIM BEYANI	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
GÖRSELLER DİZİNİ	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER	3
2.1 Anacardiaceae Familyası Genel Özellikleri (Davis vd., 1967)	3
2.1.1 Anacardiaceae familyası cins anahtarı (Davis vd., 1967).....	3
2.2 <i>Pistacia</i> L. Cinsi Genel Özellikleri (Davis vd., 1967).....	3
2.2.1 <i>Pistacia</i> cinsine ait tür anahtarı (Davis vd., 1967).....	3
2.3 Tez Kapsamında Araştırılan <i>Pistacia</i> Türlerinin Türkiye Florası'na Göre Deskripsiyonları (Davis vd., 1967).....	4
2.3.1 <i>P. atlantica</i> Desf. (Sin: <i>P. mutica</i> Fisch, & Mey.).....	4
2.3.2 <i>P. lentiscus</i> L.....	5
2.3.3 <i>P. palaestina</i> (sin. <i>P. terebinthus</i>) L.....	7
2.3.4 <i>P. vera</i> L.	7

2.4	<i>Pistacia</i> Türlerinde Tanımlanmış Sekonder Metabolitler.....	9
2.4.1	Flavonoitler.....	9
2.4.2	Fenolik asitler	11
2.4.3	Uçucu yağlar.....	12
2.4.4	Diğer Bileşikler.....	13
2.5	<i>Pistacia</i> L. Halk Arasında Kullanımı	14
2.6	Tezde Araştırılan <i>Pistacia</i> Türleri Üzerine Yapılan Aktivite Çalışmaları	16
2.7	Tezde Araştırılan <i>in vitro</i> Aktivitelerle İlgili Genel Bilgiler.....	26
2.7.1	Antioksidan aktivite.....	26
2.7.2	Tirozinaz enzimi.....	26
2.7.3	Elastaz enzimi.....	27
2.7.4	Kolajenaz enzimi.....	28
2.8	Deri Yaşlanmasının Patofizyolojisi.....	29
3.	YÖNTEM.....	32
3.1.	Bitkisel Materyal	32
3.2.	Kullanılan Aletler.....	33
3.3.	Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	34
3.4.	Ekstraksiyon İşlemleri.....	35
3.4.1	Ön çalışmalar için gerçekleştirilen ekstraksiyon	35
3.4.2	İzolasyon çalışmaları için gerçekleştirilen büyük ölçekli ekstraksiyon	36
3.5.	Ekstre ve Fraksiyonlarda Yapılan Çalışmalar.....	36
3.5.1.	Toplam fenol ve toplam flavonoit miktar tayini.....	36
3.5.2.	Antioksidan aktivite tayinleri.....	37
3.5.2.1.	<i>DPPH</i> radikal süpürücü etki.....	37
3.5.2.2.	<i>Trolaksa</i> eşdeğer total antioksidan kapasite (<i>TEAK</i>)	37
3.5.2.3.	<i>Bakır (II)</i> indirgeyici antioksidan aktivite (<i>CUPRAC</i>).....	38

3.5.3. <i>In vitro</i> enzim deneyleri.....	38
3.5.3.1. <i>Tirozinaz enzim inhibisyonu</i>	38
3.5.3.2. <i>Elastaz enzim inhibisyonu</i>	39
3.5.3.3. <i>Kolajenaz enzim inhibisyonu</i>	39
3.6 Kombinasyon Çalışmaları.....	40
3.6.1 Sinerji analizi.....	40
3.7 Fitokimyasal Çalışmalar.....	40
3.7.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (YPSK-KS/KS).....	40
3.7.2 Kolon Kromatografisi.....	41
3.7.2.1 <i>Poliamit kolon kromatografisi</i>	41
3.7.3 İnce Tabaka Kromatografisi (İTK).....	42
3.7.4 Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK).....	43
3.8 Nükleer Manyetik Rezonans (NMR).....	45
3.9 İstatistiksel Analiz	45
4. BULGULAR VE YORUM	46
4.1 Ön Çalışmalara Ait Bulgular	46
4.1.1 Ekstre verimleri ile toplam fenol ve flavonoit miktar tayinleri	46
4.1.2 Metanol ekstrelerinin YPSK-KS/KS analizleri.....	49
4.1.3 Ekstrelerde <i>in vitro</i> aktivite tayinleri	107
4.1.3.1 <i>Antioksidan aktivite tayini</i>	107
4.1.3.2 <i>Tirozinaz İnhibisyonu</i>	109
4.1.3.3 <i>Elastaz İnhibisyonu</i>	109
4.1.3.4 <i>Kolajenaz inhibisyonu</i>	111
4.2 <i>P. terebinthus</i> Üzerinde Yapılan Aktivite Yönlendirmeli Analiz Çalışmalarına Ait Bulgular	113
4.2.1 Fraksiyonlarda kromatografik çalışmalara ait bulgular	113

4.2.1.1	<i>YPİTK Sonuçları</i>	113
4.2.1.2	<i>YPSK-KS/KS Analizleri</i>	117
4.2.2	<i>Fraksiyonların in vitro enzim inhibisyonlarına ait bulgular</i>	137
4.2.2.1	<i>Elastaz inhibisyonuna ait bulgular</i>	137
4.2.2.2	<i>Tirozinaz inhibisyonuna ait bulgular</i>	137
4.2.2.3	<i>Etkili fraksiyonlarda gerçekleştirilen kombinasyon çalışmalarına ait bulgular</i>	138
4.3	<i>YPİTK-EYA Yöntemi İle Etkiden Sorumlu Bileşiklerin İzolasyonu ve Yapı Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular</i>	143
4.3.1	<i>YPİTK-EYA sonuçlarına ait bulgular</i>	143
4.3.2	<i>Preparatif İTK ile bileşiklerin izolasyonu</i>	145
4.3.3	<i>Etkili bileşiklere ait spektrometrik analizler</i>	146
4.3.3.1	<i>F1 kodlu maddeye ait yapı tayini bulguları</i>	146
4.3.3.2	<i>G1 kodlu maddeye ait yapı tayini bulguları</i>	153
4.3.3.3	<i>H1 kodlu maddeye ait yapı tayini bulguları</i>	158
4.3.3.4	<i>H2 kodlu maddeye ait yapı tayini bulguları</i>	162
5	<i>SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER</i>	168
	<i>KAYNAKÇA</i>	178
	<i>ÖZ GEÇMİŞ</i>	

TABLÖLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1 Tezde araştırılan <i>Pistacia</i> türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları.....	16
Tablo 3.1 Fraksiyonların kodlanması ve miktarları.....	41
Tablo 3.2 İTK ve YPİTK analizlerinde kullanılan hareketli faz sistemleri...	44
Tablo 4.1 Ekstre verimleri.....	47
Tablo 4.2 Ekstrelerin toplam fenol ve flavonoid miktarları.....	49
Tablo 4.3 Metanol ekstralarında tanımlanan bileşikler.....	55
Tablo 4.4 Ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçları.....	108
Tablo 4.5 Ekstrelerin tirozinaz ve elastaz değerleri.....	110
Tablo 4.6 Ekstrelerin kolajenaz inhibisyon değerleri.....	112
Tablo 4.7 <i>P. terebinthus</i> fraksiyonlarında tanımlanan bileşikler ve kütle parçalanmaları.....	124
Tablo 4.8 <i>P. terebinthus</i> fraksiyonlarının elastaz inhibisyonu.....	137
Tablo 4.9 <i>P. terebinthus</i> fraksiyonlarının tirozinaz inhibisyonu.....	138
Tablo 4.10 <i>P. terebinthus</i> fraksiyonlarının elastaz üzerindeki sinerjik aktivite sonuçları.....	139
Tablo 4.11 <i>P. terebinthus</i> fraksiyonlarının tirozinaz üzerindeki sinerjik aktivite sonuçları.....	141
Tablo 4.12 F1 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri ve önemli HMBC etkileşimleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6).....	148
Tablo 4.13 G1 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri ve önemli HMBC etkileşimleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6).....	154
Tablo 4.14 H1 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri ve önemli HMBC etkileşimleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6).....	160
Tablo 4.15 H2 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri ve önemli HMBC etkileşimleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6).....	164

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Flavonol iskeleti.....	9
Şekil 2.2 Flavan 3-ol iskeleti ve gallik asit esterleri.....	10
Şekil 2.3 Benzoik asit ve hidroksisinnamik asitler.....	11
Şekil 2.4 <i>Pistacia</i> türlerinde tanımlanmış uçucu yağ bileşenleri.....	13
Şekil 2.5 <i>Pistacia</i> türlerinde tanımlanmış triterpenoitler.....	15
Şekil 2.6 Tirozinaz, elastaz ve kolajenazın katalizlediği reaksiyonların özeti.....	28
Şekil 2.7 Deri yaşlanmasına sebep olan etmenler.....	31
Şekil 3.1 YPİTK sistemi.....	43
Şekil 4.1 Gallik asit kalibrasyon grafiği.....	46
Şekil 4.2 Kersetin kalibrasyon grafiği.....	48
Şekil 4.3 Flavonoidlerin RDA kırılması ile oluşturduğu fragment yolları...	87
Şekil 4.4 Kersetinin RDA kırılması ile oluşturduğu fragment yolları.....	88
Şekil 4.5 Kemferolün RDA ve diğer fragmentleri.....	88
Şekil 4.6 Troloks kalibrasyon eğrisi (ABTS+•).....	107
Şekil 4.7 Troloks kalibrasyon eğrisi (CUPRAC).....	108
Şekil 4.8 B + H kombinasyonuna ait izobologram grafiği.....	140
Şekil 4.9 E + F kombinasyonuna ait izobologram grafiği.....	140
Şekil 4.10 E + G kombinasyonuna ait izobologram grafiği.....	140
Şekil 4.11 E + H kombinasyonuna ait izobologram grafiği.....	141
Şekil 4.12 F + G kombinasyonuna ait izobologram grafiği.....	142
Şekil 4.13 F + H kombinasyonuna ait izobologram grafiği.....	142
Şekil 4.14 G + H kombinasyonuna ait izobologram grafiği.....	142
Şekil 4.15 F1 kodlu maddenin YPSK-KS/KS analizine ait bulgular.....	147
Şekil 4.16 F1 kodlu maddeye ait ¹ H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	150
Şekil 4.17 F1 kodlu maddeye ait ¹³ C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	150
Şekil 4.18 F1 kodlu maddeye ait 2D ¹ H- ¹ H korelasyon (COSY) spektrumu....	151
Şekil 4.19 F1 kodlu maddeye ait 2D ¹ H- ¹³ C yakın mesafe korelasyon (HSQC) spektrumu.....	151

Şekil 4.20	F1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C uzak mesafe korelasyon (HMBC) spektrumu.....	152
Şekil 4.21	F1 kodlu maddeye ait uzak bağ etkileşimleri.....	152
Şekil 4.22	G1 kodlu maddenin YPSK-KS/KS analizine ait bulgular.....	153
Şekil 4.23	G1 kodlu maddeye ait ^1H NMR spektrumu (400 MHz,DMSO- d_6)	155
Şekil 4.24	G1 kodlu maddeye ait ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz,DMSO- d_6)	156
Şekil 4.25	G1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^1H korelasyon (COSY) spektrumu...	156
Şekil 4.26	G1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C yakın mesafe korelasyon (HSQC) spektrumu.....	157
Şekil 4.27	G1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C uzak mesafe korelasyon (HMBC) spektrumu.....	157
Şekil 4.28	G1 kodlu maddeye ait uzak bağ etkileşimleri.....	158
Şekil 4.29	H1 kodlu maddenin YPSK-KS/KS analizine ait bulgular.....	159
Şekil 4.30	H1 kodlu maddeye ait ^1H NMR spektrumu (400 MHz,DMSO- d_6)	160
Şekil 4.31	H1 kodlu maddeye ait ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz,DMSO- d_6)	161
Şekil 4.32	H1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C yakın mesafe korelasyon (HSQC) spektrumu.....	161
Şekil 4.33	H1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C uzak mesafe korelasyon (HMBC) spektrumu.....	162
Şekil 4.34	H1 kodlu maddeye ait uzak bağ etkileşimleri.....	162
Şekil 4.35	H2 kodlu maddenin YPSK-KS/KS analizine ait bulgular.....	163
Şekil 4.36	H2 kodlu maddenin YPSK-KS/KS analizine ait bulgular.....	165
Şekil 4.37	H2 kodlu maddeye ait ^1H NMR spektrumu (400 MHz,DMSO- d_6)	165
Şekil 4.38	H2 kodlu maddeye ait ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz,DMSO- d_6)	166
Şekil 4.39	H2 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C yakın mesafe korelasyon (HSQC) spektrumu.....	166
Şekil 4.40	H2 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C uzak mesafe korelasyon (HMBC) spektrumu.....	167
Şekil 4.41	H2 kodlu maddeye ait uzak bağ etkileşimleri.....	167

GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 2.1 <i>P. atlantica</i> Türkiye'deki Dağılımı.....	5
Görsel 2.2 <i>P. atlantica</i> Dünya'daki Dağılımı.....	5
Görsel 2.3 <i>P. lentiscus</i> Türkiye'deki Dağılımı.....	6
Görsel 2.4 <i>P. lentiscus</i> Dünya'daki Dağılımı.....	6
Görsel 2.5 <i>P. terebinthus</i> Dünya'daki Dağılımı.....	7
Görsel 2.6 <i>P. vera</i> Türkiye'deki Dağılımı.....	8
Görsel 2.7 <i>P. vera</i> Dünya'daki Dağılımı.....	8
Görsel 3.1 <i>P. atlantica</i> yaprak ve meyve görünümü.....	32
Görsel 3.2 <i>P. lentiscus</i> yaprak ve meyve görünümü.....	32
Görsel 3.3 <i>P. terebinthus</i> yaprak ve meyve görünümü.....	33
Görsel 3.4 <i>P. vera</i> yaprak görünümü.....	33
Görsel 3.5 Ekstraksiyon aşaması.....	35
Görsel 3.6 <i>P. terebinthus</i> fraksiyonlama adımı öncesi yüksek miktarda ekstre eldesi aşaması.....	36
Görsel 3.7 Poliamit dolgulu kolon kromatografisi.....	42
Görsel 3.8 Poliamit dolgulu kolondan elde edilen fraksiyonlar (Birleştirilmeden önce)	42
Görsel 4.1 <i>P. atlantica</i> metanol ekstresinin DAD kromatogramı (280 nm ve 350-360 nm)	51
Görsel 4.2 <i>P. lentiscus</i> metanol ekstresinin DAD kromatogramı (280 nm ve 350-360 nm)	52
Görsel 4.3 <i>P. terebinthus</i> metanol ekstresinin DAD kromatogramı (280 nm ve 350-360 nm)	53
Görsel 4.4 <i>P. vera</i> metanol ekstresinin DAD kromatogramı (280 nm ve 350-360 nm)	54
Görsel 4.5 1 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.	59
Görsel 4.6 2 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.	59
Görsel 4.7 3 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.	60
Görsel 4.8 4 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.	61
Görsel 4.9 5 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.	61

Görsel 4.10	6 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.	62
Görsel 4.11	7 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.	63
Görsel 4.12	8 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.	64
Görsel 4.13	9 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.	65
Görsel 4.14	10 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	66
Görsel 4.15	11 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	67
Görsel 4.16	12 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	68
Görsel 4.17	13 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	68
Görsel 4.18	14 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	69
Görsel 4.19	15 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	70
Görsel 4.20	16 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	71
Görsel 4.21	17 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	73
Görsel 4.22	18 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	73
Görsel 4.23	19 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	74
Görsel 4.24	20 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	75
Görsel 4.25	21 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	76
Görsel 4.26	22 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	77
Görsel 4.27	23 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	78

Görsel 4.28	24 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	79
Görsel 4.29	25 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	80
Görsel 4.30	26 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	81
Görsel 4.31	27 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	81
Görsel 4.32	28 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	82
Görsel 4.33	29 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	83
Görsel 4.34	30 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	84
Görsel 4.35	31 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	85
Görsel 4.36	32 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	86
Görsel 4.37	33 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	89
Görsel 4.38	34 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	90
Görsel 4.39	35 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	91
Görsel 4.40	36 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	92
Görsel 4.41	37 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	93
Görsel 4.42	38 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	94
Görsel 4.43	39 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	95

Görsel 4.44	40 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	95
Görsel 4.45	41 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	96
Görsel 4.46	42 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	97
Görsel 4.47	43 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	98
Görsel 4.48	44 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	99
Görsel 4.49	45 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	100
Görsel 4.50	46 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	101
Görsel 4.51	47 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	102
Görsel 4.52	48 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	103
Görsel 4.53	49 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	104
Görsel 4.54	50 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	105
Görsel 4.55	51 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	106
Görsel 4.56	Ekstre ve fraksiyonlara ait YPİTK görüntüleri (UV254, UV366, beyaz ışık ve FeCl ₃ türevlendirmesi).....	114
Görsel 4.57	Ekstre ve fraksiyonlara ait YPİTK görüntüleri (NP/PEG ve H ₂ SO ₄ türevlendirmesi).....	115
Görsel 4.58	Fraksiyonlara ait YPİTK görüntüleri (UV254, UV366, beyaz ışık ve FeCl ₃ türevlendirmesi).....	116
Görsel 4.59	Fraksiyonlara ait YPİTK görüntüleri (H ₂ SO ₄ ve NP/PEG türevlendirmesi)	117
Görsel 4.60	C kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm).	118

Görsel 4.61	D kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm).	119
Görsel 4.62	E kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm).	120
Görsel 4.63	F kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm).	121
Görsel 4.64	G kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm).	122
Görsel 4.65	H kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm).	123
Görsel 4.66	1(a) ve 2 (b) numaralı maddelere ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	127
Görsel 4.67	5(a) ve 11(b) numaralı maddelere ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	128
Görsel 4.68	8 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.	129
Görsel 4.69	26 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	130
Görsel 4.70	38 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	131
Görsel 4.71	40 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	132
Görsel 4.72	43 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	133
Görsel 4.73	45 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	134
Görsel 4.74	48 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	135
Görsel 4.75	49 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	135
Görsel 4.76	52 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri.....	136
Görsel 4.77	F, G ve H fraksiyonlarına ait YPİTK görüntüleri (UV254, UV366, beyaz ışık, H ₂ SO ₄ ve FeCl ₃ türevlendirmesi).....	144
Görsel 4.78	F, G ve H fraksiyonlarına ait YPİTK – EYA görüntüleri.....	145
Görsel 4.79	Tirozinaz inhibitörü bantların isimlendirilmesi.....	146

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
μM	: Mikromolar
Abs	: Absorbans
ABTS	: 2,2'-Azinobis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ACE-I	: Anjiyotensin-I Dönüştürücü Enzim
AlCl_3	: Alüminyum triklorür
Amu	: Atomik Kütle Birimi
Cu	: Bakır
DFE	: Deri fibroblast elastaz
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH	: 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
DRİ	: Doz redüksiyon indeksi
ESİ	: Elektrosprey iyonizasyon
ETS	: Elektron taşıma sistemi
EYA	: Etki yönlendirmeli analiz
GAE	: Gallikasit'e eşdeğer
IC_{50}	: Maksimum inhibisyonun %50'sini oluşturan konsantrasyon
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
İNE	: İnsan nötrofil elastaz
KE	: Kersetin'e eşdeğer
Kİ	: Kombinasyon İndeksi
KS	: Kütle Spektroskopisi
m/z	: Kütle/yük
MA	: Molekül ağırlığı
MeOH	: Metanol
mg	: Miligram
MgCl_2	: Magnezyum klorür
mM	: Milimolar
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans

NP	: Natural Product
PEG400	: Polietilen glikol 400
ROT	: Reaktif oksijen türleri
TEAK	: Troloks'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite
TIC	: Total iyon kromatogramı
UV	: Ultraviyole
YPSK	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
YPİTK	: Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi



1 GİRİŞ

Doğal kaynaklı hammaddeler, ilaç keşfi için zengin bir kaynak olmakla birlikte, sentetik ilaçların üretiminde de öncülük etmektedir. Bu hammaddeler bazen sentetik ilaçlara rol model oluştururken, bazen de yarı-sentetik türevlerin öncü maddesi olur. Günümüzde kozmetik sektöründe sentetik maddelerden doğal kaynaklı ürünlere dönüş yaşanmaktadır. Sentetik türevlerin toksik ve istenmeyen etkileri hem üretici hem de tüketicilerde doğal ürün arayışını başlatmıştır. Bunun için; doğal kaynaklı hammaddelerin *in vitro*, *in situ* ve *in vivo* testler ile hedef enzimlere karşı etkileri üzerine araştırmalar son yıllarda hız kazanmış ve etkili bitki/ekstre/bileşikler literatüre kazandırılmakla birlikte, bu bilgilerden hareketle piyasaya ‘doğal’ ürünler çıkarılmıştır.

Tirozinaz, elastaz ve kolajenaz son zamanlarda kozmetik sektöründe önemli hedefler haline gelen enzimlerdir. Tirozinaz enzimi melanin pigmentinin biyosentezinde rol oynamaktadır. Melanin, ciltte UV fotonlarının emiliminden, fotonların serbest radikal formlara dönüşmesinin engellenmesinden ve cilt renginden sorumludur. Bu enzimin ekspresyonundaki değişiklikler hiperpigmentasyon, melanoz ve yaşlılık lekeleri ile ilişkilidir. Bilinen ve etkili bir tirozinaz inhibitörü olan kojik asit’in çeşitli dezavantajları nedeniyle (dermatolojik yan etkiler, fotoduyarlılık, toksisite, düşük stabilite) ürünlerde kullanım oranı Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından %2’den %0.7’ye düşürülmüştür. Bu nedenle yeni tirozinaz inhibitörlerinin arayışı dermokozmetik ve gıda sektöründe son yıllarda önem kazanmıştır. Özellikle dermokozmetik alanda doğal kaynaklardan elde edilen inhibitör özellikteki maddelerin yüksek etkinlik ve az yan etki profiline sahip olması, güçlü antioksidan özellik göstermesi, çok yönlü kullanımının olması (antienflamatuvar, antimikrobiyal vb.) avantajlı bulunmaktadır. Bu anlamda doğal kaynaklı hammaddeler/ekstreler sentetik bileşiklere göre güvenlik profili de göz önünde bulundurulduğunda daha büyük ilgi görmektedir.

Elastaz ve kolajenaz ise derinin esnekliği ve dayanıklılığından sorumlu iki ana enzimdir. Bu enzimlerin aşırı aktiviteleri ile elastin ve kolajen yıkılımı hızlanır ve deri elastisitesini ve dayanıklılığını kaybeder. Bu sebeple bu enzimlerin inhibisyonu önemli bir hedef haline gelip, inhibitör madde arayışları günümüzde devam etmektedir.

Anacardiaceae familyasına ait olan ve ülkemizde de doğal olarak yetişen *Pistacia* L. cinsi fitokozmetik amaç ile araştırılmak üzere materyal olarak seçilmiştir. Ülkemizde 11 tür ile temsil edilmekte olup literatür çalışmaları bu cinsin oleorezinleri ve meyveleri üzerine

odaklanmaktadır. Yaprak kısmı üzerine olan araştırmalar sınırlı olmakla birlikte giderek artmaktadır.

Tez kapsamında *Pistacia* cinsine ait 4 tür (*P. atlantica*, *P. lentiscus*, *P. terebinthus* ve *P. vera*) ile çalışılmıştır. Yapraklardan sıralı ekstraksiyon ile 4 farklı polaritede (*n*-hekzan, etil asetat, metanol, su) ekstre elde edilmiştir. Toplam fenol ve flavonoit miktar tayini gerçekleştirilmiş, antioksidan aktivite ise radikal süpürücü özellik ve metal şelatlama kuvveti bakımından değerlendirilmiştir. Tirozinaz, elastaz ve kolajenaz enzim inhibisyonları gerçekleştirildikten sonra aktif bulunan metanol ekstrelerinin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Kütle spektrometrisi/Kütle Spektrometrisi ile analizleri gerçekleştirilmiş ve kimyasal profilleri belirlenmiştir. En etkili tür üzerinden gerçekleştirilen fraksiyonlama çalışmaları neticesinde düşen enzim aktivitesinin fraksiyonlar arası sinerjik aktivite ile ilişkili olabileceği düşünölmüştür. Bu bağlamda kombinasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş ve Chou-Talalay Kombinasyon İndeks'leri hesaplanmıştır. Kromatografik ayırım-enzim aktivitesi analizlerinin paralel bir şekilde yürütölmesine olanak tanıyan Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi-Etki Yönlendirmeli Analiz tekniği fraksiyonlarda aktif metabolitlerin hızlı bir şekilde tanımlanabilmesi adına başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi ile izole edilen bileşikler Kütle spektrometrisi ve NMR ile tanımlanmış ve etkili bileşikler ortaya konmuştur.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Anacardiaceae Familyası Genel Özellikleri (Davis vd., 1967)

Ağaç veya çalı, sıklıkla reçineli ağaç kabuğuna sahip. Yapraklar alternat, basit, trifoliat veya pinnat, stipulasız veya oldukça belirsiz stipulalı. Çiçekler aktinomorf, genellikle işlev bakımından tek eşeyli, nadiren hermafrodit. Sepaller 3-5 veya nadiren yok, genellikle tabanda birleşmiş. Petaller 3-5, serbest veya yok. Stamenler 5 veya 10, stamenler bir tabla üzerine tespit edilmiş. Ovaryum üst durumlu, genellikle 1-loküllü (olgunlaşmama sonucu 3-loküler). Ovüller 1(-3), genellikle tabanda. Stilus 1-3. Meyve 1-tohumlu drupa, sıklıkla meyilli ve nispeten kuru.

2.1.1 Anacardiaceae familyası cins anahtarı (Davis vd., 1967)

1. Bazı pediseller olgunlaşmadan düşen çiçekleri taşır, meyvede uzamış ve plumoz; yapraklar basit ***Cotinus***

1. Tüm pediseller işlevsel çiçekleri taşır, meyvede uzamış ve plumoz değil; yapraklar pinnat veya trifoliat, nadiren basit

2. Petaller mevcut; yaprakçıklar dişli ***Rhus***

2. Petaller yok; yaprakçıklar tam ***Pistacia***

2.2 *Pistacia* L. Cinsi Genel Özellikleri (Davis vd., 1967)

Dioik ağaç veya çalı. Yapraklar alternat, düşücü veya her dem yeşil, pinnat, nadiren trifoliat veya basit. Çiçekler dallarda panikula veya rasemus, tek eşeyli, apetal veya çiçek örtüsü yok, 1-3 küçük brakte ve 2-7 brakteol tarafından taşınır. Erkek çiçekler 4-5 anter üzerine tespit edilmiş. Dişi çiçekler kısa, 3-parçalı stilus. Meyve 1-tohumlu ± meyilli drupa.

2.2.1 *Pistacia* cinsine ait tür anahtarı (Davis vd., 1967)

1. Yaprak ekseni dar olarak kanatlı

2. Yapraklar paripinnat, her dem yeşil; yaprakçıklar mukronat; çiçekler rasemlerde

lentiscus

2. Yapraklar imparipinnat, düşücü; yaprakçıklar mukrosuz; çiçekler dallarda panikula

3. Yaprakçıklar üstte koyu yeşil, altta soluk; meyveler daha uzun veya genişliği kadar (5-8 x 5-6 mm) **atlantica**

3. Yaprakçıklar her iki yüzde de açık yeşil; meyve yassılmış, uzunluğundan daha geniş (6-7 x 8-9 mm) **eurycarpa**

1. Yaprak eksenini kanatsız

4. Meyve her zaman yassılmış-globoz; yaprakçıklar obtus, mukrosuz **eurycarpa**

4. Meyve en azından genişliği kadar; yaprakçıklar mukronat veya akuminat

5. Meyve ovat-oblong, 16-22 x 9-22 mm; yaprakçıklar genişçe ovat-eliptik, yaprak tepesi yuvarlak ve mukronat, belirgin olarak ağsı-damarlı (kültüre girmiş) **vera**

5. Meyve obovoid, 6-7 x 5-6 mm; yaprakçıklar ovat-oblong veya oblong, yaprak tepesi akut veya akuminat, damarlanma belirgin olarak ağsı değil

6. Ana eksen ve daha ziyade yaprakçıkların tabanlarının kenarları tüylü; yaprakçıklar tepede akuminat ancak göreceli olarak mukronat, oldukça belirgin şekilde pinnat damarlı; uçtaki yaprakçıklar yanal yaprakçıklardan daha geniş **khinjuk**

6. Ana eksen ve yaprakçıkların tabanlarının kenarları tüysüz; yaprakçıklar obtus, akut veya akuminat, her zaman bariz şekilde mukronat, belirginliği daha az pinnat damarlı; uçtaki yaprakçıklar yanal yaprakçıklardan daha geniş değil, sıklıkla daha fazla indirgenmiş, eşit setalı **terebinthus**

2.3 Tez Kapsamında Araştırılan *Pistacia* Türlerinin Türkiye Florası'na Göre Deskripsiyonları (Davis vd., 1967)

2.3.1 *P. atlantica* Desf. (Sin: *P. mutica* Fisch, & Mey.)

7 m'ye kadar boylanabilen yaprak döken ağaçlar, yoğun, subgloboz taçlı. Yapraklar imparipinnat; yaprakçıklar 2-5-parçalı, ovat-oblong veya lanceolat, 2.5-8 x 0.8-2.2 cm, obtus, mukronat değil, üstte koyu yeşil, altta renksiz, siliolat kenarlar hariç tüysüz; yaprak ana eksenini dar kanatlı. Meyveler panikulat, genişliği kadar veya daha geniş, 5-8 x 5-6 mm.

Çiçeklenme: Mart-Nisan

Yetiştirme ortamı: Kuru yamaçlar, mezarlıklar, tarla kenarları, yol kenarları.

Yükseklik: 0-1500 m.

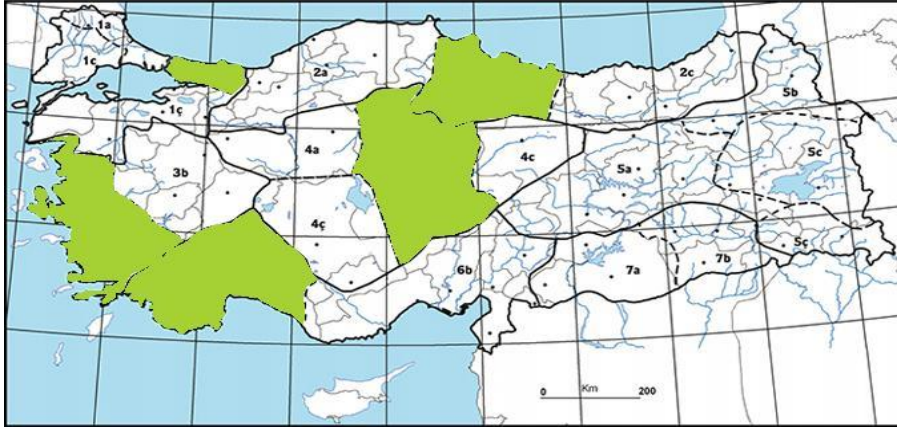
Türkiye dağılımı: Çatalca-Kocaeli Bölümü, Orta Karadeniz Bölümü, Asıl Ege Bölümü, Orta Kızılırmak Bölümü, Antalya Bölümü (Görsel 2.1) (<http-4>).

Genel Dağılım: Kuzey Afrika, Yunanistan, Kıbrıs, Filistin, Suriye Çölü, Kırım, Kafkasya (Görsel 2.2) (<http-5>).

Ülkemizde “sakızlık, atlas fıstığı, çitlenbik, melengiç, meleş” isimleri ile bilinir (Tuzlacı, 2011).

Görsel 2.1

P. atlantica Türkiye’deki Dağılımı



Kaynak: <http-4>

Görsel 2.2

P. atlantica Dünya’daki Dağılımı



Kaynak: <http-5>

2.3.2 *P. lentiscus* L.

Küçük her dem yeşil ağaç veya çalı, 1-3(-5) m. Yapraklar paripinnat, derimsi; yaprakçıklar 2-4(5-7)-parçalı, oblong veya oblong-lanceolat, 1.5-3.5 x 0.6-1.5 cm, obtus,

kısaca mukronat, tüysüz; yaprak ana eksenli bariz olarak farklı ve düzenli olarak kanatlı. Meyveler kısa rasemuslardan doğar.

Çiçeklenme: Mart-Nisan

Yetiştirme ortamı: Maki

Yükseklik: 0-200 m.

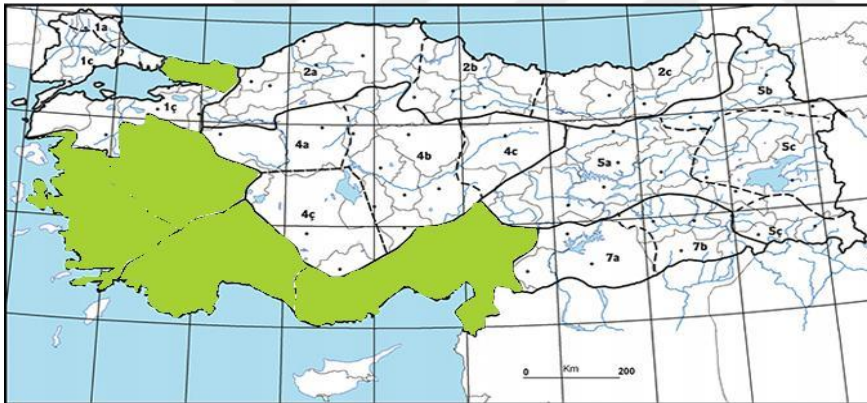
Türkiye dağılımı: Çatalca-Kocaeli Bölümü, Asıl Ege Bölümü, İç Batı Anadolu Bölümü, Antalya Bölümü, Adana Bölümü (Görsel 2.3) ([http-2](#))

Genel Dağılımı: Akdeniz Sahaları (Görsel 2.4) ([http-1](#))

Ülkemizde “sakız ağacı, sakız, çetlemik, tatlı menengiç” isimleri ile bilinir (Tuzlacı, 2011).

Görsel 2.3

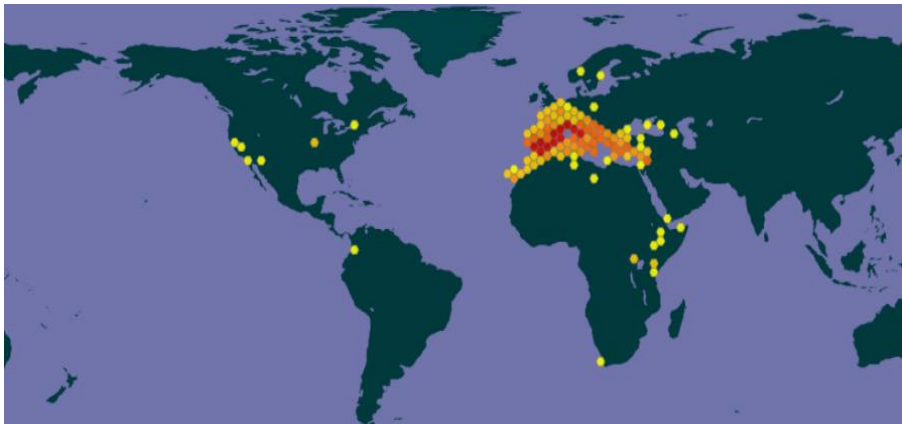
P. lentiscus Türkiye'deki Dağılımı



Kaynak: [http-2](#)

Görsel 2.4

P. lentiscus Dünyadaki Dağılımı



Kaynak: [http-3](#)

2.3.3 *P. palaestina* (sin. *P. terebinthus*) L.

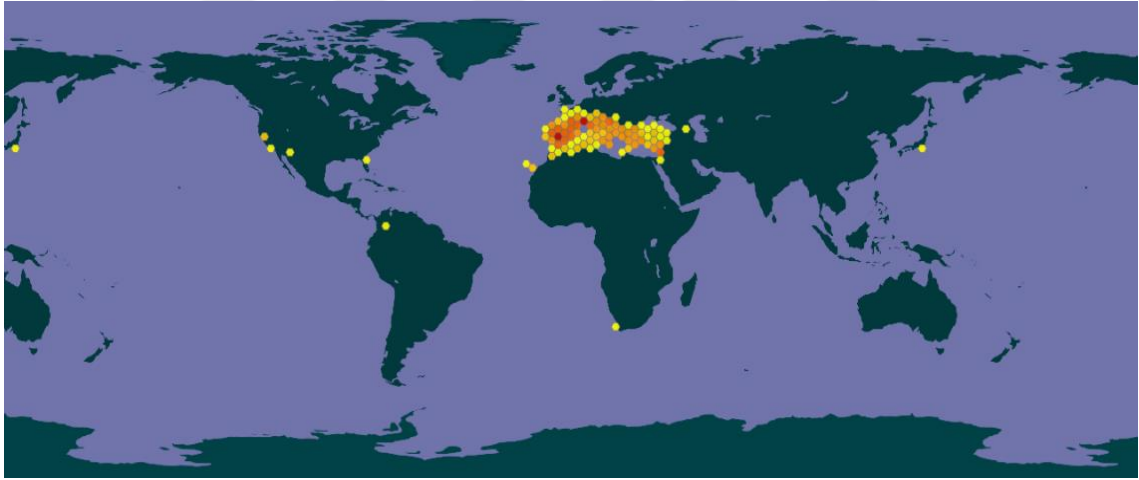
Çalı, 2-3 m veya 6 m'ye kadar boylanabilen küçük ağaçlar, sıklıkla mazılı. Yapraklar düşücü, imparipinnat veya paripinnat; yaprakçıklar (1-)2-4(-6)-parçalı, ovat-oblong veya oblong-lanseolat, 3-7(-8) x 1.8-3(-4) cm, obtus, akut veya akuminat, her zaman mukronat, tüysüz, üstte koyu yeşil, altta soluk, uçtaki yaprakçıklar (eğer mevcutsa) kenardaki yaprakçıklardan daha geniş değil, sıklıkla fazla indirgenmiş, eşit setalı; yaprak ana eksenini kanatlı değil, tüysüz meyve panikulat, globoz veya genişçe obovat, 5-6 x 4-6 mm.

Türkiye'de ara türler oldukça yaygın olsa da *P. terebinthus* subsp. *palaestina* ve *P. terebinthus* subsp. *terebinthus* olmak üzere iki alttür tanımlanmış (Davis vd., 1966) ancak yapılan son çalışmalarla bu iki alttür *P. terebinthus* olarak tek bir tür olarak kabul edilmiştir (Görsel 2.5) ([http-15](#); [http-16](#); [http-17](#)).

Ülkemizde “çitlenbik, menengiç, çöğre ve çetimek” isimleri ile bilinir (Tuzlacı, 2011).

Görsel 2.5

P. terebinthus Dünya'daki dağılımı



Kaynak: [http-15](#)

2.3.4 *P. vera* L.

10 m'ye kadar boylanır. Yapraklar düşücü, trifoliat veya imparipinnat; yaprakçıklar geniş, 1-2(-3)-parçalı, ovat veya genişçe lanceolat, akut veya obtus, mukronulat, 5-10(-12) x 3-6 cm, bariz olarak ağsı damarlı, uçtaki yaprakçıklar yanıl olanlar kadar geniş veya daha geniş, seyrek olarak tüylü; ana eksen kanatlı değil, tüylü. Meyveler panikulat, ovat-oblong, 16-29 x 9-12 mm, tohum geniş yeşil kotiledonlar içerir, yenilebilir.

Kültür edilmiş.

Element: İran-Turan

Türkiye dağılımı: Güney Doğu Anadolu (Başlıca Gaziantep, Maraş, Urfa ve Mardin illerinde yetiştirilir) (Görsel 2.6) (<http-13>; Davis vd., 1966)

Genel Dağılımı: İran, Afganistan, Orta Asya (Görsel 2.7) (<http-13>)

Ülkemizde antepfıstığı, siirtfıstığı, akıllı fıstık ve şam fıstığı isimleri ile bilinir (Tuzlacı, 2011).

Görsel 2.6

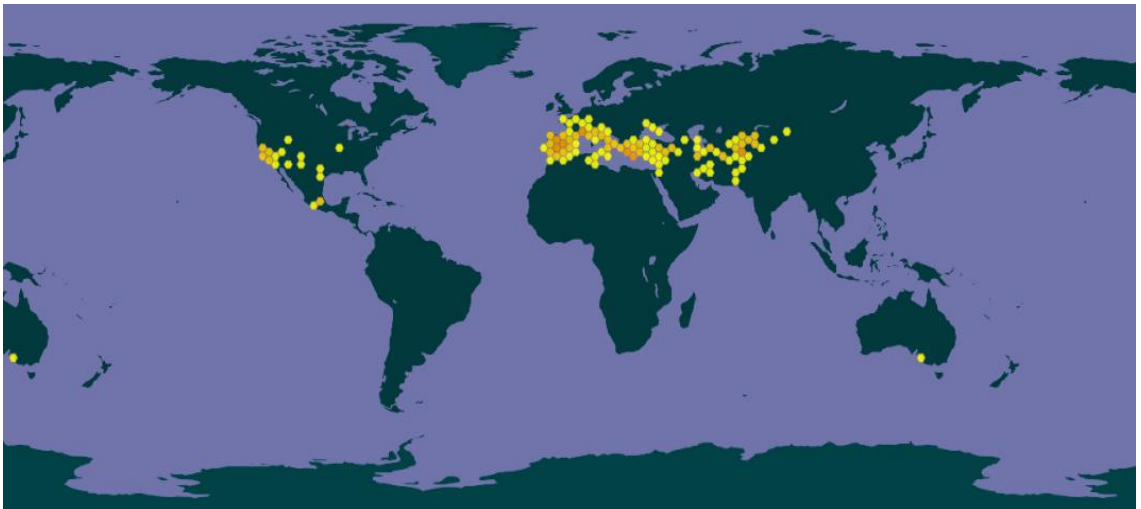
P. vera Türkiye'deki dağılımı



Kaynak: <http-13>

Görsel 2.7

P. vera Dünya'daki dağılımı



Kaynak: <http-14>

2.4 *Pistacia* Türlerinde Tanımlanmış Sekonder Metabolitler

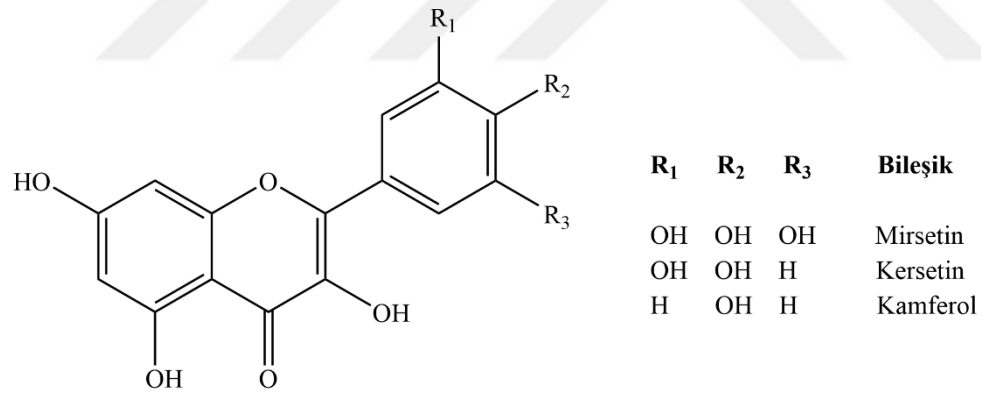
Bu kısımda tezde araştırılan yaprak kısımları üzerine yapılan sekonder metabolit çalışmaları ve sonuçları özetlenecektir.

2.4.1 Flavonoitler

Flavonol yapısında olan mirsetin, kersetin ve kemferol *Pistacia* türlerinin yapraklarında tanımlanan ana flavonoitlerdir (Şekil 2.1). Literatür çalışmalarında bu aglikon yapılarının glukoz, galaktoz, arabinoz, ramnoz, rutinoz gibi şeker birimleri ile yaptığı glikozit formları tanımlanmıştır (Pekacar, 2024; Rodríguez-Pérez vd., 2013). Ayrıca aglikonların glukuronik asit ile yaptığı esterleşmiş formlar yapraklarda bulunmuştur. Ana fenolik asitlerinden olan gallik asit'in flavonol glikozitleri ile yaptığı esterleşmeler sonucu oluşan Mirsetin-O-galloil heksosiz, Mirsetin-O-galloil ramnoziz, Kersetin-O-galloil heksosiz, Kersetin-O-galloil ramnoziz, Mirsetin-O-galloil pentoziz *Pistacia* yapraklarında tanımlanan bileşikler arasındadır (Pacifio vd., 2014).

Şekil 2.1

Flavonol iskeleti



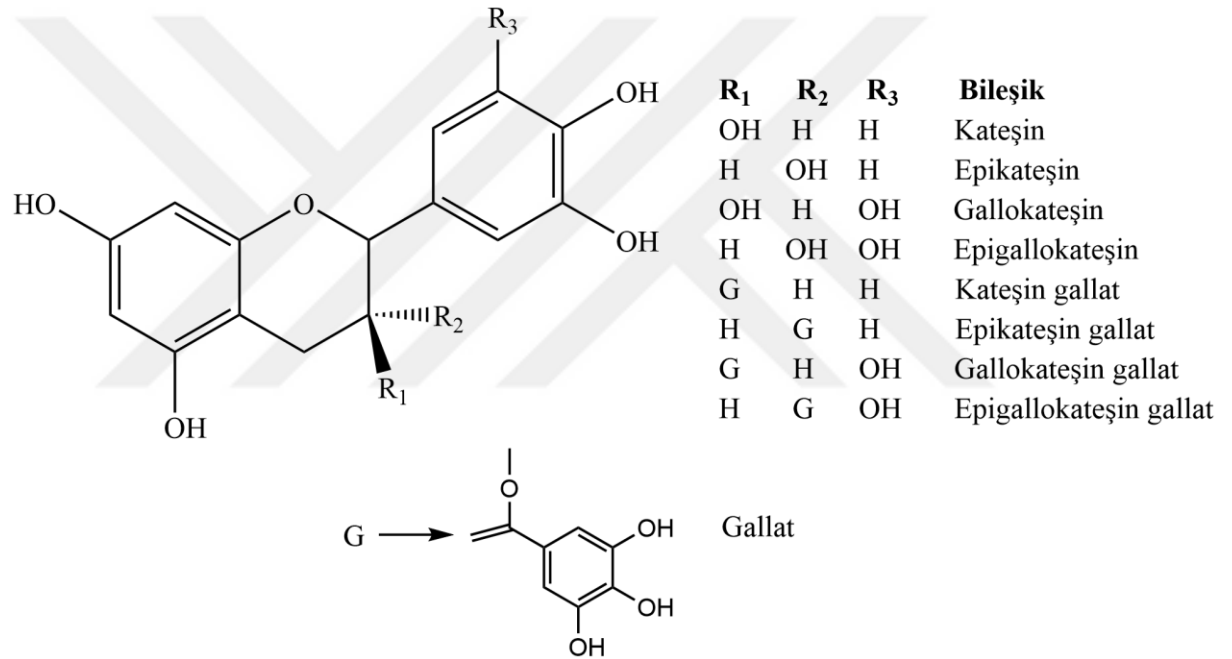
Luteolin, apigenin ve taksifolin ile bunların glikozitleri veya glukuronitleri (Apigenin-7-O-glukozit, Taksifolin-O-glukozit, Luteolin-O-glukozit, Luteolin-7-O-glukuronit, Luteolin-3-O-rutinoziz) çeşitli çalışmalarda yapraklarda tanımlanan diğer flavonoit türleridir (Uysal vd., 2022; El Bishbishy vd., 2020; Pacifio vd., 2014). Ayrıca Kirolos vd. (2019) taksifolin'in gallik asit ile esterleşmesi sonucu oluşan 7-O-galloil taksifolin'i *P. khinjuk* Stock türünün yapraklarında tanımlamıştır.

Flavan-3-ol çekirdeğine sahip ve kateşinler olarak da bilinen yapılar birçok *Pistacia* türünün kimyasal kompozisyonunda bulunmaktadır. Kateşin/Epikateşin ve bunların gallik asit bağlı türevleri ile glikozitleri en çok tanımlanan flavan-3-ol yapılarıdır (Şekil

2.2). Kateşin, epikateşin, kateşin-3-O-gallat, epikateşin-3-gallat, gallokateşin, epigallokateşin, gallokateşin gallat, epigallokateşin-3-gallat, epigallokateşin hekzosit tanımlanan ana kateşin türevleridir (Uysal vd., 2022; El Bishbishy vd., 2020; Elez Garofulić vd., 2020; Kirollos vd., 2019; Pacifio vd., 2014; Rodríguez-Pérez vd., 2013 Romani vd., 2002). Flavan-3-ol yapılarında dimerleşme sıklıkla görülür ve dimerleşen iki çekirdeğin türüne göre Prosiyanidin B ismi ile farklı numaralar alırlar. Elez Garofulić vd. (2020) *P. lentiscus* yapraklarında Prosiyanidin B1 (kateşin-epikateşin dimeri) ve Prosiyanidin B2 (epikateşin-epikateşin dimeri) bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Şekil 2.2

Flavan 3-ol iskeleti ve gallik asit esterleri



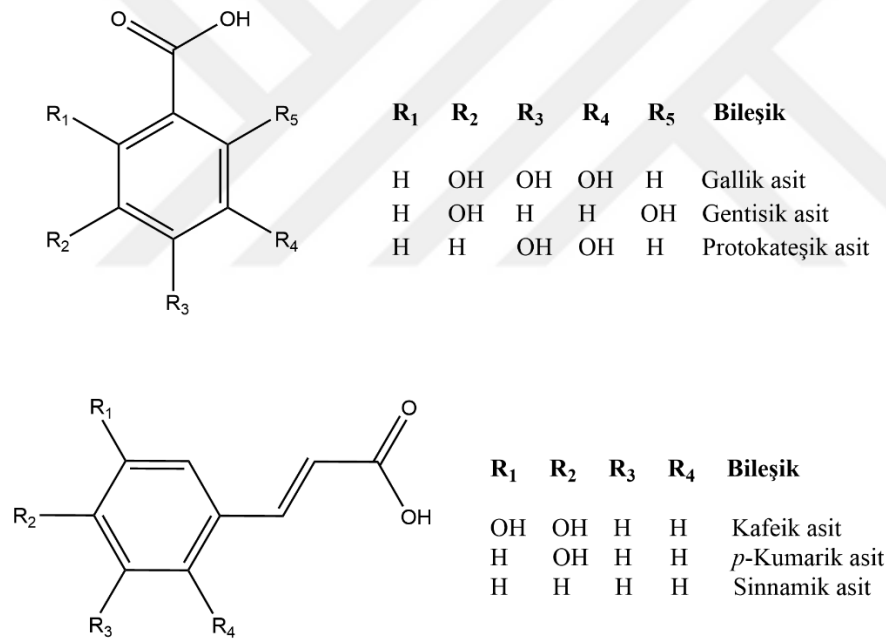
Antosiyanin ve bunların glikozitleri *Pistacia* meyvelerinin ana bileşikleridir. Ancak bazı çalışmalar bu glikozitlerin yapraklarda da bulunduğunu bildirmiştir. Delfinidin-3-O-glukozit, siyanidin-3-O-glukozit, pelargonidin-3-O-hekzosit, malvidin-3-O-glukozit ve malvidin-3,5-O-diglukozit yapılan çalışmalarda tanımlanan antosiyanin glikozitlerdir (El Bishbishy vd., 2020; Romani vd., 2002). Ayrıca, yapılan bazı çalışmalarda yaprakların naringenin, naringin (naringenin-7-O-neohesperidozit), eriodiktiyol-7-O-glukozit, eriodiktiyol glukozit malanoat gibi bazı flavanon türündeki bileşikleri içerdiği tespit edilmiştir (Kirollos vd., 2019; Pacifio vd., 2014).

2.4.2 Fenolik asitler

Pistacia yapraklarında gallik asit, gentisik asit ve protokateşik asit ana hidroksibenzoik asit türevleri olarak bilinmekte ve bu yapılar aglikon veya glikozit formunda bulunmaktadır (Şekil 2.3). Ben Ahmed vd. (2016), *P. atlantica* yapraklarında bir şeker molekülünün birden çok gallik asit ünitesi ile esterleşmesi sonucu oluşan molekülden trigalloil glukoz ve tetragalloil glukoz'u tanımlamıştır. Gok vd. (2022) ise pentagalloil glukoz yapısının *P. vera* yapraklarında bulunduğunu rapor etmiştir. Pekacar (2024), *P. atlantica* yapraklarında tannik asit'i tanımlanmıştır. Yemmen vd. (2017), kafeik asit, *trans*-sinnamik asit, *p*-kumarik asit gibi hidroksisinnamik asit türevlerini *P. lentiscus* yapraklarında tanımlamışlardır.

Şekil 2.3

Benzoik asit ve hidroksisinnamik asit türevleri



Pistacia yapraklarının karakteristik bileşik gruplarından biri gallik asit'in siklik poliol yapısında olan kinik asit ile yaptığı esterleşmeler sonucu oluşan galloilkinik asit türevleridir (Elez Garofulić vd., 2020; Pacifico vd., 2014). Ayrıca iki gallik asit biriminin bir kinik asit ile esterleşmesi sonucu oluşan 3,4-*O*-digalloilkinik asit, 3,5-*O*-digalloilkinik asit ve 4,5-*O*-digalloil kinik asit bileşikleri de yapraklarda bulunmaktadır. Üç ayrı galloil biriminin kinik asit ile esterleşmesi sonucu oluşan trigalloilkinik asit yine *Pistacia* yapraklarının karakteristik bileşiklerinden biridir ve Pistafolin A olarak da isimlendirilmektedir (El Bishbishy vd., 2020; Pacifico vd., 2014). Tetragalloil kinik asit

de bazı türlerin yapraklarında bulunmaktadır (Kirolos vd., 2019). Gallik asit'in metil esteri birçok *Pistacia* türünde bulunmuş ana fenolik bileşiklerden birisidir. Gallik asit etil esteri ise yine bazı türlerin yapraklarında tanımlanmıştır (Gok vd., 2022).

Kinik asitlerin gallik asit dışında ferulik asit ve *p*-kumarik asit gibi hidroksisinnamik asitler ile yaptığı esterleşme ürünleri de (feruloil kinik asit, kumaroilkinik asit) literatürde belirtilmiştir (Elez Garofulić vd., 2020). El Bishbishy vd. (2020), ayrıca 3,4,5-*O*-trikafooilkinik asit, 3,4-*O*-(*E*)-kafooilferuloilkinik asit, 3,4-*O*-(*E*)-kafooil-*p*-kumaroilkinik asit ve di-*O*-*p*-kumaroilkinik asit bileşiklerini *Pistacia* yapraklarında tentatif olarak tanımlamışlardır. 3-*O*-kafooilkinik asit ve 1,3-*O*-dikafeoilkinik asit'in de bazı türlerin yapraklarında bulunduğu bildirilmiştir (Kirolos vd., 2019).

2.4.3 Uçucu yağlar

Pistacia türlerinin uçucu yağ kompozisyonları üzerine literatürde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Birçok çalışma yaprak uçucu yağlarının monoterpenlerce zengin olduğunu ortaya çıkarmıştır. α -Pinen, terpinen-4-ol, limonen, α -terpineol ve γ -terpinen *P. lentiscus* yaprak uçucu yağının ana monoterpenik bileşenleri olarak birçok çalışmada gösterilmiştir (Şekil 2.4). Buna ek olarak en yüksek oranda bulunan seskiterpenik bileşik β -karyofillen olarak tanımlanmıştır (Pulaj vd., 2016; Aouinti vd., 2014; Tsokou vd., 2007; Flamini vd., 2004; Kivçak vd., 2004; Duru vd., 2003).

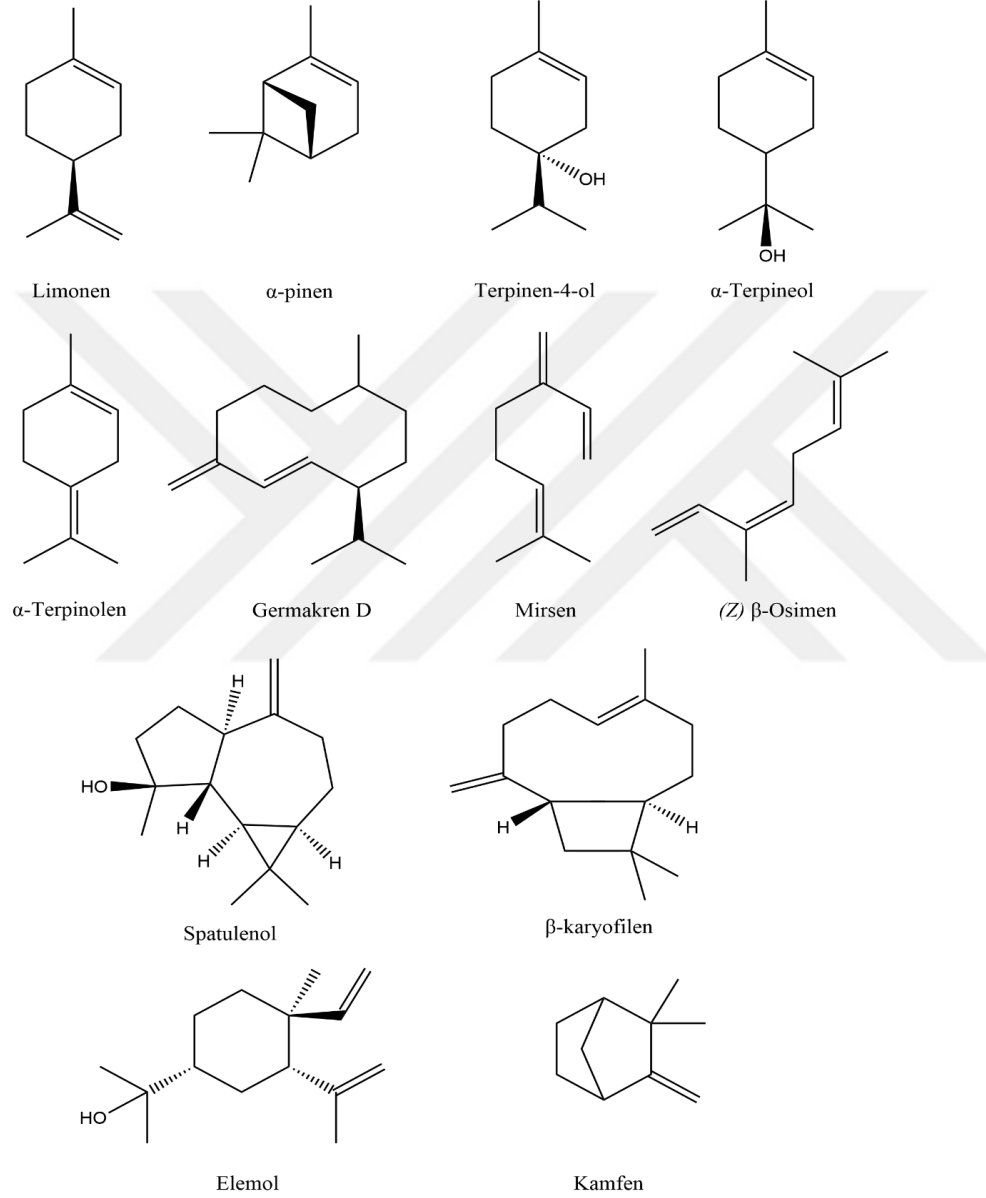
P. atlantica yaprak uçucu yağı üzerine yapılan çalışmalarda ise monoterpenlerce zengin kompozisyonun coğrafi şartlarına göre majör bileşenlerinin farklılık gösterdiği ve en sık karşılaşılan moleküllerin α -pinen, α -tuyen, spatulenol, elemol, kamfen, germakren D, terpinen-4-ol, β -pinen, mirsen ve *p*-simen olduğu bulunmuştur (Zerkani vd., 2022; El Zerey-Belaskri vd., 2017; Ait Said vd., 2011; Gourine vd., 2010; Barrero vd., 2005).

Pulaj vd. (2016) farklı lokasyonlardan toplanan *P. terebinthus* yaprak uçucu yağında α -pinen (47.28-32.84%), limonen (16.69-29.02%), β -pinen (3.09-12.46%) ve (*Z*)- β -Osimen (0.26-29.25%) bileşiklerinin yüksek oranda bulunduğunu bildirmişlerdir. *P. terebinthus* yapraklarının uçucu yağ kompozisyonlarında ise α -pinen, mirsen, sabinen, β -pinen ve terpinen-4-ol ana bileşenler olarak çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Ulukanlı vd., 2012; Flamini vd., 2004).

Tsokou vd. (2007) *P. vera* yapraklarının uçucu yağında ana bileşenin α -pinen (%30) ve terpinolen (%17.6) olduğunu bildirmiştir. Dragul vd. (2010) yapraklarda limonen ve α -terpinolen'i ana bileşenler olarak bulmuştur.

Şekil 2.4

Pistacia türlerinde tanımlanmış uçucu yağ bileşenleri



2.4.4 Diğer Bileşikler

Triterpenoitler bitkisel sekonder metabolitlerin önemli bir kısmını oluşturur. Özellikle triterpenik asitler *Pistacia* rezinlerinde bol miktarda bulunur. Ancak bazı çalışmalar bu bileşikleri ve bazı nötral triterpenoitleri yapraklarda da tanımlamıştır. Ursolik asit, ursonik asit, moronik asit, oleanolik asit, oleanonik asit en sık rastlanılan pentasiklik

triterpenoitler olmuştur (Şekil 2.5) (Ayaz-Tilkat, 2021). *P. lentiscus* yapraklarında 3-okzooleanolik asit yapısını ana triterpenik asit olarak tanımlamıştır. Ayrıca *Pistacia* türleri tetrasiklik triterpenoit (tirukalan tipi) yapısında olan bileşikler ile bilinmektedir. Rezinlerde bulunan bu moleküllerden mastikadienolik asit, mastikadienonik asit, dammaradienol, dammaradienon yapraklarda da tanımlanmıştır (Gadauche vd., 2023; Maamri vd., 2021; Bouslama vd., 2020).

Nötral triterpenoit grubu bileşiklerden lupeol, lupenon ve β -amirin yoğunlukta bulunurken lupeol asetat, oleanolik aldehit, ursolik aldehit, eritrodiol, evaol ve betulin düşük miktarda bulunmuştur (Gadauche vd., 2023; Piccolella vd., 2016). Sitosterol, stigmasterol gibi steroller, sitostenon, tremulon gibi steroid ketonlar yapraklarda bulunmuş diğer bileşiklerdir (Gadauche vd., 2023).

2.5 *Pistacia* L. Halk Arasında Kullanımı

Pistacia türlerinin meyve, yaprak, reçine ve toprak üstü kısımları halk arasında geleneksel olarak farklı amaçlarla uzun yıllardır kullanılmaktadır. *P. lentiscus* farklı bölgelerde en yoğun kullanılan türdür ve son 3000 yıldır Orta Doğu ve Akdeniz ülkelerinde reçinesinin mide rahatsızlıklarında kullanımı bilinmektedir (Dimas vd., 2009). Antik Mısır'da ise tütüsü olarak ve nefes kokusunda kullanımı bulunmaktadır (Kashaninejad vd., 2006). Yaprakları Akdeniz tıbbında sindirim bozukluklarında, osteortrit, alerjik durumlarda ve yara iyi edici olarak kullanılmıştır. Ayrıca yapraklar mide yanmasını hafifletmek amacıyla da kullanılmıştır (Milia vd., 2021; Bozorgi vd., 2013).

P. vera meyvesi dünya genelinde yaygın olarak kullanılmakta olup, gıda olarak tüketimine ilişkin kayıtlar MÖ 7000 yılına kadar dayanmaktadır. Antep fıstığı üretiminde ve ihracatında İran, Türkiye ve Amerika Birleşik Devletleri lider konumdadır (Kashaninejad vd., 2006).

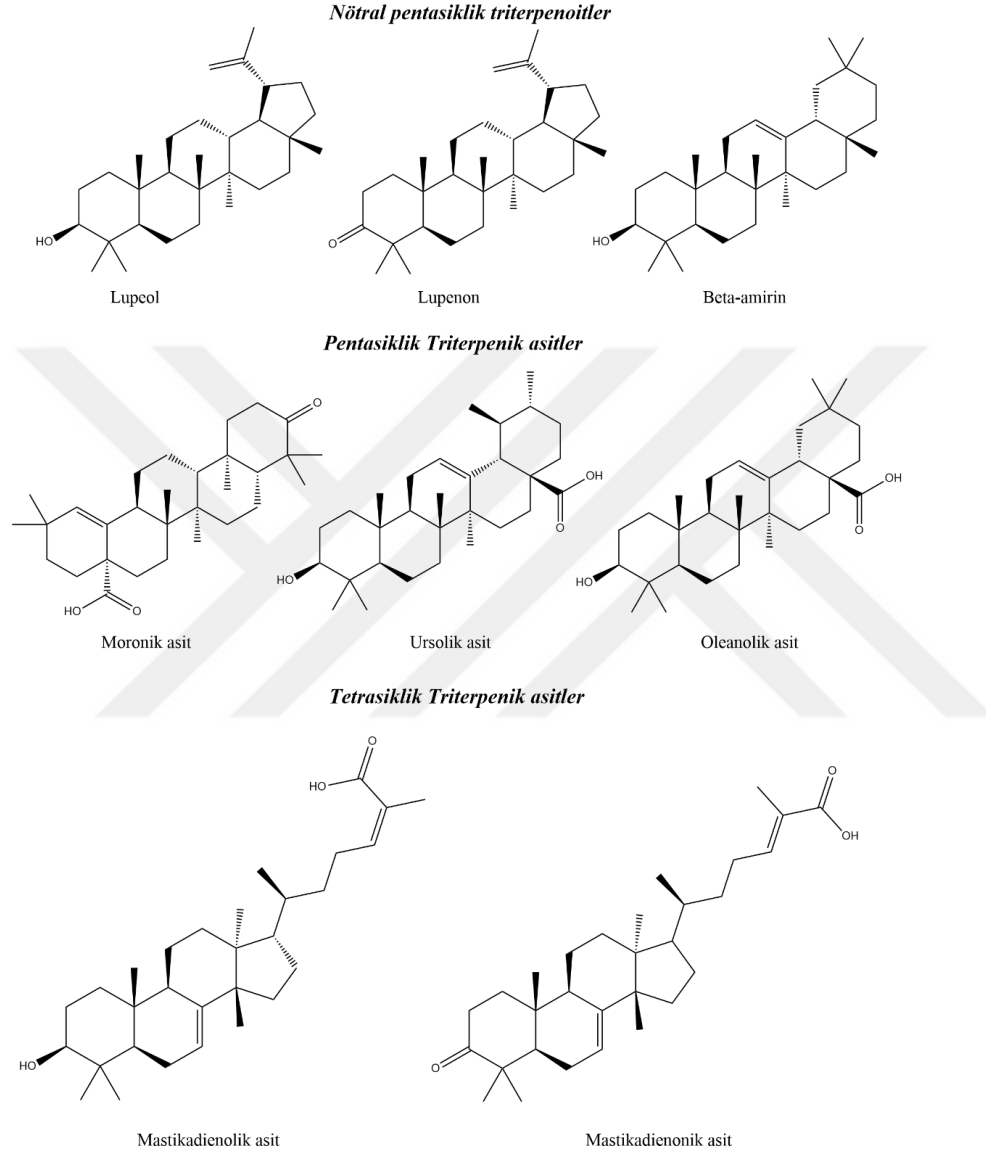
Geleneksel İran Tıbbında *P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus* ve *P. lentiscus*'un meyveleri afrodisyak özellikleri ve karaciğer, böbrek, kalp ve solunum sistemi bozukluklarında, oleogumrezinleri ise yara iyi edici ve GIS bozukluklarda kullanılmıştır (Alma vd., 2004).

P. vera yaprakları geleneksel olarak analjezik, astrenjan, antitussif, diüretik ve ekspektoran özelliklerinden dolayı ağrı, soğuk algınlığı ve öksürük şikayetlerinde kullanılmaktadır (Mahmaudvand vd., 2016). *P. atlantica* yaprakları ise gıda olarak

tüketilirken aynı zamanda antidiyabetik etkileri ile mide ağrıları ve göz enfeksiyonlarında kullanımı vardır (Bozorgi vd., 2013).

Şekil 2.5

Pistacia türlerinde tanımlanmış triterpenoitler



P. terebinthus yapraklarının mental bozukluklar, kardiyovasküler sistem hastalıkları, güneş çarpması ve yara iyi edici özelliklerinden dolayı kullanımları bildirilmiştir (Batovska ve Inbar, 2024). *P. terebinthus* yaprakları astrenjan, antidiyareik, diüretik, antihipertansif özelliklerinden dolayı kullanılmıştır. Ayrıca sarılık tedavisinde, mide ağrılarında, mantar enfeksiyonlarında ve diyabette de kullanımı mevcuttur (Bozorgi vd., 2013). Ayrıca *P. terebinthus* meyveleri ülkemizde atıştırmalık ve bitkisel kahve olarak tüketilir. Meyvelerinin yağı ise yemeklik yağ olarak kullanılır (Orhan vd., 2012; Altuntaş vd., 2020; Yüksel vd., 2015).

Filistin ve Cezayir’de *P. atlantica* meyveleri karakteristik aromasından dolayı kırılıp ekmek hamuruna eklenmektedir (El Zerey-Belaskri vd., 2022).

2.6 Tezde Araştırılan *Pistacia* Türleri Üzerine Yapılan Aktivite Çalışmaları

Bu kısımda yalnızca tez kapsamında araştırılan türler üzerine yapılan çalışmalar özetlenmiştir. Tez konusuna benzer içerikli veya tez açısından önemli sonuçların paylaşıldığı literatür çalışmaları sonuç tartışma kısmında detaylı irdelenecektir.

Tablo 2.1

Tezde araştırılan Pistacia türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları

Aktivite	Kullanılan Kısım	Sonuç	Kaynak
<i>Pistacia atlantica</i>			
Antioksidan	Yaprak	Nisan-Ekim arası her ay iki farklı lokasyondan toplanan yaprakların %70’lik aseton ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü etkileri 262 ile 677 mg askorbik asit’e eşdeğer (AAE)/g kuru yaprak aralığında bulunmuştur.	Ben Ahmed vd., 2016
Antioksidan	Yaprak	Farklı sezonlarda toplanan bitkilerden su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların DPPH radikal süpürücü etkileri araştırılmış ve IC ₅₀ değerleri erkek bitkiler için 20.6-27.9 mg/mL, dişi bitkiler için 8.5-17.5 mg/mL arasında bulunmuştur.	Gourine vd., 2010
Antioksidan	Yaprak	Hazırlanan metanol ekstrelerinin 0.25 mg/mL’de DPPH radikalini süpürme yüzdesi %91.31 ± 0.58, metal şelatlama kapasitesi ise %13.48 ± 1.16 olarak bulunmuştur.	Pekacar ve Orhan, 2022
Antioksidan	Meyve kabuğu	Hidroalkolik ekstre DPPH• süpürücü etkide BHT’den demir indirgeme gücü kapasitesinin ölçümünde ise askorbik asitten daha etkili bulunmuştur.	Farhoosh vd., 2008
Antioksidan	Meyve	<i>n</i> -Hekzan ile hazırlanan ekstrelerin DPPH• süpürücü etkileri araştırılmış ve ham, orta olgunlukta ve olgun meyvelerin IC ₅₀ değerleri sırasıyla 31.9-33.5 mg/mL, 17.1-31.4 mg/mL ve 32.2-44.6 mg/mL aralığında bulunmuştur.	Guenane vd., 2017
Antioksidan	Yaprak/ Çiçek	Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların β-karoten soldurma gücü ile DPPH• ve ABTS•+ süpürme etkileri araştırılmıştır. Tüm testlerde yaprak uçucu yağı çiçek uçucu yağından daha kuvvetli antioksidan etki göstermiştir (yaprak ve çiçek uçucu yağı için IC ₅₀ değerleri sırasıyla β-karoten için 17-19.1 µg/mL, DPPH• için 23.9-28.6 µg/mL, ABTS•+ için 4.7-6.5 µg/mL).	Labad-Zouad vd., 2017
Antimikrobiyal	Yaprak	Metanol ve etil asetat ekstreleri <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> and <i>Candida albicans</i> ’a karşı denenmiş ve etil asetat ekstresinin <i>S. aureus</i> ’a (20 mm zon çapı), metanol ekstresinin ise <i>B. subtilis</i> ’e oldukça etkili olduğu bulunmuştur.	Othman vd., 2018

Tablo 2.1*(Devam) Tezde araştırılan Pistacia türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları*

Aktivite	Kullanılan Kısım	Sonuç	Kaynak
Antimikrobiyal	Meyve	Soğuk sıkım ve sıcakta devamlı ekstraksiyon ile elde edilen meyve sabit yağları Gram pozitif (<i>S. aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>) ve Gram negatif (<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i>) bakterilere karşı denenmiş ve sıcakta devamlı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen yağın özellikle 3 türe (<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> ve <i>A. baumannii</i>) karşı kuvvetli etkiye sahip olduğu bulunurken, soğuk sıkım yağın etkisiz olduğu gösterilmiştir.	Asma vd., 2016
Antimikrobiyal	Rezin	Rezinden elde edilen uçucu yağ klinik olarak izole edilen 7 bakteri türüne karşı (<i>E. coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Xanthomonas maltophilia</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>S. aureus</i>) test edilmiş ve <i>S. aureus</i> ile <i>Enterococcus faecalis</i> 'e karşı MIC değerleri <10 mg/mL olarak hesaplanmıştır.	Benabderrahmane vd., 2009
Antifungal	Meyve	Taze ve kurutulmuş meyvelerden %80 metanol ekstraktları hazırlanmış ve <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> ve <i>S. cerevisiae</i> 'e karşı etkileri araştırılmıştır. Hem fungistatik hem de fungisidal etkiler gösteren ekstraktların MIC değerleri 6.7-26.7 mg/mL, minimum fungisidal konsantrasyonları (MFK) ise 13-37 mg/mL aralığında bulunmuştur.	Falahati vd., 2015
Antifungal	Yaprak	Su ve metanol ekstraktlarının <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> ve <i>S. cerevisiae</i> 'e karşı etkilerinin değerlendirildiği çalışmada <i>C. albicans</i> ekstraktına karşı oldukça hassas bulunurken <i>C. glabrata</i> en dirençli tür olmuştur. Genel olarak metanol ekstresi su ekstresinden daha etkili bulunmuştur.	Falahati vd., 2015
Antienflamatuvar	Topraküstü kısımları (Yaprak, yaprak sapı, ham meyve)	Su ekstraktlarının <i>in vivo</i> yöntem ile Wistar farelerinde Karragenan ile indüklenen akut ödeme karşı etkileri standart olarak kullanılan indometazin ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. 200 mg/mg ve 400 mg/kg dozlarda ekstraktlar oldukça iyi antienflamatuvar etki göstermiştir (sırasıyla %93 ve %89 redüksiyon)	Hajjaj vd., 2017
Antienflamatuvar	Yaprak	Metanol ekstresi diklofenak ile karşılaştırmalı olarak karragenan ile indüklenen ödeme karşı değerlendirilmiş ve 100 ve 250 mg/kg dozlarda sırasıyla 3 ve 6 saat sonra antienflamatuvar etki göstermiştir. Diklofenak 1.5 saat içinde azaltmıştır.	Amri vd., 2018
Antienflamatuvar	Meyve	Meyve uçucu yağı (100 mg/kg) karragenan enjeksiyonundan sonra 1.5, 3 ve 6 saat içinde sırasıyla %85, %69, %85 oranında ödem redüksiyonu yapmıştır.	Hajjaj vd., 2018
Antienflamatuvar	Rezin	2,4,6-trinitrobenzen sülfonik asit ile indüklenmiş kronik enflamatuvarlı bağırsak hastalığına sahip fare modellerinde ülseratif iyileşme, ülserli bölgede makrofaj ile lenfosit azalması ve submukozal katmanda düşük polimorfonükleer infiltrasyon gözlenmiştir.	Gholami vd., 2016
Antikolinesteraz	Yaprak	Sulu ekstre 25 µg/mL konsantrasyonda %100 inhibisyon göstermiştir.	Benamar vd., 2010

Tablo 2.1*(Devam) Tezde araştırılan Pistacia türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları*

Aktivite	Kullanılan Kısım	Sonuç	Kaynak
Antiproliferatif	Yaprak / Gövde	Farklı polaritedeki ekstrakter HeLa hücre hattına karşı test edilmiş ve etil asetat ekstrakterinin 20 saat sonunda ve 250 µg/mL’de %100 inhibisyon yaptığı gözlenmiştir. Düşük dozlarda ise (100, 50 µg/mL) orta etki saptanmıştır.	Achili vd., 2020
Antiproliferatif	Yaprak	Etanolik ekstre sitotoksik etki açısından AGS (insan gastrik karsinom) ve HeLa (serviks adenokarsinom) hücre hatlarına karşı MTT ile test edilmiş ve 48 saat sonunda AGS, HeLa ve HDFs (insan deri fibroblast hücreleri) karşısında IC ₅₀ değerleri sırasıyla 382, 332 ve 896 µg/mL olarak bulunmuştur.	Hashemi vd., 2017
Antikolinesteraz	Yaprak / Çiçek	Yaprak ve çiçek uçucu yağlarının IC ₅₀ değerleri sırasıyla 18.5 ± 0.5 ve 20.5 ± 0.5 µg/mL olarak bulunmuştur.	Labeed-Zouad vd., 2017
Antikolinesteraz	Yaprak / Gövde	Etil asetat, <i>n</i> -butanol ve metanol ekstrakterinden gövde metanol ekstresi en etkili örnek olarak bulunmuş ve IC ₅₀ değeri 15.14±0.74 µg/mL olarak bulunmuştur (galantamin IC ₅₀ 6.27±1.15 µg/mL).	Achili vd., 2020
Antidiyabetik	Yaprak	Sulu aseton ekstrakterinin α-amilaz ve α-glukozidaz inhibisyon özellikleri araştırılmıştır. IC ₅₀ değerleri 14 ile 48 µg/mL aralığında bulunmuş ve pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozdan daha yüksek etkiler gözlemlenmiştir. Metil gallat ve tetragalloil glukoz yalnızca α-glukozidaz inhibisyonu yaparken glukogallin, kinik asit ve galloilkinik asit α-amilaz inhibisyonundan sorumlu bileşikler olarak yorumlanmıştır. Gallik asit, gentisik asit ve digalloil kinik asit her iki enzimi de inhibe etmiştir.	Ben Ahmed vd., 2018
Antidiyabetik	Yaprak	Yaprak metanol ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile hazırlanan alt fraksiyonlardan etil asetat; poliamit dolgulu kolon ile fraksiyonlanmış ve daha sonra en aktif fraksiyondan da C18 fraksiyonlaması gerçekleştirilmiştir. Tüm elde edilen ekstre ve fraksiyonların α-amilaz, α-glukozidaz, pankreatik lipaz ve pankreatik kolesterol esterase inhibisyonları araştırılmıştır. Özellikle yaprak metanol ekstresi ve <i>n</i> -hekzan alt ekstresi pankreatik kolesterol esterase simvastatininden daha kuvvetli inhibe ettiği bulunmuştur. Ayrıca α-amilaz ve α-glukozidaz üzerinde de kuvvetli inhibitör etkiler gözlemlenmiştir.	Pekacar ve Orhan, 2022
Antidiyabetik	Yaprak	Metanol ekstresi üzerinden gerçekleştirilen aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmaları neticesinde tannik asit’in α-amilaz, α-glukozidaz ve pankreatik lipaz üzerindeki etkinlikleri ortaya koyulmuş ve <i>in silico</i> çalışmalar ile desteklenmiştir.	Pekacar, 2024
Antidiyabetik	Yaprak	Farklı zamanlarda ve farklı yerlerden toplanan yaprakların sulu aseton ekstrakterinin Anjiyotensin-I Dönüştürücü Enzim (ACE-I) üzerine etkileri araştırılmış ve ortalama IC ₅₀ değeri 102 ± 10.2 µg/mL olarak hesaplanmıştır.	Ben Ahmed vd., 2018
Antitirozinaz	Meyve	Olgunlaşmamış meyveden hazırlanan %70 metanol ekstresinin IC ₅₀ değeri 0.7 ± 0.1 mg/mL olarak belirlenmiştir.	Belyagoubi-Benhammou vd., 2024

Tablo 2.1*(Devam) Tezde araştırılan Pistacia türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları*

Aktivite	Kullanılan Kısım	Sonuç	Kaynak
Antiviral	Yaprak	%80 etanol ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyon ile hazırlanan <i>n</i> -hekzan-kloroform-etil asetat- <i>n</i> -butanol fraksiyonlarının adenovirüs üzerine olan etkileri araştırılmış ve <i>n</i> -butanol en etkili fraksiyon olarak bulunmuştur (IC ₅₀ 16.4 µg/mL).	Karimi ve Gafourian, 2020
<i>Pistacia lentiscus</i>			
Antioksidan	Yaprak	Kloroform ekstresinin metanol fraksiyonu DPPH ve ABTS ⁺ radikal süpücü etki bakımından incelenmiştir. DPPH için IC ₅₀ 2.9 µg/mL, ABTS için ise IC ₅₀ 0.6 µg/mL olarak bulunmuştur.	Pacifio vd., 2014
Antioksidan	Yaprak	Hazırlanan metanol ekstresinin antioksidan aktivitesi DPPH ve β-karoten soldurma yöntemleri ile incelenmiş ve IC ₅₀ değerleri sırasıyla 0.008 mg/mL ve 0.12 mg/mL olarak bulunmuştur.	Amesis-Ouchemouk h vd., 2014
Antioksidan	Yaprak ve meyve	Metanol ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve IC ₅₀ değerleri sırasıyla yaprak için 0.121 mg/mL, meyve için ise 0.26 mg/mL olarak bulunmuştur.	Hemma vd., 2018
Antioksidan	Meyve	Hazırlanan su, <i>n</i> -butanol ve etil asetat ekstrelerinin 100 µg/mL konsantrasyonda DPPH radikali üzerine etkileri incelenmiş ve etil asetat ekstresi %98.32 süpürme gücü ile en kuvvetli etkiyi göstermiştir.	Abdelwahed vd., 2008
Antioksidan	Yaprak	Sıcakta devamlı ekstraksiyon ile diklorometan, etil asetat, etanol, metanol ve su ekstreleri hazırlanmış ve etanol ekstresi DPPH metodunda pozitif kontrol olan BHA'dan daha kuvvetli bulunmuştur. Demir İndirgeme gücünde (FRAP) metanol ekstresi en etkili bulunurken β-karoten soldurma testinde 2 mg/mL konsantrasyonda tüm ekstreler kuvvetli etki göstermiştir (%79.66 ± 0.43 – 90.30 ± 0.67).	Salhi vd., 2019
Antibakteriyel	Yaprak	Su ekstresinin etkisi disk difüzyon yöntemi ile incelenmiş ve maksimum zon çapı 12 mm ile <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) üzerinde gözlemlenmiştir.	Ghenima vd., 2015
Antibakteriyel	Yaprak	Sıcakta devamlı ekstraksiyon ile sırasıyla diklorometan, etil asetat, etanol, metanol ve su ekstreleri hazırlanmış ve <i>B. subtilis</i> ve <i>E. coli</i> suşlarına karşı etil asetat en etkili ekstre (zon çapı sırasıyla 12 ± 0.4 mm ve 12 ± 0.7 mm) olarak bulunurken etanol ve metanol ekstreleri benzer etkiler göstermiştir.	Salhi vd., 2019
Antibakteriyel	Yaprak ve meyve	Su distilasyonu ile elde edilen yaprak uçucu yağı <i>Proteus mirabilis</i> üzerinde en kuvvetli etkiyi gösterirken (35 ± 1.33 mm) meyve uçucu yağı 33 ± 2.5 mm inhibisyon alanı sergilemiştir. Meyve uçucu yağı, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'ya (IH) karşı en düşük MİK değerini (%0.125 (h/h)) göstermiştir. Ayrıca, etki <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı membran geçirgenliği ve membran bütünlüğü testleri kullanılarak incelenmiştir. Yaprak uçucu yağları, <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı kuvvetli bakteriyostatik ve bakterisidal etkiler göstererek, MİK ve MBK değerlerinin %0.25 (h/h) olduğunu ortaya koymuştur.	Bouyahya vd., 2019

Tablo 2.1*(Devam) Tezde araştırılan Pistacia türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları*

Aktivite	Kullanılan Kısım	Sonuç	Kaynak
Antidiyabetik	Yaprak ve meyve	Etanolik ekstrater streptozotosin ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda referans ilaç olan glibenklamid ile benzer etkiler göstermiştir.	Mehenni vd., 2016
Antienflamatuvar	Yaprak ve meyve	ATP veya H ₂ O ₂ 'ye maruz bırakılmış makrofaj hücrelerinden salınan interlökin-1 β ölçümleri incelenmiş ve yaprak metanol ekstresi 100 μ g/mL dozda asetilsalisilik asit ile karşılaştırılabilir derecede etki göstermiştir.	Remila vd., 2015
Antienflamatuvar	Yaprak	Su distilasyonu elde edilen uçucu yağın antiinflamatuvar etkinliği <i>in vitro</i> COX-1 ve COX-2 enzim inhibisyonu potansiyelleri üzerinden değerlendirilmiştir. 50 μ g/mL'de COX-1 ve COX-2 için sırasıyla %26.3 ve %8.5 inhibitör özellik gösterirken 350 μ g/mL konsantrasyonda ise bu oranlar %55.6 ve %74.9 olarak bulunmuştur.	Jaradat vd., 2022
Antienflamatuvar	Yaprak	Dekoksasyon yöntemi ile su ekstresi ve sıcakta devamlı ekstraksiyon ile kloroform, etil asetat ve metanol ekstrateri elde edilmiş ve antienflamatuvar etkileri karagen ile indüklenmiş sıçan pençe ödemi metodu ile incelenmiştir. İntraperitoneal uygulamadan sonra etil asetat ekstresi en etkili olarak bulunurken tüm ekstrater doza bağımlı aktivite göstermiştir.	Dellai vd., 2013
Antienflamatuvar	Yaprak	Maserasyon ile metanol, dekoksiyon yöntemi ile su ekstrateri hazırlanmış ve üç farklı enflamasyon modelinde denenmiştir. Farelerde Kroton yağı ile indüklenmiş kulak ödemi modelinde 2 mg/kulak dozunda metanol ekstresi %65, su ekstresi ise %51 oranında ödemi azalmıştır. Karagen ile indüklenmiş plevra zarı iltihabı modelinde ise sıçanlarda 400 mg/kg dozda MeOH ve su ekstresi sırasıyla %29 ve %38 oranında nötrofil göçünü engellemiştir. Asetik asit ile indüklenmiş vasküler geçirgenlik modelinde ise farelerde 100 μ g/mL dozda MeOH ve su sırasıyla %81 ve %71 oranında nötrofil kemotaksisini inhibe etmiştir.	Bouriche vd., 2015
Antikanser	Yaprak ve meyve	Hazırlanan %95 EtOH ekstrateri melanoma (B16F10) ve meme (EMT6) kanser hücre hatlarında incelenmiştir. Melanoma hücreleri üzerinde yaprak ve meyve ekstraterlerinin IC ₅₀ değerleri sırasıyla 56.4 μ g/mL ile 58.04 μ g/mL olarak bulunmuş ve orta dereceli bir etki olarak yorumlanmıştır.	Remila vd., 2015
Antikanser	Yaprak	Sulu metanol (8:2, <i>h:h</i>) ekstresinin antikanser etkileri MTT testi ile araştırılmıştır. SK-N-BE(2) ve SH-SY5Y hücre hatları üzerindeki etkileri için IC ₅₀ değerleri sırasıyla 100.4 $\pm$ 1.6 μ g/mL ile 56.4 $\pm$ 1.1 μ g/mL olarak bulunmuştur.	Yemmen vd., 2017
Antikanser	Yaprak ve meyve	Su distilasyon ile elde edilen uçucu yağ RD ve S20b adenokarsinomali hücre hatları üzerinde değerlendirilmiş ve özellikle meyve uçucu yağı hücre hatları için sırasıyla IC ₅₀ 26.43 $\pm$ 2.18 μ g/mL ve 33.02 $\pm$ 2.84 μ g/mL değerlerinde kuvvetli etki göstermiştir.	Bouyahya vd., 2019

Tablo 2.1*(Devam) Tezde araştırılan Pistacia türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları*

Aktivite	Kullanılan Kısım	Sonuç	Kaynak
Antikolinesteraz	Yaprak	Sulu metanol ekstresinin AChE ve BchE enzimleri üzerine etkileri <i>in vitro</i> olarak değerlendirilmiş ve IC ₅₀ değerleri sırasıyla 5.76 ± 0.97 µg/mL ve 28.94 ± 1.48 µg/mL olarak bulunmuştur. Etkilerin referans olarak kullanılan galantaminden daha yüksek olması sebebiyle ileri çalışmalar önerilmiştir.	Moussaoui vd., 2025
Antiparazitik	Yaprak ve meyve	Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların antiparazitik etkileri <i>Leishmania infantum</i> , <i>L. major</i> ve <i>L. tropica</i> suşları üzerinde MTT metodu ile değerlendirilmiştir. Yaprak uçucu yağı <i>L. major</i> 'a karşı önemli sitotoksikite gösterirken (IC ₅₀ = 17.52 ± 1.26 µg/mL); meyve ise IC ₅₀ = 21.42 ± 2.92 µg/mL değeri ile daha düşük aktivite göstermiştir. Öte yandan, <i>L. infantum</i> 'a karşı meyve uçucu yağları daha yüksek aktivite göstererek (IC ₅₀ = 08 ± 0.83 µg/mL) yaprak uçucu yağlarından (IC ₅₀ = 11.28 ± 1.63 µg/mL) daha etkili olmuştur.	Bouyahya vd., 2019
Antiülserojenik	Yaprak	Dekoksasyon yöntemi ile su ekstresi ve sıcakta devamlı ekstraksiyon ile kloroform, etil asetat ve metanol ekstraktları elde edilmiş ve antiülserojenik etkileri HCl/EtOH ile indüklenmiş gastrik ülserli sıçanlarda 25, 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda araştırılmıştır. 200 mg/kg dozda su ekstresi ile 25 mg/kg dozda organik çözücü ekstraktları (%74.9-80.51) referans ilaç simetidininden daha iyi oranda lezyonlu mukozal tabakayı iyileştirmiş ve akut ülser durumlarında etkili olabileceği raporlanmıştır.	Dellai vd., 2013
Hepatotoksik	Yaprak	Sıcak su ekstresi tiyoasetamit ile indüklenmiş hepatotoksikite sıçanlarda incelenmiştir. Uzun süreli kullanım ile antioksidanlarca zengin olan ekstrenin karaciğerde lipid peroksidasyonu düzeyini etkilemeden enflamatuvar, fibrotik ve glutatyon tükenmesi tepkilerini şiddetlendirdiği gözlemlenmiştir.	Ljubuncic vd., 2005
Nöroprotektif	Yaprak	Metanol ekstresinin AChE üzerine olan etkileri galantamin ile karşılaştırılmış ve IC ₅₀ değerleri sırasıyla ekstre için 0.01 mg/mL, galantamin için ise 0.21 ± 0.02 µg/mL olarak bulunmuştur.	Amesis-Ouchemouk h vd., 2014
<i>Pistacia terebinthus</i>			
Antioksidan	Yaprak	Yapraklardan hazırlanan etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının antioksidan etkileri DPPH, ABTS, CUPRAC ve FRAP metotları ile araştırılmıştır. Tüm metotlarda metanol ekstresi en kuvvetli etkiyi yaparken etil asetat ekstraktları en zayıf antioksidan aktiviteyi göstermiştir.	Uysal vd., 2022
Antioksidan	Meyve	Ham ve olgun meyvelerden hazırlanan metanol ekstresinin antioksidan etkinlikleri DPPH, ABTS ve FRAP yöntemleri ile incelenmiştir. Olgun meyvelerin DPPH ve ABTS radikal süpürücü özelliklerinin ham olanlara göre daha kuvvetli olduğu saptanırken FRAP metodunda olgun ve ham meyve etkinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.	Fidan vd., 2023

Tablo 2.1*(Devam) Tezde araştırılan Pistacia türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları*

Aktivite	Kullanılan Kısım	Sonuç	Kaynak
Antibakteriyel	Yaprak Pedikül Meyve Mazı	Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlar özellikle <i>S. aureus</i> suşuna karşı aktivite göstermiştir. Gal uçucu yağı %0.032–0.128 h/h aralığında MİK90 değeri göstermiştir. Yaprak ve pedikül uçucu yağları ise sırasıyla %0.064–0.128 ve %0.032–0.256 h/h aralığında MİK90 değerleri ile yüksek aktivite göstermiştir.	Pulaj vd., 2016
Antifungal	Yaprak	Tunus ve İtalya kaynaklı yaprak uçucu yağları su distilasyonu ile elde edilmiş ve antifungal etkileri araştırılmıştır. Tunus uçucu yağı, İtalyan olanından daha yüksek antifungal aktivite sergilemiştir. <i>Cryptococcus neoformans</i> (CECT 1078) ve dermatofitlerin çoğu, özellikle <i>Trichophyton rubrum</i> (CECT 1078), <i>Microsporum canis</i> (FF1) ve <i>Epidermophyton floccosum</i> (FF9) gibi suşlar, <i>Candida</i> suşlarına kıyasla Tunus yağına daha duyarlı bulunmuştur; minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum lökosit öldürücü konsantrasyon (MLK) değerleri 0.16–0.32 µL/mL aralığında raporlanmıştır.	Piras vd., 2017
Antidiyabetik	Meyve	Meyvenin farklı kısımlarından (bütün, kabuk) hazırlanan <i>n</i> -hekzan, aseton ve etanol ekstralarının α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Tüm ekstralar α -glukozidaz üzerine pozitif kontrol olan akarbozdan daha kuvvetli inhibitör aktivite göstermiştir (IC ₅₀ akarboz 10.3 mg/mL, IC ₅₀ ekstralar 0.19-2.13 mg/mL). α -amilaz üzerinde ise zayıf etkiler gözlemlenmiştir.	Akyuz vd., 2022
Antidiyabetik	Yaprak	Yapraklardan maserasyon ile hazırlanan etil asetat, metanol ve su ekstralarının diyabet ile ilişkilendirilen α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri üzerine olan etkinlikleri mmol akarboz'a eşdeğer olarak hesaplanmıştır (mgAKE/gekstre). α -amilaz üzerine metanol ekstresi 1.15 ± 0.02 mg AKE/gekstre ile en kuvvetli etkiyi göstermiştir. Glukozidaz inhibisyonunda ise su ve metanol ekstraları en kuvvetli etkiyi gösterirken etkinlikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p < 0.05$, 14.55 ± 0.02 ve 14.48 ± 0.08 mgAKE/gekstre). <i>E. coli</i> kaynaklı β -glukozidaz enzimi üzerine %80 EtOH ekstresinin etkileri araştırılmış ve kuvvetli inhibisyon gözlemlenmiştir (IC ₅₀ 2.1 ± 0.2 µg/mL). Kolonda artan toksin miktarıyla ilişkilendirilen bu enzim üzerine kinetik çalışmalar ile yarışmalı/yarışmasız inhibisyonun karışımı şeklinde etki ettiği anlaşılan ekstrenin kolon kanserinde önleyici olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir.	Uysal vd., 2022
Antikanser	Yaprak	<i>E. coli</i> kaynaklı β -glukozidaz enzimi üzerine %80 EtOH ekstresinin etkileri araştırılmış ve kuvvetli inhibisyon gözlemlenmiştir (IC ₅₀ 2.1 ± 0.2 µg/mL). Kolonda artan toksin miktarıyla ilişkilendirilen bu enzim üzerine kinetik çalışmalar ile yarışmalı/yarışmasız inhibisyonun karışımı şeklinde etki ettiği anlaşılan ekstrenin kolon kanserinde önleyici olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir.	Kavak vd., 2010
Antikanser	Rezin	Rezinlerin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerindeki etkisini incelemiş ve MTT metodunda IC ₅₀ değerini 56.54 µg/mL bulmuşlardır. Apoptozun değerlendirilmesi aşamasında ise rezinlerin kaspaz-bağımlı apoptoz sinyal yolağını etkilemediği gözlemlenmiştir.	Fırat vd., 2024

Tablo 2.1(Devam) Tezde araştırılan *Pistacia* türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları

Aktivite	Kullanılan Kısım	Sonuç	Kaynak
Antiobezite	Yaprak	Flavonoidlerce zengin ekstrelerin pankreatik triaçilgliserol lipaz ve amilaz üzerine etkinlikleri incelenmiştir. IC ₅₀ değerleri sırasıyla lipaz için 35 µg/mL, amilaz için ise 9 µg/mL olarak bulunmuş ve ayrıca kolorektal kanser hücrelerine karşı da sırasıyla HT29 hücre hattı için IC ₅₀ 99 µg/mL ve SW480 içinse IC ₅₀ 56 µg/mL aktivite göstermiştir. Bu sonuçlara göre metabolik ve kolorektal kanserin önlenmesinde potansiyel taşıdığı rapor edilmiştir.	Hamlat vd., 2024
Kardiyoprotektif	Yaprak / Meyve	%80 etanol ekstrelerinin izoproterenol (ISO)-indüklü Miyokard enfarktüsü üzerine olan etkileri Sprague-Dawley sıçanlarında araştırılmıştır. Çalışma sonunda düşük ve yüksek doz ekstrelerin TNF-α, IL-1β, IL-6, Troponin T düzeylerini önemli ölçüde azalttığı, antioksidan enzim aktivitelerini, GSH ve IL-10 düzeylerini iyileştirdiği ve oksidatif stres ile enflamasyonu baskılayarak kardiyak biyobelirteçleri ve histopatolojik değişimleri düzelttiği ortaya konmuştur.	İçen vd., 2024
Nöroprotektif	Meyve	Hazırlanan metanol ve etil asetat ekstreleri 200, 100, 50 ve 25 µg/mL'de AChE ve BChE üzerinde denenmiş ve AChE üzerine etkinlik saptanmamıştır. Seçici olarak BChE üzerine ise %50'nin altında inhibitör etkinlik gözlemlenmiştir.	Orhan vd., 2012
Nöroprotektif	Yaprak	Yapraklardan maserasyon ile hazırlanan etil asetat, metanol ve su ekstrelerinin asetilkolinesteraz ve bütilkolinesteraz üzerine olan etkileri galantamine eşdeğer olarak belirlenmiştir (mg _{GALAE} /g _{ekstre}). Metanol ekstresi 4.78 ± 0.02 mg _{GALAE} /g _{ekstre} (AChE) ve 3.61 ± 0.02 mg _{GALAE} /g _{ekstre} (BChE) değerleri ile en kuvvetli etkiyi göstermiştir.	Uysal vd., 2022
Antimikrobiyal	Yaprak	%80 EtOH ekstresi <i>S. aureus</i> ATCC 29213 suşuna karşı test edilmiş ve MIK değeri < 1.56 mg/mL olarak bulunmuştur.	Kavak vd., 2010
<i>Pistacia vera</i>			
Anti- <i>Helicobacter</i>	Zamk	Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın 12 farklı <i>H. pylori</i> izolatına karşı etkileri disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış ve sonuçlar amoksisilin ve metronidazol ile karşılaştırılmıştır. Uçucu yağ için %0.01-%0.1 konsantrasyon aralığında 7-24 mm zon çapı hesaplanırken 25 µg amoksisilin için 7-14 mm, metronidazol için 5 µg 7-13 mm zon çapı hesaplanmıştır.	Ramezani vd., 2004
Antioksidan	Meyve kabuğu	Uzun ve Ohadi kültürlerinden elde edilen meyve kabuklarından %75 metanol ile fenolik ekstre hazırlanmış, kimyasal profilleri ortaya konmuş ve ekstrelerden 11 madde izole edilmiştir. Antioksidan etkileri DPPH radikal süpürücü etki ve ABTS ^{•+} süpürücü etki ile araştırılmıştır ve sonuçlar mM _{Troloksa} eşdeğer/kg olarak hesaplanmıştır. Uzun kültürü Ohadiden daha yüksek radikal süpürücü etki göstermiştir.	Sonmezdag vd., 2017

Tablo 2.1*(Devam) Tezde araştırılan Pistacia türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları*

Aktivite	Kullanılan Kısım	Sonuç	Kaynak
Antioksidan	Yaprak	Erkek ve dişi ağaç yapraklarının %50 etanol ekstresi hazırlanmış ve antioksidan aktiviteleri DPPH [•] , ABTS ^{•+} ve FRAP yöntemleri ile incelenmiş ve sonuçlar mg _{TE} /g _{kuru} ekstre olarak verilmiştir. ABTS ^{•+} ve FRAP sonuçlarında dişi yaprak ekstreleri daha etkili bulunurken DPPH radikal süpürücü etkide erkek yapraktan hazırlanan ekstre daha iyi antioksidan özellik göstermiştir.	Elakremi vd., 2022
Antienflamatuvar	Yaprak	Yapraklardan hazırlanan infüzyon ve %80 etanol ekstresinin antienflamatuvar etkilerinin araştırılması için dişi ve erkek albino sıçanlar kullanılmıştır. Antinosiseptif etkilerin araştırıldığı çalışmada diklofenak ve morfin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuçlar ekstre ve infüzyonun çevresel ve santral antinosiseptif özelliklerinin olduğunu ve buna ek olarak akut ve kronik enflamasyona karşı da kullanılabileceğini göstermiştir. Akut enflamasyonda ksilen ile indüklenmiş kulak ödemi modeli oluşturulmuş ve etanol ekstresinin infüzyondan daha etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca kronik enflamasyonda etanol ekstresi diklofenaktan daha kuvvetli etki göstermiştir.	Hosseinzade h vd., 2011
Antienflamatuvar	Meyve	Ham ve kavrulmuş meyveler <i>n</i> -hekzan ile lipitlerinden kurtarılmış ve ardından %0.1 HCl içeren metanol ile fenoliklerce zengin ekstre hazırlanmıştır. Karragenan ile indüklenen ödem üzerine antienflamatuvar özelliklerini değerlendirmek için Sprague-Dawley erkek sıçanları kullanılmıştır. Ekstrenin düşük dozlarda dahi TNF- α ve IL-1 β düzeylerini önemli derecede azaltarak antienflamatuvar etkinlik gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca iNOS, COX2 ve NO formasyonu üzerinden etki göstererek antioksidan özellikleri de belirlenmiştir.	Paterniti vd., 2017
Antidiyabetik/ Antiobezite	Yaprak	Yaprakların %80 etanol ekstresi, petrol eteri, kloroform, etil asetat, <i>n</i> -butanol ve kalan sulu kısım şeklinde sıvı-sıvı ekstraksiyon ile fraksiyonmuştur. Bu ekstre ve alt fraksiyonların karbonhidrat, yağ ve kolesterol değerleri üzerine olası etkileri α -amilaz, α -glukozidaz, pankreatik lipaz ve kolesterol esteraz enzimleri hedeflenerek araştırılmıştır. Ham ekstrenin α -amilaz ile α -glukozidaz üzerine kuvvetli inhibitör özellik gösterdiği (IC ₅₀ sırasıyla 7.74 $\pm$ 0.72 ve 11.08 $\pm$ 3.96 μ g/mL) belirlenmiştir. Ekstre ayrıca pozitif kontrol olan orlistat (IC ₅₀ 4.09 $\pm$ 1.08 μ g/mL) ile karşılaştırıldığında zayıf pankreatik lipaz inhibisyonu (IC ₅₀ 168.43 $\pm$ 26.1 μ g/mL) gösterirken kolesterol esteraz üzerine etki göstermemiştir. Etil asetat alt fraksiyonu α -amilaz ve α -glukozidaz'ı ham ekstreden daha kuvvetli inhibe ederken alt fraksiyonların hiçbirisi pankreatik lipaz ve kolesterol esteraz üzerine etki göstermemiştir.	Gok vd., 2022

Tablo 2.1*(Devam) Tezde araştırılan Pistacia türleri üzerinde yapılmış aktivite çalışmaları*

Aktivite	Kullanılan Kısım	Sonuç	Kaynak
Antimikrobiyal	Yaprak/ Gövde/ Dal/ Meyve kabuğu/	Gaziantep ve Siirt yörelerinden toplanan materyallerden <i>n</i> -hekzan ile lipofilik ekstrakter hazırlanmıştır. Bu ekstrakter antibakteriyal ve antikandidal etkileri bakımından araştırılmış ve bunu için; <i>E. coli</i> (ATCC 35218), <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 10145), <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212), <i>S. aureus</i> (ATCC 25923), <i>C. albicans</i> (ATCC 10231) ve <i>C. parapsilosis</i> (ATCC 22019) suşları kullanılmıştır. MIC değerleri 16 ile 256 µg/mL aralığında bulunmuş ve genel olarak pozitif kontrol olarak kullanılan ofloksazin, ampicilin, ketonazol ve flukonazolden daha zayıf etki gözlemlenmiştir.	Özçelik vd., 2005
Antiviral	Yaprak/ Gövde/ Dal/ Meyve kabuğu	Gaziantep ve Siirt yörelerinden toplanan materyallerden <i>n</i> -hekzan ile hazırlanan ekstrakterin <i>Herpes simplex</i> ve <i>Parainfluenza</i> virüslerine karşı olan etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar pozitif kontrol olarak kullanılan Asiklovir ve Oseltamivir ile karşılaştırılmış ve bazı ekstrakterin pozitif kontroller kadar veya onlardan daha etkili antiviral özellik gösterdikleri belirlenmiştir.	Özçelik vd., 2005
Antimikrobiyal	Yaprak	Su distilasyonu ile uçucu yağ ve sıcakta devamlı ekstraksiyon (petrol eteri, PE) ekstraksiyonu ile ekstre elde edilmiş ve disk difüzyon yöntemi ile 7 farklı suşa karşı etkileri araştırılmıştır. Uçucu yağ (17-25 mm) tüm suşlara karşı ekstrede (10-19 mm) daha kuvvetli etki göstermiştir.	Elakremi vd., 2023
Yara iyi edici	Meyve kabuğu	%80 metanol ekstresi fraksiyonlamış ve yara iyi edici özellikleri NIH/3T3 fare fibroblast hücrelerinde araştırılmıştır. Kloroform fraksiyonu ve ana komponent olan 3-epimastikadionelik asit en kuvvetli etkiyi göstermiştir. 3-epimastikadionelik asit 200 µg/mL'de fibroblast proliferasyonunu artırmış ve yarasında %45'lik bir azalmaya neden olmuştur.	Sarkhail vd., 2020
Yara iyi edici	Oleorezin	Majör bileşeni α -pinen olan oleorezinden %5'lik vazelin ile preparat hazırlanmış ve tavşanlarda 16 günlük tedavinin ardından yarada büyük bir küçülme meydana gelmiştir. Sonuçlar yaralarda sık kullanılan kullanılan Cicatryl krem ile karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.	Boudjelal vd., 2022
Antielastaz	Meyve kabuğu	%80 etanol ekstresi 666 µg/mL'de elastaza karşı %64.33 $\pm$ 1.83 inhibisyon göstermiş ve IC ₅₀ değeri 640.33 $\pm$ 4.37 µg/mL olarak hesaplanmıştır.	Deniz vd., 2021
Antikolajenaz	Meyve kabuğu	%80 etanol ekstresi 666 µg/mL konsantrasyonda %50.33 $\pm$ 4.68 oranında inhibisyon göstermiş ve IC ₅₀ değeri 659.8 $\pm$ 2.99 µg/mL olarak belirlenmiştir.	Deniz vd., 2021
Antitirozinaz	Meyve kabuğu	Meyve kabuğundan hazırlanan su ekstresinin tirozinaz aktivitesi incelenmiş ve IC ₅₀ değeri 0.7 mg/mL olarak bulunmuştur.	Fattahifar vd., 2018
Antitirozinaz	Meyve kabuğu	%80 etanol ekstresi 666 µg/mL'de %6.75 $\pm$ 1.92 oranında inhibisyon gözlemlenmiştir.	Deniz vd., 2021
Antitirozinaz	Meyve kabuğu	Meyve kabuğundan hazırlanan %80 metanol ekstresinin tirozinaz aktivitesi incelenmiş ve IC ₅₀ değeri 0.72 mg/mL olarak bulunmuştur.	Sarkhail vd., 2017

2.7 Tezde Araştırılan *in vitro* Aktivitelerle İlgili Genel Bilgiler

2.7.1 Antioksidan aktivite

Oksijenli solunum yapan canlıların elektron taşıma sistemlerinde (ETS) çeşitli enzimler aracılığıyla ve bazı indirgenme basamakları neticesinde oluşan oksijen, reaksiyonu tamamlayamadan ortamdaki uzaklaşır. Bu durum hücresel metabolizma esnasında rutin olarak meydana gelmekte ve oksijen molekülü indirgenme reaksiyonunu tamamlamak için her türlü hücresel materyale zarar verme eğilimine giren reaktif bir türe dönüşmektedir (Cadenas ve Daives, 2000). Oluşan reaktif oksijen türleri (ROT) canlı dokuda bulunan glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon S transferaz, endojen glutatyon, süperoksit dismutaz, katalaz ve diğer antioksidanlar (A, C, E vitaminleri) ile nötralize edilerek doku fonksiyonlarının normal düzeylerde sürdürülmesini sağlar (Urso ve Clarkson, 2003). Oluşan ROT'lar çeşitli sebeplerden dolayı endojen savunma mekanizması tarafından non-reaktif hale çevrilememeye başladığında denge bozulup ROT'lara doğru kayar ve canlıda oksidatif stres durumu oluşur (Yeum vd., 2004).

Değişen yaşam koşulları canlı organizmanın kronik bir şekilde oksidatif strese maruz kalmasına yol açmaktadır. Hava kirliliği, ultraviyole radyasyon, beslenme alışkanlıklarının değişmesi, sigara dumanı gibi sebepler en bilinen etkenlerdendir ve uzun dönemde endojen antioksidan savunma mekanizmalarını yetersiz bırakarak hücresel oksidatif hasara neden olur. Bu sebeple ekzojen kaynaklı doğal antioksidan bileşiklerin keşfi ve savunma mekanizmalarının aydınlatılması önem arz etmektedir.

2.7.2 Tirozinaz enzimi

Tip III bakır içeren oksidoredüktazlar (EC 1.14.18.1) grubuna ait olan tirozinaz merkezlerinde bulundukları bakırın yapısına bağlı olarak katalitik aktivitesi esnasında üç tipte bulunur: oksi-tirozinaz (E_{oksi}), met-tirozinaz (E_{met}) ve deoksi-tirozinaz (E_{deoksi}). Monofenollerin (tirozin) *o*-hidroksilasyonu ile *o*-difenol (L-DOPA) türevlerine (monofenolaz) ve bunların da devam eden oksidasyon ile *o*-kinon (dopakinon) ürünlerine (difenolaz) dönüşümünü katalize eder (Şekil 2.7). Bu iki basamak melanin sentezinde hız kısıtlayıcıdır (Chang, 2012). Bu reaksiyonlar esnasında iki *o*-dopakinon molekülü kendi arasında tepkimeye girerek bir adet *o*-difenol (L-DOPA) molekülü ve bir dopakrom molekülünün olduğu farklı reaksiyonlar da meydana gelmektedir. Dopakinon oluşumu esnasında ortaya çıkan 5,6-dihidroksiindol ve 5,6-dihidroksiindol-2-karboksilik asit oto-

oksidasyon reaksiyonları sonucu ‘ömelanin’i oluşturur. Bu form siyah-kahverengi renkten sorumludur. Bir diğer form, ‘feomelanin’, sistein ya da glutatyon varlığında oluşur ve turuncu renkten sorumludur (Mitra vd., 2012). Ömelanin ultraviyole (UV) absorpsiyonundan sorumlu ana melanindir.

Melanogenez ve cilt pigmentasyonu, UV radyasyon kaynaklı hasara ve cilt kanserine karşı en önemli fotoprotektif faktörlerdir. Tirozinaz eksikliği veya yokluğu sebebiyle oluşan melanin kaybı ve depigmentasyon (tip I okülokütanoz albinizm vb.) ciddi dermatolojik problemlere yol açabilir. Diğer yandan artan enzim aktivitesi kaynaklı aşırı melanin sentezi ve birikimi, *Acanthosis nigricans*, servikal poikilodermi, melasma, periorbital hiperpigmentasyon, lentiginler, Parkinson ile ilişkili nörodejerensasyon ve cilt kanseri gibi birçok cilt hastalığında görülmektedir (Cestari vd., 2014; Dogra ve Sarangal, 2014; Nouveau vd., 2016). Bunlara ek olarak gıda sektöründe tirozinaz hasat sonrası esmerleşmeden sorumlu olduğu için ürün ömrü ve kalitesini lojistik süreçlerde önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Bu sebeplerin neticesinde tirozinaz inhibisyonu sağlık, kozmetik ve gıda endüstrilerinde önemli bir hedef haline gelmiştir.

2.7.3 Elastaz enzimi

Elastik lifler bağ dokular arasındaki ekstraselüler matriksin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Her bir elastik lif esas olarak lifin %90'ından fazlasını kaplayan ve dış mikrofibrillerden oluşan bir zarfla çevrelenen amorf bir elastin çekirdeğinden oluşur. Fibrillin mikrofibrilleri dokuların deformasyonu sırasında uzayabilirlik ve elastisite sağlar. Dokularda mekanik esneklik, dayanıklılık sağlanmasında ve hücre etkileşiminde önemli bir rol oynayan elastik liflerin birleştirilmesinde çok çeşitli fibrillin bağlayıcı proteinler bulunur (Thomson vd., 2019; Vrhovski ve Weiss, 1998).

Elastin, elastin'e yüksek seviyede çözünmezlik veren lizil-oksidaz enzimi tarafından gerçekleştirilen oksidasyonun ardından Lys kalıntıları arasında büyük bir çapraz bağlanma sergileyen hidrofobik bir proteindir. Bu protein yüksek miktarda hidrofobik aminoasit içermektedir. Tropoelastinin (elastinin alt birimleri) sentezi, koaservasyonu, çapraz bağlanması ve birikmesini içeren elastik liflerin oluşum sürecine elastogenez adı verilir (Ozsvar vd., 2021).

Elastazlar, elastik lifin apolar yapılı amorf bileşenini, yani elastin'i seçici olarak parçalayan bir grup enzimdir. Bu protokatalitik etkisi ile elastini suda çözünebilir

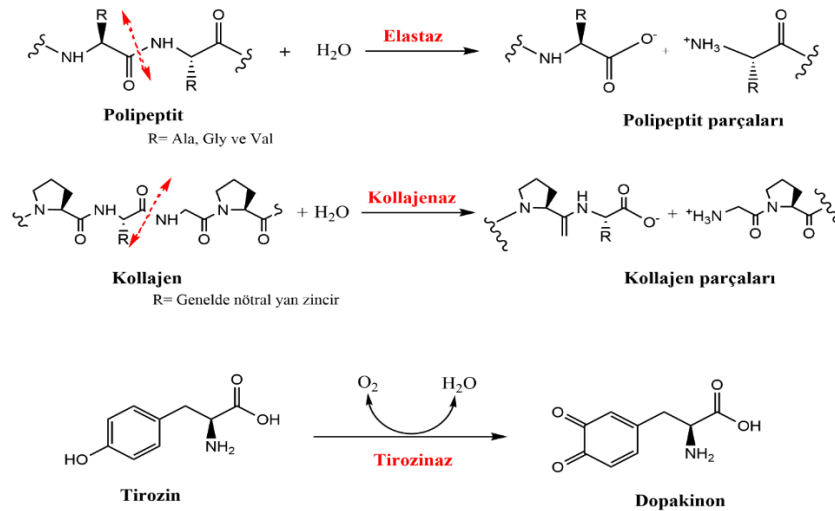
aminoasit parçalarına dönüştürür (Şekil 2.7). Elastazlar insan vücudunun farklı yerlerinde üretilir ve salınır. Enflamasyon veya yaşlılık ile ilişkili olarak çeşitli doku tiplerinde elastik liflerin metabolizmasından ve deri degradasyonundan sorumlu olduğu bilinen iki tip elastaz vardır: İnsan nötrofil elastaz (İNE, EC 3.4.21.37) ve deri fibroblast elastaz (DFE, 3.4.24). İNE nötrofil hücrelerinden, DFE ise fibroblast hücrelerinden salınırken bu iki enzim arasında temel bir substrat özgüllüğü farkı bulunmaktadır (Tsuji vd., 2001). İNE bir serin proteaz enzimi olup proteinaz S1 ailesine aittir. Elastin, kıkırdak proteoglikanları, kollajen tip I, II, III, IV ve fibronektin doğal substralarıdır (Li vd., 2013). DFE ise diğer elastazlardan farklı olarak serin proteazlar sınıfında yer almaz ve membrana bağlı metalloproteaz olarak tanımlanır. Olgun elastik lifler üzerine etkisi sınırlıdır. DFE'nin yapısı, aminoasit dizisi ve kodlandığı gen hakkındaki bilgiler sınırlı olmakla birlikte molekül ağırlığı ve aktivite profilindeki benzerlikler sebebiyle neprilisin (nötr endopeptidaz EC 3.4.24.11, NEP) ile özdeş olabileceğini öne süren çalışmalar mevcuttur (Morisaki vd., 2010).

2.7.4 Kollajenaz enzimi

Matriks metalloproteinazlar (MMP) çinko bağlı endopeptidazlar ailesinin bir üyesidir ve normal fizyolojik süreçler ile patofizyolojik durumlarda ekstraselüler matriks (ESM)'in resorpsiyonunda rol oynamaktadırlar (Kim vd., 2016). Bu enzimler ESM moleküllerinin parçalanmasından sorumludur (Şekil 2.6). Birçok kollajenaz (EC 3.4.24.) MMP üyesidir (MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18) ve kollajenin özel üçlü sarmal bölgesine saldırıp peptit bağlarını kopararak kollajen degradasyonuna sebep olurlar.

Şekil 2.6

Tirozinaz, elastaz ve kollajenazın katalizlediği reaksiyonların özeti



Kolajen, ESM ve bağ dokunun suda çözünmez majör proteinidir ve doğrudan derinin dayanıklılığı ile ilişkilidir. Bilinen 16 tip kolajen vardır ve bunların yaklaşık %80-90'ını tip I, II ve III oluşturur (Fayad vd., 2017). MMP-1, MMP-8 ve MMP-13 kollajen tip I, II, III ve IV'ü parçalar. Yalnızca proteaz enzimleri kollajenin üçlü sarmal bölgesini parçalayabilirken, interstisyel kolajen fibrilleri çoğu proteza karşı direnç gösterir (Sekhon, 2010). Nötrofil kolajenaz (MMP-8, EC 3.4.24.34) interstisyel kolajenleri parçalarken özellikle de tip I kolajene karşı seçicilik gösterir (Mikšík vd., 2006). MMP-8'in aşırı aktivasyonu özellikle doku hasarı ve akut enflamasyon ile ilişkilendirilmektedir. MMP-13 kolajenaz 3 olarak da bilinir ve osteoartrit gibi eklem hastalıklarıyla daha çok ilişkilidir (Suri vd., 2008). Tip II kolajen üzerine daha seçicidir. Bu sebeple eklem kıkırdaklarının yıkımından sorumludur.

MMP-1 (EC 3.4.24.7) interstisyel kolajenaz-1 olarak da bilinir ve dermal fibroblastlar tarafından sentezlenir. Tip I, II ve III'ü parçalayabilme özelliğiyle birlikte deri yaşlanmasında ve foto-aging süreçlerinde rol oynar (Loo vd., 2023). İnsan kaynaklı kolajenazlara ek olarak mikrobiyal patojen olan *Clostridium histolyticum* kaynaklı kolajenaz (EC 3.4.24.3) endüstriyel anlamda önemlidir ve hücre izolasyonu da dahil geniş bir uygulama alanına sahiptir (Alipour vd., 2016).

2.8 Deri Yaşlanmasının Patofizyolojisi

Deri osmotik homeostazda önemli rol oynayan ve vücudu fiziksel, kimyasal ve biyolojik etmenlere karşı koruyan en büyük organdır. Epidermis, dermis ve subkütanoz tabaka olmak üzere üç katmandan oluşur. Epidermis tabakası keranosit, melanosit, langerhans ve merkel hücreleri gibi çeşitli hücre çeşitlerini barındırır. Ayrıca fibroblast, protein, elastin ve kollajen de bu katmanda bulunur (Fulop vd., 2012). Epidermis, *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lucidum* ve *stratum corneum* olmak üzere beş alt tabakadan oluşur. *Stratum corneum*'un temel görevi çevresel faktörlere karşı cildi korumak ve 'doğal nemlendirici faktör' işlevini yerine getirerek ciltteki suyun tutulumunu sağlamaktır. Normal sağlıklı bir ciltte epidermisin bazal tabakasında (*stratum basale*) kök hücre havuzu bulunur ve bu havuz yaşlılıkla birlikte azalır (Yang vd., 2014). Rejenerasyon hızının düşmesine ve cilt yaşlanmasının hız kazanmasına sebep olan bu süreç ESM'nin bozulması ve kolajenaz ile elastaz gibi enzimlerin aktivitesindeki artış ile doğrudan ilişkilidir (Losso vd., 2004).

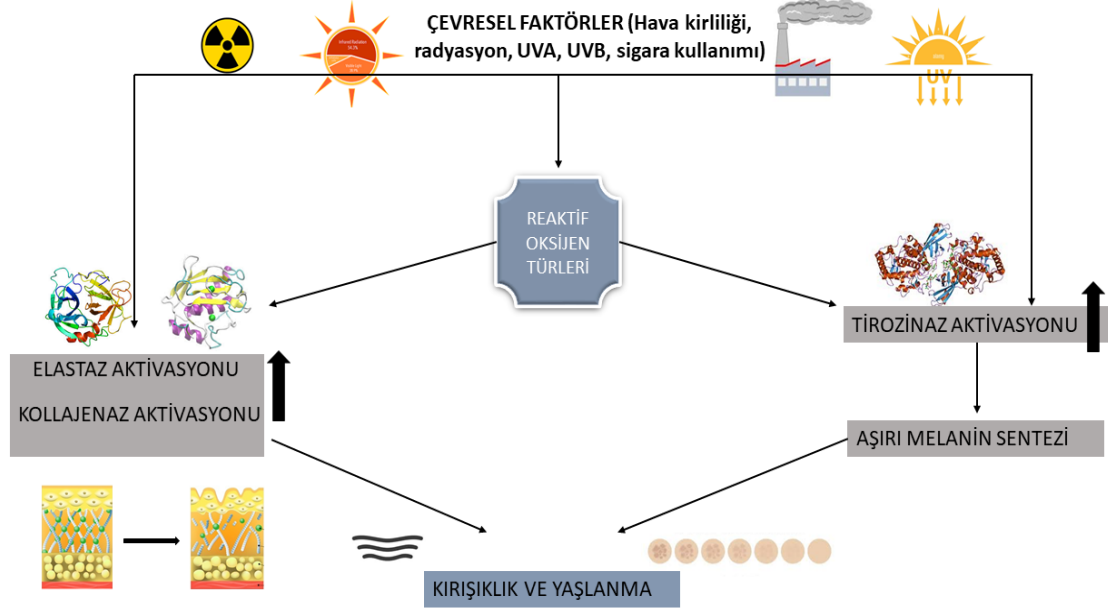
ESM derinin iyileşmesindeki esansiyel bileşenleri içermektedir. ESM komponentlerinin degradasyonu deri yaşlanması ile ilişkilidir ve endojen veya ekzojen kaynaklar bu patofizyolojik süreci etkilemektedir (Farage vd., 2008; Mouw vd., 2014). Endojen sebepler doğal yaşlanma sürecinin bir sonucudur ve genetik olarak önceden belirlenmiştir. UV ışınları, çevre kirliliği, nikotin, beslenme veya tekrarlı kas hareketleri ekzojen faktörlerin en bilindik örneklerindendir ve genellikle kontrol altında tutulabilirler (Koh vd., 2002; Kim vd., 2016).

UV radyasyonu reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna ve hücrel oksidatif hasara sebep olduğu için deri sağlığı üzerinde negatif etkilere sebep olur. Üretilen ROT yeni kan damarı üretim süreci olan anjiyogenezisi indükler (Zhai vd., 2012; Ushio-Fukai ve Nakamura, 2008). Ancak, kronik UV maruziyeti insan cildinde kan damarı sayısını azaltır (Fayad vd., 2017). Bu hasarın üst dermal bağ dokuda elastik lifler, kolajen ve hyaluronik asidin bozulması ile ilişkili olarak belirgin dejeneratif değişikliklere yol açtığı bilinmektedir. ROT hücrel metabolizma esnasında da oluşmakla birlikte çeşitli hücrel mekanizmalarda rol oynar. Melanin cildi UV ışınlarından koruyarak hücrel oksidatif hasarı engelleyen ana faktörlerden biridir ve cilt hücrelerini DNA hasarına karşı korur (Mejía-Giraldo vd., 2016; Wang vd., 2008). Buna paralel olarak, melanin tirozinaz enziminin katalizlediği reaksiyonlar zinciri sonucu oluşurken ortama dopakinon ve dopakrom gibi ara ürünler salınır. Bu esnada O_3 ve H_2O_2 gibi ROT'lar açığa çıkar. Endojen antioksidan savunma mekanizmasında rol oynayan enzimler (glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz) bu normal hücrel süreçlerde ROT'ları non-reaktif hale getirirler. Çeşitli sebeplerle gelişen hiperpigmentasyon ile aşırı melanin sentezi deride ROT oluşumunu vücudun tolere edebileceğinden daha fazla oranda artırır ve bu durum çevre hücrelere de zarar verir.

Normal biyolojik işleyişte MMP enzimleri hücrelerden inaktif prekürsörler olarak salınır ve endojen protein inhibitörleri tarafından transkripsiyonel düzeyde regüle edilirler. Oksidatif stres bu dengenin kaybına ve MMP enzimlerinin aşırı üretimine sebep olarak erken yaşlanma ile birlikte ciddi dejeneratif ve enflamatuvar hastalıklara yol açar (Nisa vd., 2024). Buna ek olarak bir serin proteaz enzimi olan elastaz da artan oksidatif ortamda dermal fibroblast ve nötrofillerden aşırı salınarak dermiste ESM degradasyonu sürecine katılır (Rijken vd., 2006).

Şekil 2.7

Deri yaşlanmasına sebep olan etmenler



Yapılan çalışmalar foto-yaşlanma ile kronik yaşlanmanın benzer oksidatif stresle ilişkili yolları uyardığını, bununla beraber yaşlanma ile ilişkilendirilen olumsuz etkilerin yaklaşık %80'inin foto-yaşlanmadan kaynaklandığını göstermektedir (Nisa vd., 2024). Bu sebeplerle, cilt sağlığının hedeflendiği çalışmalarda ideal bileşik/bileşiklerin uzun süreli kullanım ile toksik etkilerin olmaması, ilgili enzimlerin seçici olarak inhibe ederken aynı zamanda iyi bir antioksidan ve antienflamatuvar etkinlik göstermesi gerekmektedir.

3. YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

Pistacia L. cinsine ait 4 türün yaprakları Ağustos-Eylül 2022 tarihlerinde toplanmıştır. Türler, Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE tarafından teşhis edilmiş ve Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na (ESSE) örnekleri hazırlanmıştır. *P. atlantica* Muğla/Milas Kıyıkışlacık yöresinden Eylül 2022'de (37°17'27.0" K, 27°40'00.5" D, ESSE 16379); *P. lentiscus* Muğla/Milas Boğaziçi yöresi Eylül 2022'de (37°09'44.3" K, 27°33'07.5" D, ESSE 15874) ve *P. terebinthus* Antalya Kumluca bölgesinden Ağustos 2022 (ESSE 15873) yılında toplanmıştır. *P. vera* yaprakları ise Eylül 2022'de Gaziantep yerel üreticilerinden temin edilmiştir. Yapraklar ekstraksiyon öncesi serin ve kuru ortamda kurutulmuştur.

Görsel 3.1

P. atlantica yaprak ve meyve görünümü



Görsel 3.2

P. lentiscus yaprak ve meyve görünümü



Görsel 3.3

P. terebinthus yaprak ve meyve görünümü



Görsel 3.4

P. vera yaprak görünümü



3.2. Kullanılan Aletler

Analitik terazi (Mettler Toledo-MS204S)

Çalkalıyıcı (IKA KS 269 Basic)

ESI-KS (MDS Sciex 3200 Q Trap)

Etüv (WTB BINDER)

Homojenizatör (HeidolphSlientCrusher M)

Mikroplak ısıtıcılı karıştırıcı (BIOSAN Thermoshaker PST 100HL)

Mikroplak okuyucu (BioTekPowerWave XS)

Mini inkübatör (Benchmark)

Nükleer manyetik rezonans spektrometresi (Bruker 400 MHz Ascend sıvı NMR)

pH metre (Ohaus, Starter 3100M)

Rotavapor (Buchi)

Sıvı Kromatografisi Sistemi (Shimadzu 20A Prominace)

Ultrasonik banyo (BANDELIN Sonorex)

UV-spektrofotometre (ShimadzuPharmaSpec UV-1700)

Vorteks (Heildophreaxtop)

YPİTK- Otomatik örnek uygulayıcısı, ATS4 (CAMAG)

YPİTK- Otomatik yürütme tankı, ADC2 (CAMAG)

YPİTK- Daldırma aygıtı (CAMAG)

YPİTK- Görüntüleyici, Visualizer 2 (CAMAG)

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) (Aldrich)

2-Furanakriloil-leusil-glisil-prolil-alanin (FALGPA) (Aldrich)

2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS⁺) (Sigma-Aldrich)

Alüminyum triklorürhekzahidrat (AlCl₃.6H₂O) (Merck)

Amonyak (Emboy)

Asetik asit (Sigma-Aldrich)

Aseton (Merck)

Difenilborinik asit (Sigma-Aldrich)

Diklorometan (Merck)

Dimetik sülfoksit (DMSO) (Merck)

Dipotasyum hidrojen fosfat (Merck)

Elastaz enzimi (Domuz pankreası kaynaklı)

Epigallokateşin gallat (Cayman Chemical)

Etanol (Sigma-Aldrich)

Etil asetat (Sigma-Aldrich)

Folin-ciocalteu reaktifi (Merck)

Formik asit (Merck)

Gallik asit (Sigma)

Kateşin (Sigma)

Kersetin (Sigma)

Kersitrin (Sigma)

Kloroform (Merck)

Kojik asit (Sigma-Aldrich)

Kolajenaz enzimi (*Clostridium histolyticum* kaynaklı)

L-DOPA (Sigma)

Metanol (Merck)

Mirsetin (Sigma)
N-Süksinil-Ala-Ala-p-nitroanilid (Aldrich)
Oleanolik asit (Cayman Chemical)
Polietilen glikol 400 (PEG 400) (Merck)
Rutin (Sigma)
Silikajel 60F₂₅₄ cam YPİTK plağı (20x10 cm) (Merck)
Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat (Merck)
Sülfürik asit (Carlo Erba)
Tirozinaz enzimi (12.000 U/mL, mantar kaynaklı)
Toluen (Merck)
Triton x-100 (Aldrich)
Trizma-base (Sigma Aldrich)

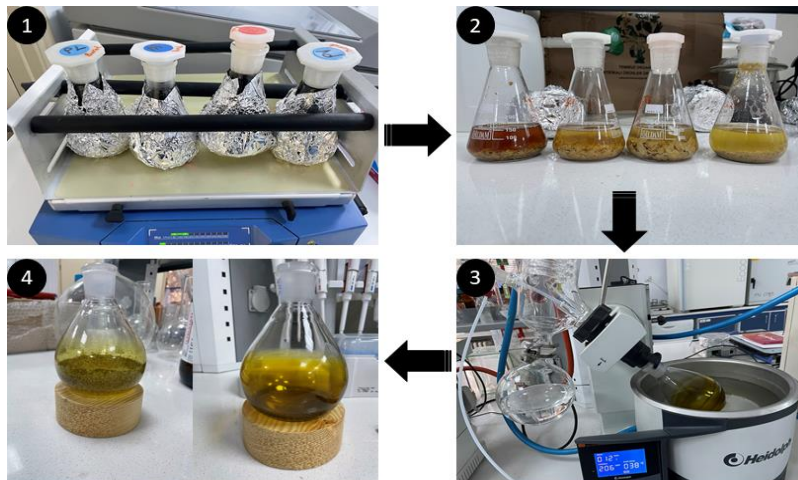
3.4. Ekstraksiyon İşlemleri

3.4.1 Ön çalışmalar için gerçekleştirilen ekstraksiyon

Uygun koşullarda kurutulan yapraklar uygun boyutlara getirildikten sonra sırasıyla *n*-hekzan, etil asetat, metanol ve su ile tüketilerek ekstre edilmiştir. 10 g tartılan yapraklar oda sıcaklığı ve karanlıkta 150 mL çözücü ile 150 rpm’de 24 saat otomatik çalkalayıcı ile masere edilmiş ve bu işlem her bir çözücü için 3 kez tekrar edilmiştir. Daha sonra ekstrelerin çözücülerini rotavapor yardımı (< 40°C) ile uzaklaştırılmış ve kalan katı bakiye üzerinden verim hesapları yapılmıştır. Tüm deneyler boyunca kuru ekstreler nem, ısı ve ışıktan korunarak saklanmıştır.

Görsel 3.5

Ekstraksiyon aşaması



3.4.2 İzolasyon çalışmaları için gerçekleştirilen büyük ölçekli ekstraksiyon

In vitro tirozinaz ve elastaz inhibisyon deneylerinde hem pozitif kontrollerden hem de diğer türlerden daha yüksek inhibitör özellikler gösterdiği için *P. terebinthus* üzerinden izolasyon çalışmaları yapılmasına karar verilmiştir. Bunun için öncelikle daha büyük ölçekte bitkisel materyal ile çalışılmış ve 223 g kuru ve ufalanmış yapraktan 2.5 L x 3 tekrar olacak şekilde maserasyon yöntemi ile oda sıcaklığında ve 150 rpm’de sıralı ekstraksiyon (*n*-hekzan, etil asetat, metanol, su) yapılmıştır. Etkili ve hedeflenen metanol ekstresi %30.33 (a/a) verim ile (67.64 g) elde edilmiş ve çalışmalar için ısı ve ışıktan etkilenmeyecek şekilde saklanmıştır.

Görsel 3.6

P. terebinthus fraksiyonlama adımı öncesi yüksek miktarda ekstre eldesi aşaması



3.5. Ekstre ve Fraksiyonlarda Yapılan Çalışmalar

3.5.1. Toplam fenol ve toplam flavonoit miktar tayini

Ekstrelerde toplam fenolik madde miktar tayini Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak Singleton vd. (1999) yöntemine göre yapılmıştır. 2 mL hacimli derin kuyucuklu plakalarda 1.2 mL distile su, 20 µL ekstre ve 100 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenip 1 dk bekletilmiştir. Daha sonra 300 µL %20’lik Na₂CO₃ ilave edilip son hacim 2 mL’ye distile su ile tamamlanmıştır. Kontrol olarak ekstre içermeyen reaktif karışımı kullanılmıştır. Karışım 2 saat 25°C’de inkübe edildikten sonra absorbans 760 nm’de ölçülmüştür. Deney aynı şartlarda 1-0.8-0.6-0.4-0.2-0.1 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit için de gerçekleştirilmiş ve oluşturulan kalibrasyon eğrisi ile ekstrelerin toplam fenol miktarları gallik asit’e eşdeğer olarak hesaplanmıştır.

Toplam flavonoit miktar tayini Miliauskas vd. (2003) tarafından belirtilen metoda göre yapılmış ve sonuçlar kersetine eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Bunun için; 80 µL numune ve 80 µL etanollü alüminyum triklorit (AlCl₃) çözeltisi 2 mL'lik derin kuyucuklu plakada karıştırılmış ve 2 mL'ye absöü etanol ile tamamlanmıştır. 25°C'de 40 dakika inkübasyonun ardından absorbans değeri 415 nm'de ölçölmüştür. Numune körü için AlCl₃ yerine 1 damla asetik asit (%15'lik) kullanılmıştır. Kersetinin kalibrasyon eğrisi aynı şartlarda ve 1-0.8-0.6-0.4-0.2-0.1-0.05 mg/mL konsantrasyonlarda hesaplanmış ve ekstrelerin toplam flavonoit miktarları mg kersetin'e eşdeğer olarak verilmiştir.

3.5.2. Antioksidan aktivite tayinleri

3.5.2.1. DPPH radikal süpürücü etki

DPPH• süpürücü etki tayini Kumarasamy vd. (2012) mikrolak yöntemine göre yapılmıştır. 0.2 mM'lık DPPH• çözeltisi karanlık ortamda metanol ile hazırlanmıştır. Örneklerden 200 µL ilk kuyucuğa koyulduktan sonra diğeri tüm kuyucuklara 100 µL metanol koyulmuştur. Daha sonra çok kanallı pipet aracılığı ile ekstrelerden 8 seri seyreltme yapıldıktan sonra tüm kuyucuklara 100 µL DPPH• eklenip oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dk inkübe edilmiştir (A). Numune kontrolünde DPPH• yerine 100 µL metanol eklenmiştir. Gallik asit pozitif kontrol, ekstre+MeOH ekstre kontrolü (B), DPPH•+MeOH negatif kontrol (C) ve MeOH (D) çözücü körü olacak şekilde aynı mikrolağa uygulanmıştır. Absorbanslar 515 nm'de ELISA mikrolak okuyucu ile ölçölüp inhibisyon yüzdeleri aşğıdaki formüle göre bulunduğundan sonra IC₅₀ değeri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(C-D) - (A-B)] / (C-D) \times 100$$

3.5.2.2. Troloksa eşdeğer total antioksidan kapasite (TEAK)

Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite Papandreou vd. (2006) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 7 mM ABTS⁺ ve 2.45 mM sodyum persülfat (Na₂S₂O₈)'ın sulu çözeltisi karanlıkta 12-16 saat bekletilerek mavi yeşil renkli ABTS^{•+} radikalinin oluşumu sağlanmıştır. Daha sonra bu çözeltinin 734 nm'deki absorbansı 0.8-0.7 aralığında olacak şekilde absöü etanol ile ayarlanmıştır. 10 µL örnek ve 990 µL hazırlanan ABTS^{•+} çözeltisi karıştırılarak 30 dk inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda absorbans 734 nm de ELISA mikrolak okuyucu ile ölçölmüştür. TEAK aktivite sonuçlarının bulunması için, Troloksun'un 2.0-0.1 mM aralığındaki farklı konsantrasyonları kullanılarak %

inhibisyon değerlerine bağlı olarak kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve denenen materyallerin % inhibisyonları kalibrasyon denkleminde bulunarak sonuçlar mM Troloks'a eşdeğer olarak verilmiştir.

3.5.2.3. Bakır (II) indirgeyici antioksidan aktivite (CUPRAC)

Bakır indirgeyici antioksidan kapasite, bakır-neokuproin kompleksinin [Cu (II)-Nc] antioksidan ajanlar ile Cu(I)-Nc'e indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Bakır (II) klorür ve amonyum asetat ultra saf suda, neokuproin ise absolü etanolde hazırlanmıştır. İndirgenmenin belirlenmesi için Apak vd. (2004) oluşturdukları metot küçük modifikasyonlar ile uygulanmıştır; 50 µL CuCl₂, (10 mM), 50 µL neokuproin (7.5 mM), 50 µL amonyum asetat (1 M, pH 7.0) ve 55 µL numune 96'lık düz tabanlı mikropalak kuyucuklarına eklenmiş ve 25°C'de 30 dk boyunca karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol için ekstre yerine metanol kullanılmıştır. Troloks ise 3.0 – 0.1 mM konsantrasyon aralığında hazırlanmıştır. İnkübasyon sonunda absorbanslar 450 nm'de ELISA mikropalak okuyucu ile ölçülerek sonuçlar mM Troloksa eşdeğer olarak hesaplanmıştır.

3.5.3. In vitro enzim deneyleri

3.5.3.1. Tirozinaz enzim inhibisyonu

Numunelerin tirozinaz inhibisyon aktiviteleri Likhitwitayawuid vd. (2001) yöntemine göre küçük modifikasyonlar ile yapılmıştır. Ekstreler %5 DMSO içeren fosfat tamponunda (pH 6.8) çözülmüştür. Substrat olarak kullanılan L-DOPA 5 mM konsantrasyonda ve fosfat tamponunda hazırlanmıştır. Örneklerin her bir konsantrasyonu için 4 farklı kuyucuk tasarlanmıştır. Farklı reaktif karışımlarını içeren bu kuyucuklardan A, 20 µL 20 mM'lık fosfat tamponu (pH 6.8) ve aynı tamponda hazırlanan 20 µL tirozinaz (200 U/mL) B, 40 µL fosfat tamponu; C, 20 µL tirozinaz (200 U/mL) ve 20 µL ekstre D, 20 µL ekstre ve 20 µL fosfat tamponu içermektedir. Tüm kuyucuktaki karışımlar 25°C'de 10 dakika boyunca mikropalak çalkalayıcısında karıştırılıp, daha sonra bu karışıma 160 µL L-DOPA (5 mM) eklenip tekrar 25°C'de 10 dk boyunca inkübe edilmiştir. Pozitif kontrol olarak kojik asit kullanılmıştır. Absorbanslar 475 nm'de ölçülüp tirozinaz aktivitesinin yüzde inhibisyonu aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(A-B) - (C-D)] / (A-B) \times 100$$

3.5.3.2. Elastaz enzim inhibisyonu

Elastaz inhibisyonu Kozachok vd. (2020) yönteminde küçük modifikasyonlar uygulanarak yapılmıştır. Domuz kaynaklı pankreatik elastaz enzimi 0.1 M Tris-HCl tamponunda (pH 8.0) 0.5 U/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Substrat olarak kullanılan olan N-Suc-(Ala)-3-*p*-nitroanilid %0.01 konsantrasyonda 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0) tamponunda hazırlanmıştır. 45 µL Tris-HCl tamponu, 10 µL %5 DMSO içeren tamponda çözölen numuneler ve 130 µL substrat çözöltisi karıştırıldıktan sonra 25°C’de 5 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra bu karışımın üzerine 15 µL enzim çözöltisi eklenmiş ve karışım 25°C’de 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. (A1). Ekstre kontrolü için enzim yerine tampon ilave edilmiştir (A2). İnkübasyon sonunda açığa çıkan *p*-nitroanilin’in şiddeti 410 nm’de ELISA mikropalak okuyucu ile ölçölmüş ve IC₅₀ değörleri Sigmaplot 14.0 programı ile hesaplanmıştır. Enzim kontrolü için öörnek yerine tampon kullanılmıştır (A3), çözöcö körü için ise substrat ve tampon karışımı kullanılmıştır (A4). Pozitif kontrol olarak oleanolik asit kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrarlı olarak yapılmış ve % inhibisyonlar şu formöle göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ inhibisyon} = [(A3-A4) - (A1-A2)] / (A3-A4) \times 100$$

3.5.3.3. Kolajenaz enzim inhibisyonu

Numunelerin kolajenaz inhibisyonları Barrantes ve Guinea (2003) yöntemine göre test edilmiştir. Bunun için, *Clostridium histolyticum* kaynaklı kolajenaz 50 mM Trisin tamponunda çözölmüş (10 mM CaCl₂ ve 400 mM NaCl, pH 7.5) ve 0.8 U/mL’lik konsantrasyona ayarlanmıştır. N-(3-[2-füril]-akrilöil)-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) substrat olarak kullanılmış ve 2 mM konsantrasyonda tamponda hazırlanmıştır. 25 µL tampon, 25 µL ekstre ve 25 µL enzim çözöltisi 96 kuyucuklu mikropalaka’da karıştırıldıktan sonra 15 dk’lık ön-inkübasyona bırakılmıştır. Ardından karışım 50 µL substrat çözöltisi ilave edilmiş ve 20 dk’lık inkübasyonun ardından absorbanslar 340 nm’de ölçölmüştür (C). Ekstre kontrolü için enzim yerine tampon eklenmiştir (D). Enzim kontrolünde ekstre yerine tampon ilave edilmiş (A) ve çözöcö kontrolü için ise yalnızca tampon ve substrat karışımı kullanılmıştır (B). Epigallokateşin gallat pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrarlı olarak yapılmış ve yüzde inhibisyonlar aşğıdaki formöle göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ inhibisyon} = [(A-B) - (C-D)] / (A-B) \times 100$$

3.6 Kombinasyon Çalışmaları

Hedef enzimler (tirozinaz ve elastaz) üzerine etkinlikleri belirlenen ve ardından IC₅₀ değeri hesaplanan fraksiyonlar arasında kombinasyon çalışmaları için beş farklı konsantrasyon noktasında (0.125 x – 2 x IC₅₀) gerçekleştirilmiştir. Belirlenen bu konsantrasyonda örneklerin % inhibisyon değerleri Fa (%inh./100)'ya dönüştürülmüş ve medyan-etki grafikleri Compusyn v2.0 (ComboSyn, Inc., Paramus, NJ) programı ile otomatik olarak oluşturulmuştur. Kombinasyon dizaynında örnekler 1:1 sabit oranlı olarak çalışılmıştır.

3.6.1 Sinerji analizi

Sinerji analizleri Chou-Talalay Kombinasyon İndeksleri (Kİ) hesaplanarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen değerlerde Kİ < 0.90 sinerjik etki, 0.90 < Kİ < 1.10 additif etki ve Kİ > 1.10 antagonistik etki olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca izobologram analizleri Compusyn v2.0 ile gerçekleştirilmiştir. Bunun için Fa = 0.50, 0.75 ve 0.90 noktalarında IC₅₀, IC₇₅ ve IC₉₀ konsantrasyonları x- ve y- eksenlerine tekli olarak yerleştirilmiş ve additif diyagonal çizilmiştir. Kombinasyondaki etkinin bu diyagonalin altında kalması durumunda sinerji, üstünde kalması durumunda ise antagonistik etki varlığı şeklinde değerlendirilmiştir.

3.7 Fitokimyasal Çalışmalar

3.7.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (YPSK-KS/KS)

Analizler Elektro Sprey İyonizasyon (ESI) kaynağı ile donatılmış Applied Biosystems 3200 Q-Trap MS/MS cihazına bağlı Shimadzu 20A Prominace sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Inertsil CN-3 analitik kolon (1.6 mm x 150 mm, i.d., 3 µm partikül boyutu, GL Science, Tokyo, Japonya) kullanılmış ve kolon sıcaklığı 40°C olarak belirlenmiştir. Gradient akış ile gerçekleştirilen ayırmda mobil faz A olarak metanol:su:formik asit 10:89:1 h/h/h, mobil faz B olarak ise metanol:su:formik asit 89:10:1 h/h/h kullanılmış ve mobil faz B'nin oranı 40 dk sonunda 0.5 mL/dk akış hızı ile %10'dan %100 olacak şekilde ayarlanmıştır. Örnekler ve standart madde karışımları 1-5 µL hacim aralıklarında uygulanmış ve dedeksiyon Diode Array Dedektör (DAD) ile gerçekleştirilmiştir. Kütle spektrumları 100-800 veya 100-1000 amu kütle aralığında ve

negatif iyonizasyon modunda gerçekleştirilmiştir. Analizlerin gerçekleştirilmesi ve verilerin toplanmasında Analyst 1.6 yazılımı kullanılmıştır.

3.7.2 Kolon Kromatografisi

3.7.2.1 Poliamit kolon kromatografisi

50 g poliamit 6, 600 mL distile su: metanol (1:1) karışımında 24 saat bekletilmiş ve 5 x 70 cm ebatlarında cam kolona doldurulmuştur. Kolonun oturması için 1 gün beklenmiştir. Daha sonra 8 g ekstre 12 mL distile suda süspande edilmiş ve ardından kolona tatbik edilmiştir. Mobil faz sisteminde %100 distile su 200 mL geçirilmiş ve %80 su-%20 metanol, %60 su-%40 metanol, %40 su-%60 metanol, %20 su-%80 metanol, %100 metanol şeklinde kullanılmıştır. Her bir solvan sisteminden 200 mL geçirilmiştir. Fraksiyonlar 100 mL’de bir toplanmıştır. Toplamda 41 fraksiyon toplanmış benzer içeriğe sahip fraksiyonlar İTK analizlerinden sonra birleştirilerek toplamda 8 adet fraksiyon elde edilmiştir: FRK 1-4 (FRK A, 2.64 g, verim %33 a/a), FRK 5-7 (FRK B, 0.49 g, verim %6.12 a/a), FRK 8-9 (FRK C, 0.33 g, verim % 4.12 a/a), FRK 10-11 (FRK D, 0.44 g, verim %5.5 a/a), FRK 12-15 (FRK E, 0.54 g, verim %6.75 a/a), FRK 16-20 (FRK F, 0.15 g, verim %1.87 a/a), FRK 21-33 (FRK G, 0.27 g, verim %3.37 a/a) FRK 34-41 (FRKH, 0.16 g, verim %2 a/a) (Tablo 3.1).

Tablo 3.1

Fraksiyonların kodlanması ve miktarları

Fraksiyon adı	Birleştirilen kısımlar	Miktar (g)
A	1-4	2.64
B	5-7	0.49
C	8-9	0.33
D	10-11	0.44
E	12-15	0.54
F	16-20	0.15
G	21-33	0.27
H	34-41	0.16

Görsel 3.7

Poliamit dolgulu kolon kromatografisi



Görsel 3.8

Poliamit dolgulu kolondan elde edilen fraksiyonlar (Birleştirilmeden önce)



3.7.3 İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Fraksiyonların elde edilmesi sırasında kimyasal profillerin incelenmesi ve takibinde İTK kullanılmıştır. Alüminyum plak üzerine kaplı Silikajel plaklar ve çeşitli mobil faz sistemleri denenerek gerçekleştirilen analizlerde görüntülemeler 254 nm ve 366 nm dalga boylarında gerçekleştirilmiştir. Türevlendirme ajanı olarak fenolikler için Natural

Product/Polietilen glikol 400 (NPR/PEG) reaktifi kullanılmış, sülfürik asit reaktifi ise genel ajan olarak seçilmiştir. Plaklar NPR/PEG ile türevlendirmeden önce 100°C’de 3 dk ısıtılmış ve ardından sırasıyla metanolik difenilborinik asit (%1’lik) ve etanolik PEG400 (%5’lik) çözeltileri homojen bir şekilde püskürtülmüştür. H₂SO₄ reaktifi ise (20 mL H₂SO₄ + 180 mL soğutulmuş metanol) püskürtüldükten sonra plaklar 110°C’de 10 dk boyunca ısıtılmıştır. Her iki ajan için de görüntülemeler 254 nm, 366 nm ve beyaz ışık altında gerçekleştirilmiştir.

3.7.4 Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK)

Poliamit dolgulu kolondan elde edilen fraksiyonlar, *P. terebinthus* metanol ekstresi ile karşılaştırmalı olarak YPİTK sisteminde analiz edilmiştir. YPİTK sistemi, visionCATS programı ile entegreli olarak kontrol edilmiştir. Standart Numunelerin plaklara uygulanmasında ATS 4 (CAMAG®, İsviçre, Automatic TLC Sampler 4), plakların mobil fazda yürütülmesi ve develope işlem parametrelerinin oluşturulmasında ADC2 (CAMAG®, İsviçre, Automatic Development Chamber 2), reaktiflere plakların daldırılmasında Immersion device III (CAMAG®, İsviçre), plakların UV ve beyaz ışıkta incelenmesi ve görüntülenmesinde Visualizer 2 (CAMAG®, İsviçre) kullanılmıştır.

Şekil 3.1

YPİTK sistemi



Analizlerde HPTLC Si 60F₂₅₄ 10x10 cm veya 20 x 10 cm ebatlarında cam plaklar (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmış ve uygulama öncesinde plaklar 2 kez metanol ile yıkanıp 121°C’de 10 dk bekletilerek aktive edilmiştir. Numuneler plak üzerine 8 mm bantlar halinde (8 mm alt ve 15 mm sol köşeden) ATS 4 (CAMAG®, İsviçre, Automatic TLC Sampler 4) kullanılarak uygulanmıştır. Plakların mobil fazda yürütülmesi ve

develope işlem parametrelerinin oluşturulmasında ADC2 (CAMAG®, İsviçre, Automatic Development Chamber 2) kullanılmıştır. Yürütme işlemi öncesinde plaklar 20 dk çözücü buharı ile sature edilmiştir ve 2 dk'lık ön-şartlandırma uygulanmıştır. Daha sonra plaklar 70 mm ve iki-dipli tank (CAMAG®, İsviçre) içinde yürütülmüştür. Kullanılan mobil faz sistemleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Yürütme işlemi esnasında ortam nemi, doymuş $MgCl_2$ çözeltisi ile %33'e ayarlanmıştır. 5 dk kurutma işlemi sonrasında ise görüntüleme Visualizer 2 (CAMAG®, İsviçre) ile beyaz ışık/transmisyon-remisyon-transmisyon+remisyon, 254 nm ve 366 nm dalga boylarında gerçekleştirilmiştir. Türevlendirme işleminde Immersion device III (CAMAG®, İsviçre) daldırma cihazı kullanılmış ve daldırma hızı 5 cm/s ve daldırma süresi 1 s olarak ayarlanmıştır. Türevlendirme reaktifleri olarak Natural Product/PEG400 (NPR/PEG), H_2SO_4 ve $FeCl_3$ çözeltileri kullanılmıştır. NPR/PEG400 için plaklar önce 3 dk boyunca $100^\circ C$ 'de ısıtılmış ve sırasıyla NPR ve PEG400 çözeltilerine daldırılmıştır. H_2SO_4 türevlendirmesinde plaklar önce reaktife daldırılmış, ardından $100^\circ C$ 'de 5 dk ısıtılmıştır. $FeCl_3$ reaktifi ise 2 g maddenin 10 mL distile suda çözüldükten sonra 200 mL'ye etanol ile seyreltilmesi ile hazırlanmış ve plaklar bu reaktife daldırıldıktan sonra $110^\circ C$ 'de 10 dk boyunca ısıtılmıştır.

Tablo 3.2

İTK ve YPİTK analizlerinde kullanılan hareketli faz sistemleri

Kullanılan solvan sistemleri	
Toluen: etil asetat: formik asit (7:3:1; <i>h:h:h</i>)	YPİTK, İTK
Etil asetat: asetik asit: formik asit:su (100:11:11:26; <i>h:h:h:h</i>)	YPİTK, İTK
Etil asetat: metiletilketon: formik asit: su (5:3:3:1; <i>h:h:h:h</i>)	İTK
Toluen: etil asetat: formik asit: metanol (3:3:0.6:0.4, 3:3:0.8:0.8, 2:3:0.7:0.7; <i>h:h:h:h</i>)	YPİTK, İTK
Diklorometan: metanol:su (7:3:3; <i>h:h:h</i>)	İTK
Toluen: etil asetat: formik asit:su (5:100:10:10; <i>h:h:h:h</i>)	YPİTK

3.8 Nükleer Manyetik Rezonans (NMR)

1D-(^1H - ^{13}C -NMR) ve 2D-(COSY,HSQC ve HMC) NMR spektrumları Bruker 400 MHz Ascend sıvı NMR spektrometresiyle alınmıştır. Numuneler dötero-dimetilsülfoksit (DMSO- d_6) içerisinde çözölmüştür.

3.9 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Sigmaplot 14.0 programı ile yapılmıştır. Tüm deneyler dört tekrarlı yapılmış ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ($\text{OD} \pm \text{SS}$) şeklinde verilmiştir. Veriler arası anlamlılık testleri için tek yönlü varyans analizleri, Duncan çoklu karşılaştırma testleri uygulanmış ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir. IC_{50} değeri regresyon analizleri ile hesaplanmıştır.

4. BULGULAR VE YORUM

4.1 Ön Çalışmalara Ait Bulgular

Bu bölümdeki çalışmalar fitokozmetik uygulamalarda kullanılabilecek en etkili *Pistacia* ekstresini belirlemek üzere yürütülen bir ön tarama niteliğindedir. Dört *Pistacia* türünün (*P. atlantica*, *P. lentiscus*, *P. terebinthus* ve *P. vera*) yapraklarından sıralı ekstraksiyonla dört farklı polaritede ekstre hazırlanmış; bu ekstratlar toplam fenolik/flavonoit içerikleri, radikal süpürme ve metal şelatlama kapasiteleriyle birlikte tirozinaz, elastaz ve kolajenaz inhibisyonları açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler ışığında dört türde de en güçlü aktiviteyi sergileyen metanol ekstratları seçilmiş ve bunların kimyasal profilleri YPSK-KS/KS ile ayrıntılı olarak belirlenmiştir.

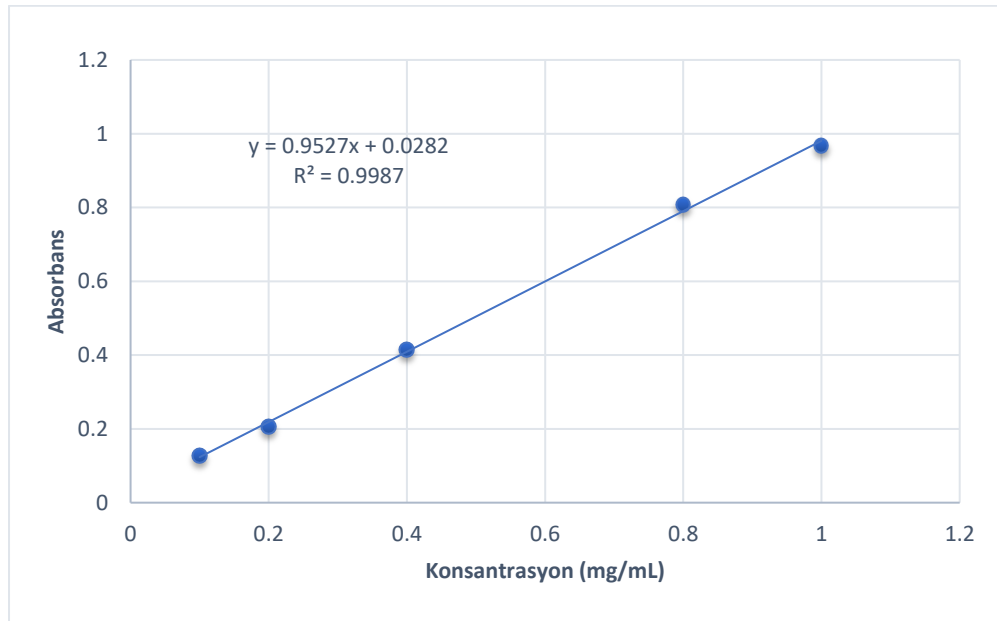
4.1.1 Ekstre verimleri ile toplam fenol ve flavonoit miktar tayinleri

Dört türün yapraklarından elde edilen *n*-hekzan, etil asetat, metanol ve su ekstratlarının verimleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Genel olarak metanol ekstratları en yüksek verimde elde edilirken bunlardan *P. atlantica* metanol ekstresi %50.6 (a/a) ile en verimli ekstre olarak değerlendirilmiştir.

Toplam fenol miktar tayini deneyinin sonuçları mg gallik asit’e eşdeğer olarak verilmiş ($\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{ekstre}}$) ve gallik asitten oluşturulan kalibrasyon eğrisinin denklemi ve eğimi sırasıyla $y = 0.9527x + 0.0282$, $R^2 = 0.9987$ olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.1).

Şekil 4.1

Gallik asit kalibrasyon grafiği



Elde edilen sonuçlara göre metanol ve su ekstralarının toplam fenol miktarları *n*-hekzan ve etil asetat ekstralarına oranla oldukça yüksek çıkmıştır. *P. atlantica* metanol ekstresi en yüksek fenolik içeriğe sahip ekstre olarak belirlenmiştir. *P. lentiscus*, *P. terebinthus* ve *P. vera* metanol ekstralarının fenolik içerikleri arasında ise $p < 0.05$ değerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Su ekstralarında ise *P. terebinthus* en düşük fenolik içeriğe sahip çıkarken diğer 3 türün yaprak su ekstralarının fenol içerikleri arasında $p < 0.05$ değerinde anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Tablo 4.2).

Toplam flavonoit miktar tayini deneyinin sonuçları mg kersetin'e eşdeğer olarak verilmiş ($\text{mg}_{\text{KE}}/\text{g}_{\text{ekstre}}$) ve kersetinden oluşturulan kalibrasyon eğrisinin denklemi ve eğimi sırasıyla $y=1.9358x + 0.0682$, $R^2 = 0.9985$ olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.2).

Tablo 4.1

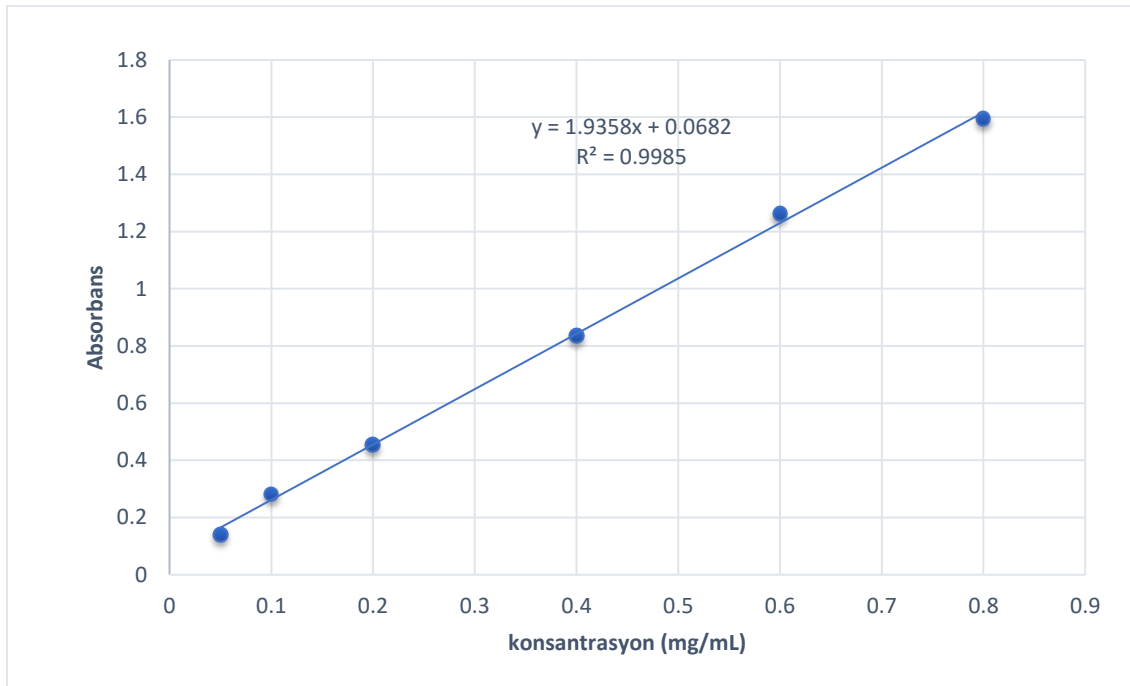
Ekstre verimleri

	Ekstre	% Verim
<i>n</i>-Hekzan	<i>P. atlantica</i>	4.10
	<i>P. lentiscus</i>	1.30
	<i>P. terebinthus</i>	5.84
	<i>P. vera</i>	2.00
Etil asetat	<i>P. atlantica</i>	0.90
	<i>P. lentiscus</i>	2.70
	<i>P. terebinthus</i>	1.30
	<i>P. vera</i>	2.00
Metanol	<i>P. atlantica</i>	50.60
	<i>P. lentiscus</i>	35.50
	<i>P. terebinthus</i>	21.40
	<i>P. vera</i>	29.00
Su	<i>P. atlantica</i>	7.48
	<i>P. lentiscus</i>	4.84
	<i>P. terebinthus</i>	6.04
	<i>P. vera</i>	8.44

Beklenildiği üzere, *n*-hekzan ekstralarında flavonoit içeriğine rastlanmazken etil asetat ekstraları en yüksek flavonoit içeriğine sahip olarak belirlenmiştir. Bunlardan *P. atlantica* ve *P. lentiscus* arasından anlamlı bir fark bulunmazken *P. terebinthus* en yüksek içeriğe sahip tür olmuştur. Metanol ekstralarında *P. atlantica*’da flavonoit içeriği bulunamazken diğer türlerde ise düşük gözlemlenmiştir. Su ekstralarında ise sırasıyla *P. vera* ve *P. lentiscus* türleri yüksek flavonoit içeriğine sahipken *P. atlantica*’da flavonoit gözlemlenememiştir (Tablo 4.2).

Şekil 4.2

Kersetin kalibrasyon grafiği



Tablo 4.2*Ekstrelerin toplam fenol ve flavonoit miktarları*

	Ekstre	Toplam fenol miktarı (mg_{GAE}/g_{ekstre})	Toplam flavonoit miktarı (mg_{KE}/g_{ekstre})
n-Hekzan	<i>P. atlantica</i>	73.77 ± 5.96	-
	<i>P. lentiscus</i>	59.98 ± 0.37	-
	<i>P. terebinthus</i>	50.80 ± 4.19	-
	<i>P. vera</i>	64.45 ± 2.23	-
Etil asetat	<i>P. atlantica</i>	116.58 ± 3.16	42.31 ± 1.52
	<i>P. lentiscus</i>	92.44 ± 3.16	39.79 ± 3.37
	<i>P. terebinthus</i>	61.47 ± 7.95	53.81 ± 1.19
	<i>P. vera</i>	80.45 ± 1.85	22.55 ± 1.62
Metanol	<i>P. atlantica</i>	428.15 ± 20.03	0.05 ± 00
	<i>P. lentiscus</i>	303.77 ± 27.19	11.45 ± 0.76
	<i>P. terebinthus</i>	317.59 ± 26.60	10.09 ± 0.44
	<i>P. vera</i>	285.05 ± 14.98	8.54 ± 0.65
Su	<i>P. atlantica</i>	303.41 ± 12.91	4.29 ± 0.07
	<i>P. lentiscus</i>	293.02 ± 10.91	22.23 ± 1.07
	<i>P. terebinthus</i>	144.59 ± 3.54	7.44 ± 0.22
	<i>P. vera</i>	312.68 ± 14.15	31.10 ± 0.52

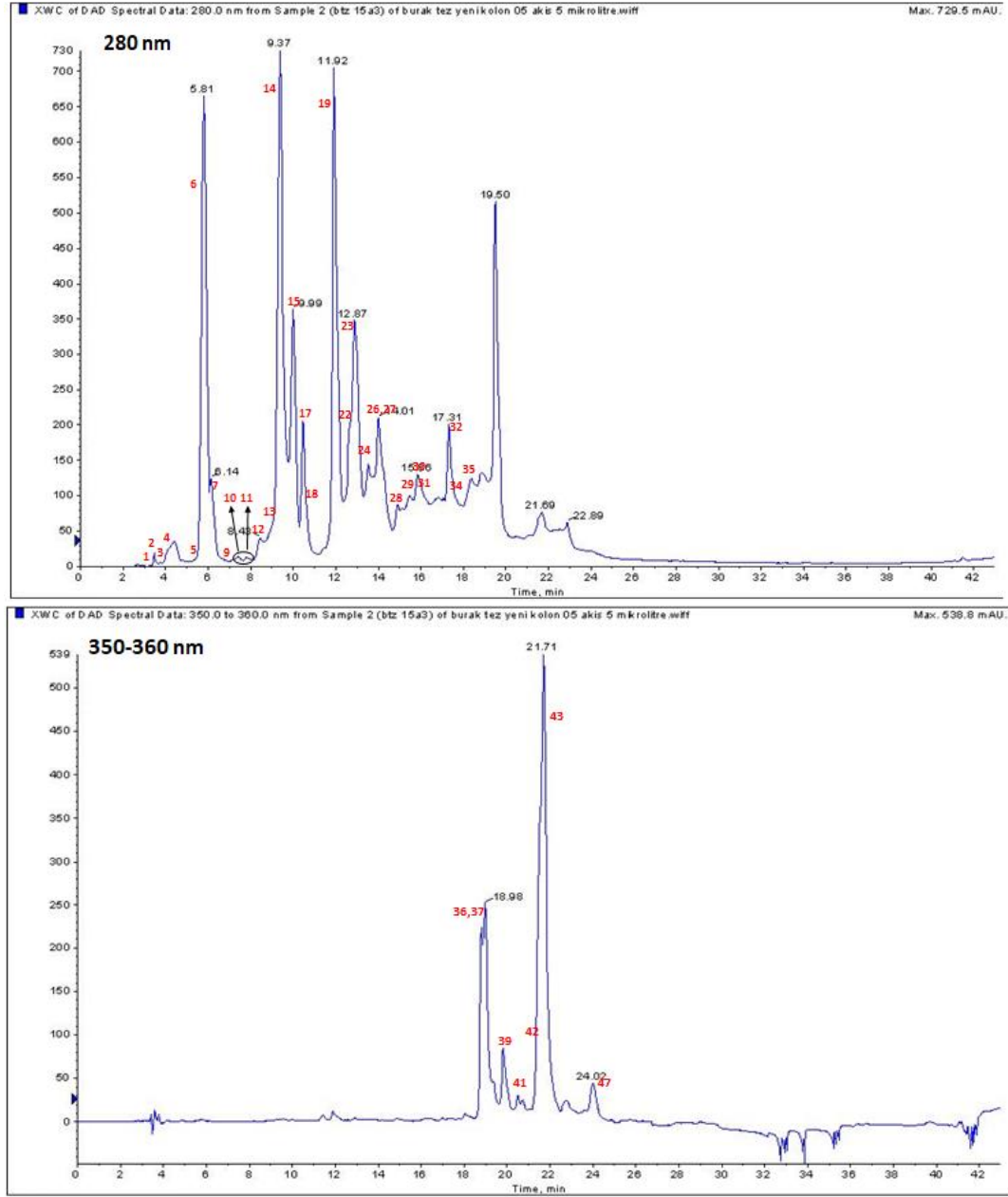
4.1.2 Metanol ekstrlerinin YPSK-KS/KS analizleri

Fitokimyasal kompozisyonların değerlendirilmesi için dört türün metanol ekstrleri YPSK-KS/KS sistemi ile analiz edilmiştir. Çoğu bileşiğin tanımlaması kütle parçalanmalarından yola çıkılarak tentatif olarak yapılmış ve literatürle desteklenmiştir. Kinik asit, gallik asit, kateşin, epigallokateşin gallat, kersetin-3-O-rutinozit (rutin), kersetin-3-O-ramnozit (kersitrin), mirsetin, kersetin ve kemferol analitik standartlarla karşılaştırılarak aynı tutunma zamanı ve kütle spektrumları göz önünde bulundurularak tanımlanmıştır.

Ekstrelerin DAD kromatogramları (280 ve 350-360 nm) Görsel 4.1, Görsel 4.2, Görsel 4.3 ve 4.4'te verilmiştir. Analiz sonunda dört türde toplam 52 adet bileşik tanımlanmıştır. Mono, di- ve tri- galloilkinik asit yapıları fenolik asitlerin ana bileşenini oluşturmuştur. Gallik asit, dihidroksibenzoik asit ve bunların hekzosit yapılarına rastlanırken mono, di-, tri-, tetra- ve penta-, galloil glukoz yapıları özellikle *P. atlantica* türünde dikkat çekmiştir. Ekstrelerde mirsetin ve kersetin flavonoller ve bunlara ait hekzosit, rutinozit, glukuronit, pentozit ve ramnozit yapıları en baskın flavonoit grubu olmuştur. Ayrıca kemferol ve luteolin ile bunların farklı şekerlerle yaptığı glikozitlere de rastlanılmıştır. Flavan-3-ol sınıfından ise kateşin, epikateşin, kateşin-O-gallat, epikateşin-gallat, gallokateşin, epigallokateşin, gallokateşin gallat, epigallokateşin-3-gallat bileşiklerine rastlanılmıştır. Mirsetin ve kersetin glikozitlerinin bir veya iki gallik asit ile esterleştiği yapılar da dikkat çekici bulunmuştur. Ayrıca metil gallat tüm ekstrelerde yoğun olarak bulunmuştur. Tanımlanan bileşiklerin detayları ve tanımlandığı türler Tablo 4.3'te verilmiştir. Ayrıca her bileşiğin tanımlanması kütle spektrumları üzerinden detaylı bir şekilde açıklanmıştır.

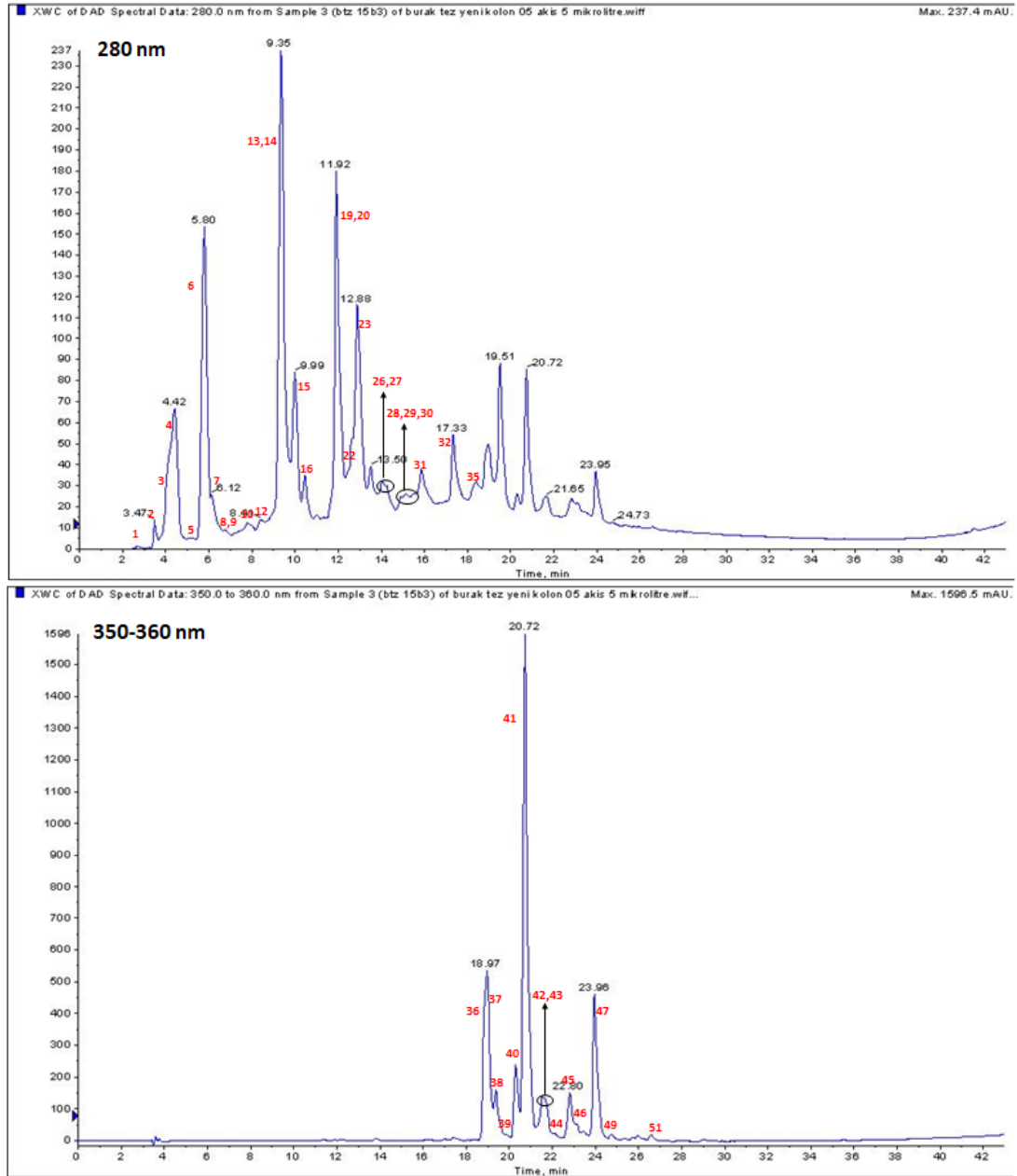
Görsel 4.1

P. atlantica metanol ekstresinin DAD kromatogramı (280 nm ve 350-360 nm)



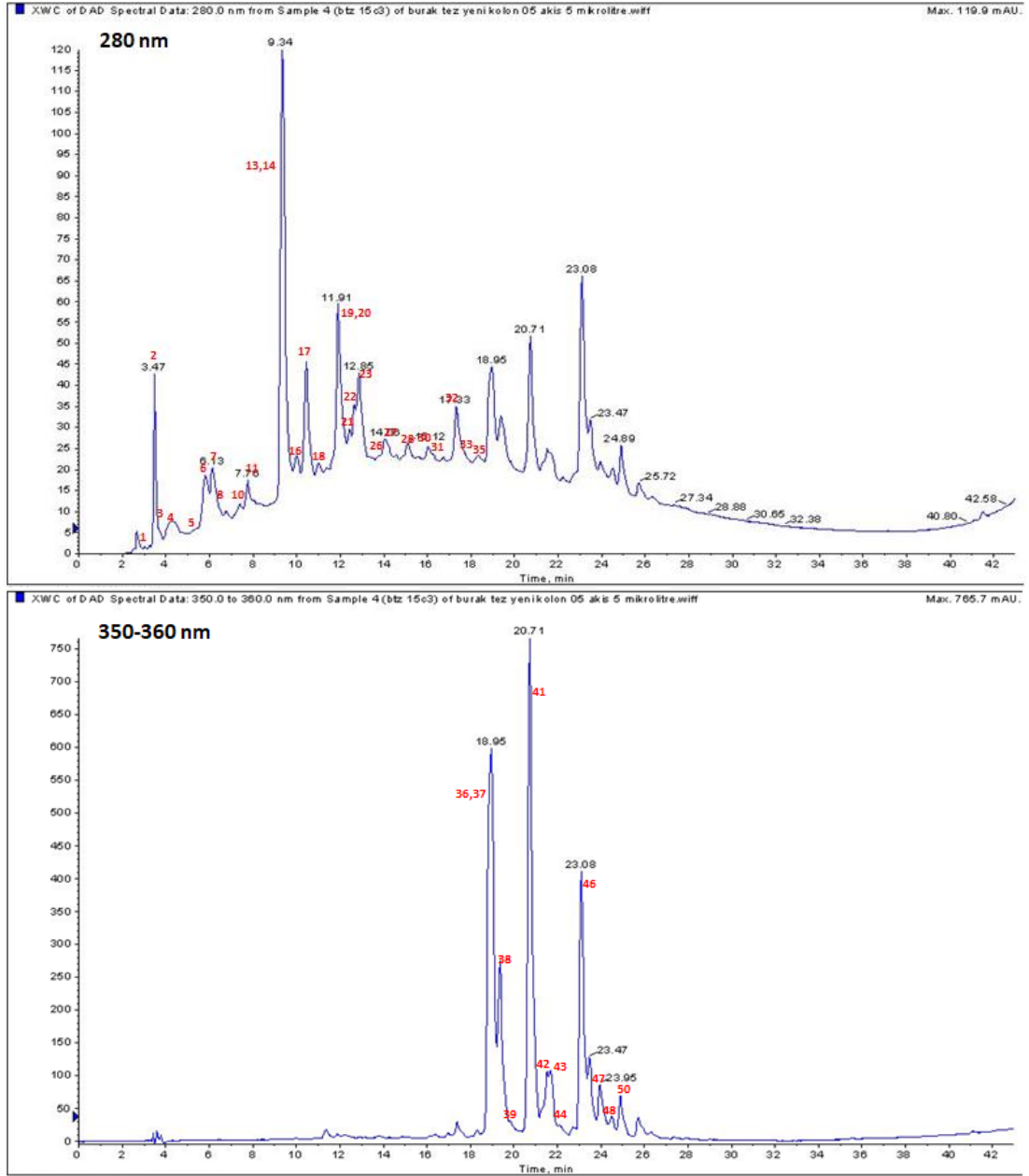
Görsel 4.2

P. lentiscus metanol ekstresinin DAD kromatogramı (280 nm ve 350-360 nm)



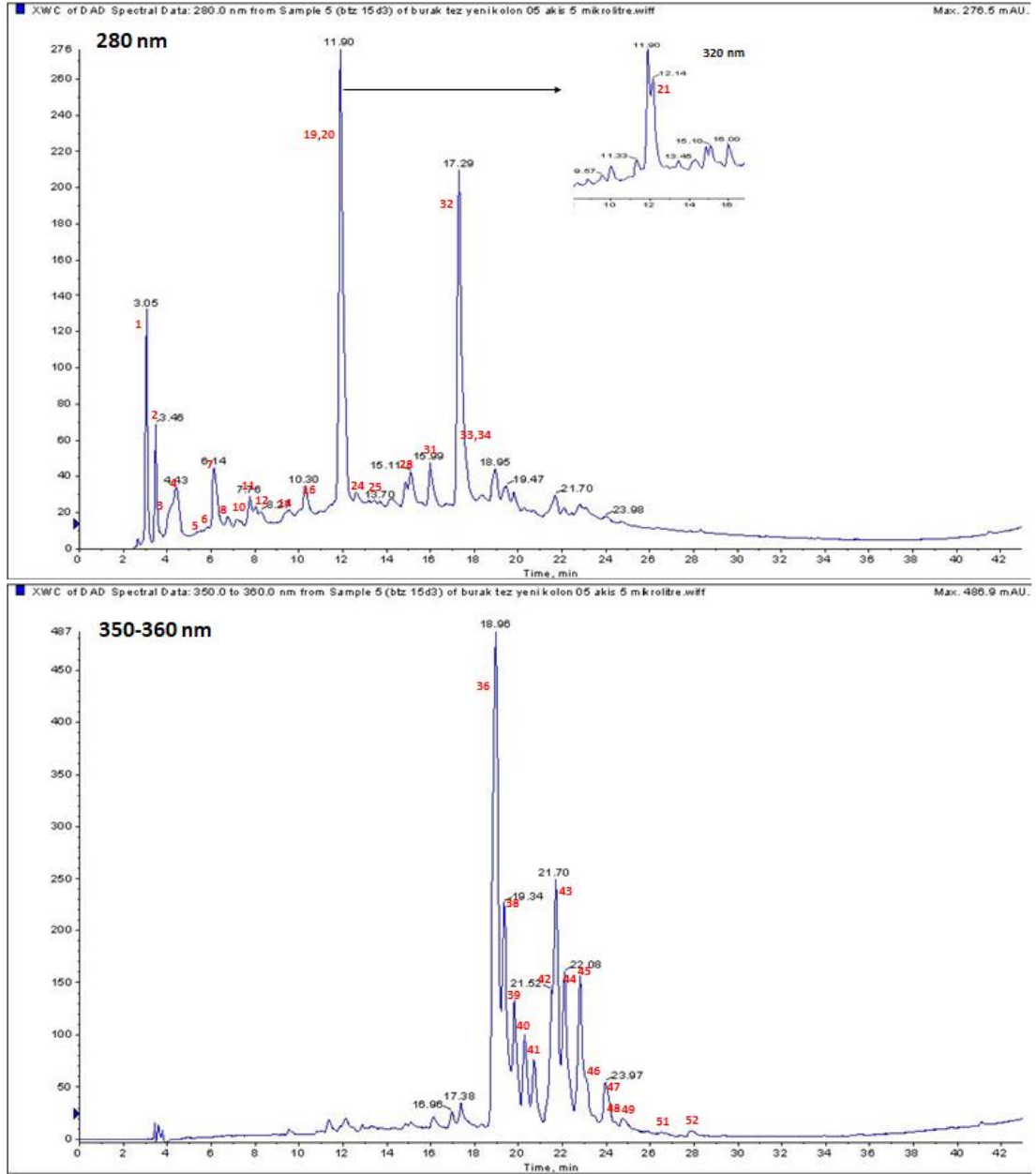
Görsel 4.3

P. terebinthus metanol ekstresinin DAD kromatogramı (280 nm ve 350-360 nm)



Görsel 4.4

P. vera metanol ekstresinin DAD kromatogramı (280 nm ve 350-360 nm)



Tablo 4.3*Metanol ekstrelerinde tanımlanan bileşikler*

No	Rt	MA	M-H ⁻	Ms ²	Tanımlama	Bulunduğu Tür	Kaynak
1	3.05	342	341	179, 143, 161, 113	Disakkarit türevi	PA, PL, PP, PV	Abidi vd., 2019
2	3.47	192	191	137, 127, 108	Kinik asit st	PA, PL, PP, PV	Saldanha vd., 2013
3	3.66	174	173	155, 143, 137, 129, 111	Şikimit asit	PA, PL, PV, PP	Anagnostou vd., 2023
4	4.42	332	331	271, 241, 211, 169, 125 107	Gallik asit-O-hekzosit	PA, PL, PP, PV	Rodríguez-Pérez vd., 2013
5	5.54	494	493	331, 313, 283, 271, 241, 211, 183, 169, 125	Gallik asit-O-dihekzosit	PA, PL, PP, PV	Mohsen vd., 2020
6	5.81	344	343	191, 173, 169, 125	Galloilkinik asit	PA, PL, PP, PV	Sannomia vd., 2022
7	6.13	170	169	125, 108	Gallik asit st	PA, PP, PL, PV	Rodríguez-Pérez vd., 2013
8	6.37	306	305	287, 261, 219, 179, 137, 125, 109	Gallokateşin /Epigallokateşin	PL, PP, PV	Esmat vd., 2012
9	6.98	484	483	331, 211, 169	Digalloil hekzosit	PA, PL	Rodríguez-Pérez vd., 2013
10	7.49	300	299	225, 169, 163, 147, 139, 107, 125	Gallik asit türevi	PA, PL, PP, PV	-
11	7.77	316	315	153, 135, 123	Gentisik asit-O-hekzosit	PA, PV, PP	Kirollos vd., 2019
12	8.43	326	325	245, 169, 155, 124	Galloilşikimik asit	PA, PL, PP, PV	Chaves vd., 2023
13	9.25	358	357	191, 169, 140, 125, 107	Metil galloilkinik asit	PA, PP, PL	Sannomia vd., 2022
14	9.34	496	495	343, 325, 191, 173, 169, 155, 125, 107	3,5-Digalloilkinik asit	PA, PL, PP, PV	Clifford vd., 2007
15	9.99	306	305	261, 175, 165	Gallokateşin /Epigallokateşin	PP, PV, PL	Pacifio vd., 2014

Tablo 4.3*(Devam) Metanol ekstrelerinde tanımlanan bileşikler*

No	Rt	M A	M-H ⁻	Ms ²	Tanımlama	Bulunduğ u Tür	Kaynak
16	10.23	458	457	305, 245, 219, 179, 167, 137, 125	Gallokateşin gallat	PL, PP, PV	El Bishbishy vd., 2020
17	10.43	496	495	343, 191, 169, 157, 125	3,4-Digalloilkinik asit	PA, PL, PP	Clifford vd., 2007
18	10.46	290	289	245, 205, 203, 179, 151, 125	Kateşin st	PA, PP, PV, PL	Romani vd., 2002
19	11.92	184	183	169, 125	Metil gallat	PA, PL, PP, PV	Romani vd., 2002
20	12.01	286	285	153	Gentisik asit- pentoziit	PV, PL, PP	Rodríguez- Pérez vd., 2013
21	12.16	458	457	331, 305, 219, 169, 125	Epigallokateşin gallat st	PL, PP, PV	El Bishbishy vd., 2020
22	12.73	648	647	495, 343, 325, 191, 169, 125	Tri-O-galloilkinik asit izomer 1	PA, PL, PP	Clifford vd., 2007
23	12.87	510	509	357, 339, 237, 217, 191, 169, 125	O-galloil-O- metil galloilkinik asit izomer 1	PA, PL, PP	Nogueira vd., 2015
24	12.90	636	635	465, 313, 295, 169, 125	Trigalloilglukoz	PA, PL, PP, PV	Ben Ahmed vd., 2016
25	13.70	360	359	197, 169, 139, 125	Etil gallat-hekzos	PV	Gök vd., 2022
26	13.96	510	509	357, 339, 325, 21 7, 191, 169, 139, 1 25	O-galloil-O- metil galloilkinik asit izomer 2	PA, PL, PP	Nogueira vd., 2015
27	14.01	648	647	495, 343, 191, 169, 125	Tri-O-galloilkinik asit izomer 2	PA, PL, PP	Clifford vd., 2007
28	15.04	788	787	465, 169	Tetragalloil glukoz	PA, PL, PP, PV	Ben Ahmed vd., 2016
29	15.52	800	799	647, 495, 343, 191, 169, 125	Tetragalloilkinik asit	PA, PL	Ben Ahmed vd., 2016
30	15.86	662	661	509, 357, 339, 169, 125	O-galloil-O- (metilgalloil-O- galloil) kinik asit	PA, PL, PP	Nogueira vd., 2015

Tablo 4.3*(Devam) Metanol ekstrelerinde tanımlanan bileşikler*

No	Rt	MA	M-H ⁺	Ms ²	Tanımlama	Bulunduğu Tür	Kaynak
31	16.00	440	441	331, 289, 271, 245, 169, 137, 125	Kateşin/Epikateşin monogallat	PA, PL, PP, PV	El Bishbishy vd., 2020
32	17.31	940	939	769, 617, 599, 469, 447, 431, 393, 317, 169, 125	Pentagalloil hekzosit	PA, PL, PP, PV	Gök vd., 2022
33	17.53	632	631	479, 317	Mirsetin-O-(O-galloil)-hekzosit	PP, PL, PV	Saldanha vd., 2013
34	17.66	442	441	289, 245, 205, 179, 137, 169	Kateşin/Epikateşin monogallat	PA, PL, PV	Rodríguez-Pérez vd., 2013
35	18.67	336	335	183, 169, 124	Metil digallat ester	PA, PL, PP, PV	Pacifio vd., 2014
36	18.97	626	625	479, 316, 287, 271, 179, 151	Mirsetin-O-rutinozit	PA, PL, PP, PV	Elez Garofulić vd., 2020
37	19.03	480	479	316, 287, 271, 242, 179, 163, 151, 137	Mirsetin-O-hekzosit	PA, PL, PP, PV	Kirollos vd., 2019
38	19.34	494	493	317, 299, 271, 227, 193, 179, 163, 151, 137, 107	Mirsetin-O-glukuronit	PL, PP, PV	Elez Garofulić vd., 2020
39	19.88	616	615	463, 300, 271, 255, 179, 169, 151, 125	Kersetin-O-(O-galloil)-hekzosit	PA, PV, PL, PP	Saldanha vd., 2013
40	20.30	450	449	316, 287, 271, 242, 214, 179, 151, 135	Mirsetin-3-O-pentozit	PL, PV	Rodríguez-Pérez vd., 2013
41	20.72	464	463	316, 287, 271, 259, 242, 214, 179, 163, 151, 137	Mirsetin-O-ramnozit	PA, PL, PP, PV	Saldanha vd., 2013
42	21.52	610	609	463, 301	Rutin st	PA, PL, PV, PP	Elez Garofulić vd., 2020
43	21.70	464	463	301, 272, 255, 245, 179, 163, 151, 121	Kersetin hekzosit	PA, PV, PL, PP	Rodríguez-Pérez vd., 2013
44	22.08	478	477	301, 283, 273, 255, 179, 163, 151, 121	Kersetin glukuronit	PL, PV, PP	Rodríguez-Pérez vd., 2013

Tablo 4.3*(Devam) Metanol ekstrelerinde tanımlanan bileşikler*

No	Rt	MA	M-H ⁻	Ms ²	Tanımlama	Bulunduğu Tür	Kaynak
45	22.81	433	432	300, 271, 255, 243, 227, 179, 151, 139	Kersetin-3-O pentozit	PL, PV	Rodríguez-Pérez vd., 2013
46	23.08	616	615	463, 317, 179, 169, 151	Mirsetin-O-(O-galloil)-ramnozit	PP PL PV	Saldanha vd., 2013
47	23.96	448	447	300, 271, 255, 179, 151, 121	Kersetin ramnozit st (Kersitrin)	PA, PL, PP PV	Pascale vd., 2020
48	24.17	318	317	179, 151, 137, 109	Mirsetin st	PV, PP	Rodríguez-Pérez vd., 2013
49	24.80	418	417	284, 255, 227, 185	Kemferol-pentozit	PL, PV	Rodríguez-Pérez vd., 2013
50	24.92	768	767	615, 449, 316, 169	Mirsetin-O-galloil-O-metilgalloil-pentozit	PP	
51	26.57	432	431	285, 255, 227, 185, 135	Kemferol-ramnozit	PL, PV	Rodríguez-Pérez vd., 2013
52	28.00	302	301	273, 179, 165, 151, 121	Kersetin st	PV, PL	Rodríguez-Pérez vd., 2013

Not*:stanalitik standart ile karşılaştırılarak tanımlama yapıldığını ifade etmektedir. MA:molekül ağırlığı, Rt:Alıkonma zamanı, PA:Pistacia atlantica, PL:Pistacia lentiscus, PP:Pistacia terebinthus, PV:Pistacia vera

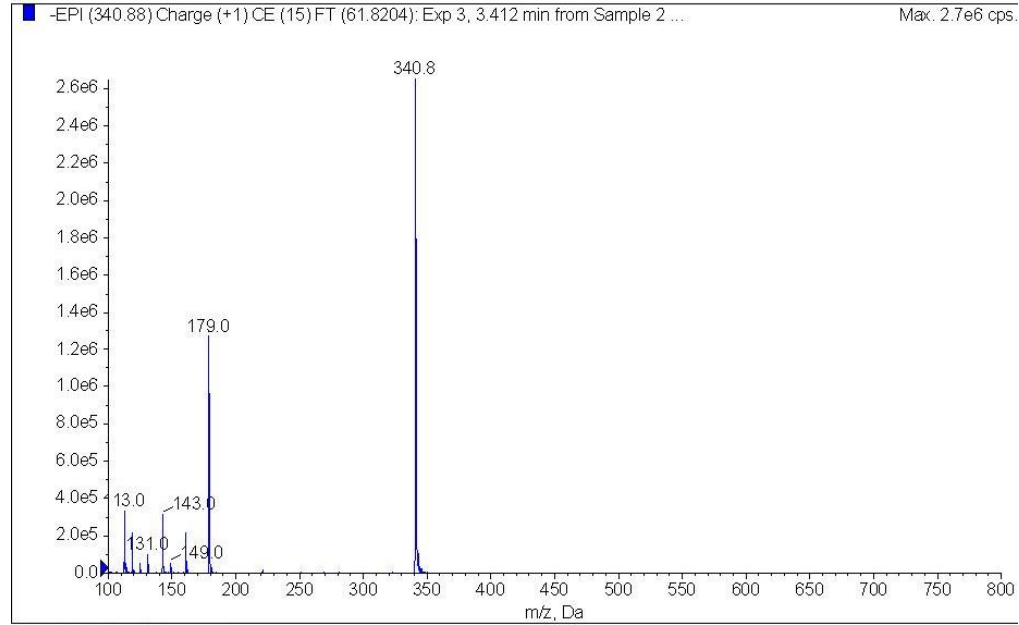
1 numaralı madde: m/z 341 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin kütle spektrumu incelendiğinde 162 amu'luk bir fark ile oluşan m/z 179 temel iyon piki dikkat çekmektedir. Şeker kopması ile açığa çıkan bu kütlelenin parçalanması ile m/z 161 m/z 125 ve m/z 113 kütleleri meydana gelmiştir. Literatür doğrultusunda 342 Da kütleyle sahip disakkaritlerin parçalanmaları ile benzerlikler göz önünde bulundurulduğunda kolonu 3.05 dk. da terk eden bu madde bir disakkarit türevi olarak yorumlanmıştır (Abidi vd., 2019) (Görsel 4.5).

2 numaralı madde: m/z 191 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine ve 3.47 tutunma zamanına sahip madde m/z 173 temel iyon piki vermiştir (Görsel 4.6). 18 amu'luk kayıp hidroksil grubu varlığını gösterirken bu pikten kopmalar sonucu m/z 137 $[M-H-18-18-18]^-$, m/z 127 $[M-$

H-46]⁻, m/z 108 pikleri oluşmuştur. 46 amu'luk kayıp bir karboksilik asit kopması, -54 amu'luk farkın ise üç hidroksil grubu kopması sonucu olduğu düşünülmüştür. Literatür ve standart madde ile de karşılaştırılarak bu madde kinik asit olarak tanımlanmıştır. (Saldanha vd., 2013)

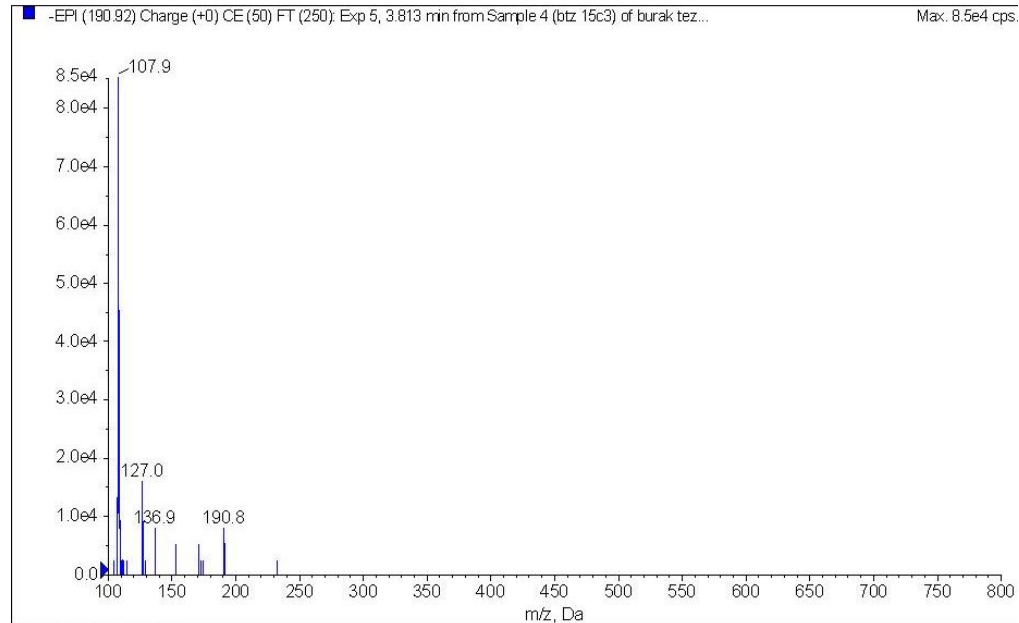
Görsel 4.5

1 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.6

2 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

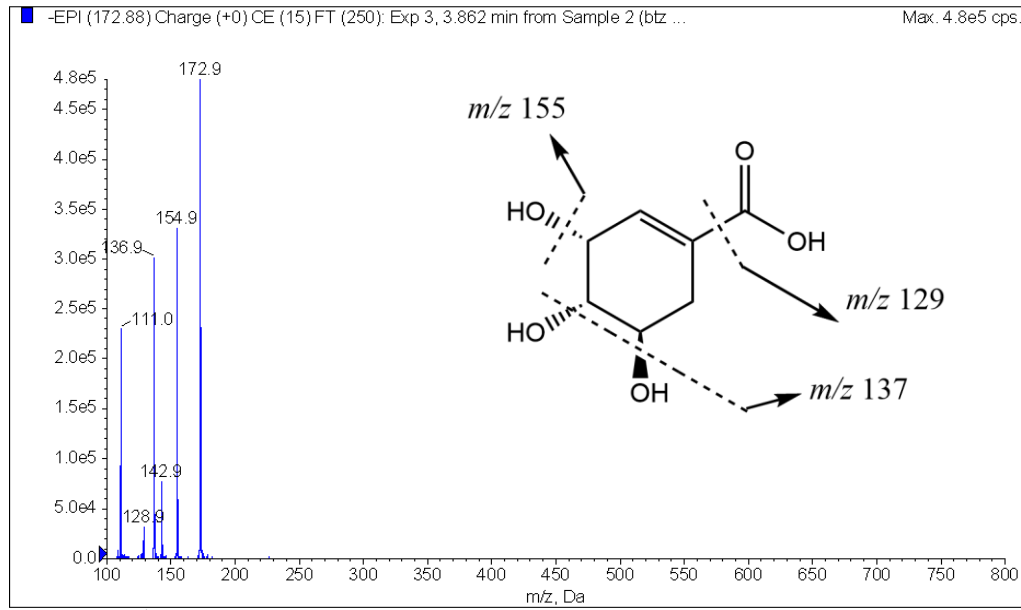


3 numaralı madde: m/z 173 moleküler iyon pikini veren ve 3.66 dk'da kolonu terk eden bileşikte yapıdan sıralı su kopmaları (-18 amu) sonucu m/z 155 [M-H-18]⁻ ve m/z 137 [M-

H-18-18]⁻ fragmentleri görülmüştür (Görsel 4.7). Ayrıca sıralı bir şekilde karboksilik asit (-44 amu) ve su çıkışıyla (-18 amu) meydana gelen m/z 129 [M-H-44]⁻ ve m/z 111 [M-H-44-18]⁻ kütleleri molekül yapısında birden fazla hidroksil grubu ve bir karboksilik asit varlığını göstermiştir. Ayrıca O-C1 ve C1-C2 halkalarının eş zamanlı kopmasıyla oluşan -30 amu'luk fark ile m/z 143 kütlesi de belirlenmiş ve literatür çalışmaları ile de desteklenerek bileşik şikimik asit olarak yorumlanmıştır (Anagnostou vd., 2023).

Görsel 4.7

3 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



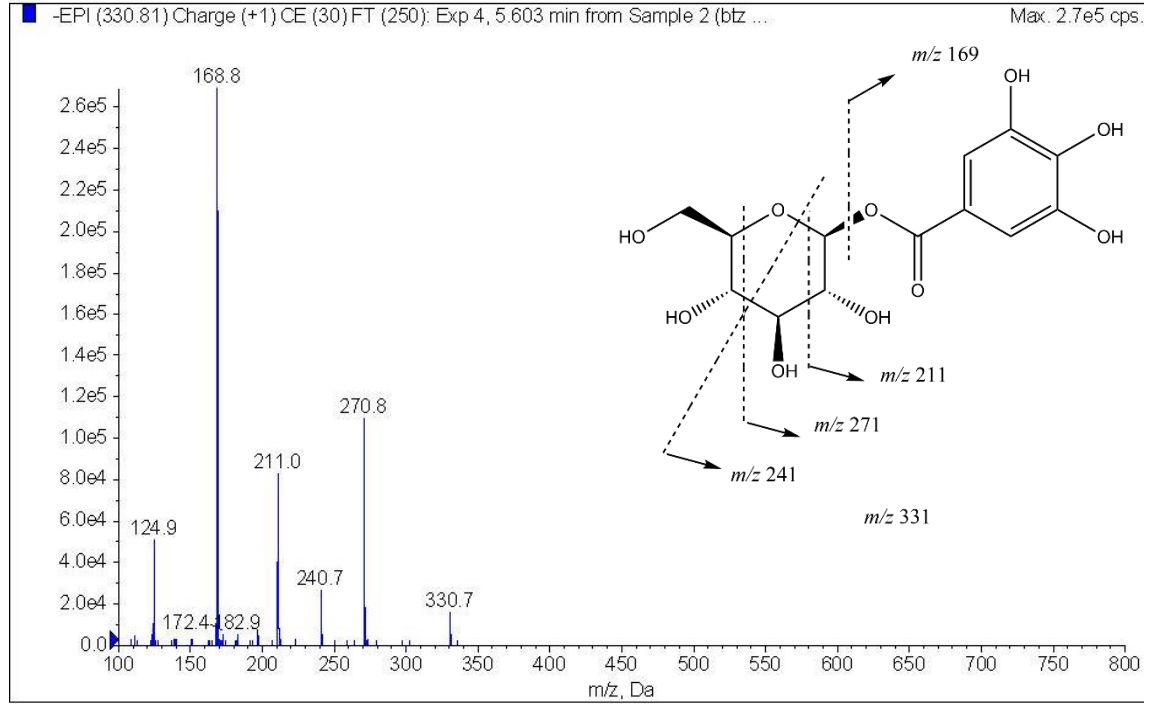
4 numaralı madde: 4.29 dk'da kolonu terk eden m/z 331 [M-H]⁻ moleküler iyon pikine sahip maddeden m/z 271, 241, 211 fragmentleri spektrumda görülmüş ve sıralı 30, 60, 90 ve 120 amu'luk kayıplar bir şeker molekülünün klasik halka için kırılmalarına işaret ederken bunun yanında 162 amu'luk kayıp bir şeker kopmasını kuvvetlendirmiştir. Ayrıca m/z 169 karakteristik gallik asit piki ile madde gallik asit heksosit'i olarak tanımlanmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013) (Görsel 4.8).

5 numaralı madde: Kolonu 5.54 dk'da terk eden bileşik m/z 493 moleküler iyon pikine sahiptir. Şeker kopması sonucu (-162 amu) oluşan m/z 331 piki daha sonra sırasıyla gallik asit-O-heksosit'in şekerinin kendi içindeki bağ kırılmaları ile ilişkili olan m/z 271 [M-H-162-60]⁻, m/z 241 [M-H-162-90]⁻ ve m/z 211 [M-H-162-120]⁻ piklerini vermiştir. Ayrıca m/z 169 ve 125 kütleleri yapıdaki gallik asit varlığını doğrulamıştır. Buna ek olarak m/z 331 → m/z 313 fragmenti de su kaybı sonucu oluşmuştur. Literatür ile karşılaştırıldığında

bu bileşik gallik asit-di-O-hekzosit olarak yorumlanmış ve *Pistacia* yapraklarında ilk defa tanımlanmıştır (Mohsen vd., 2020) (Görsel 4.9).

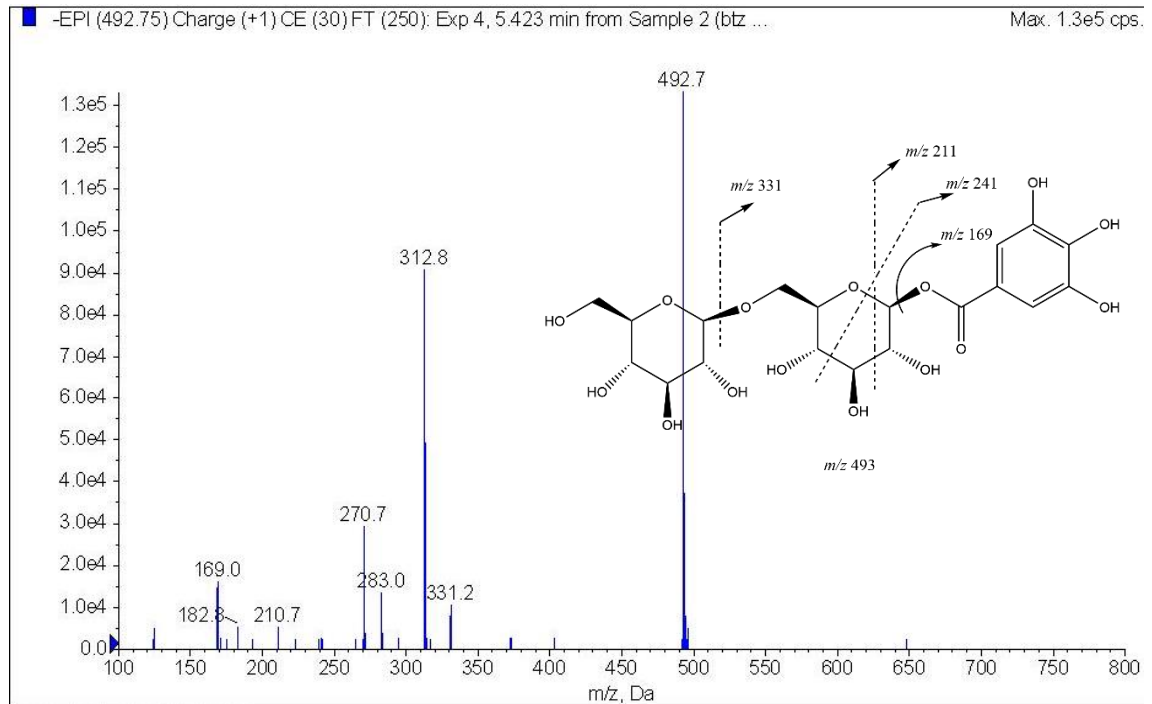
Görsel 4.8

4 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.9

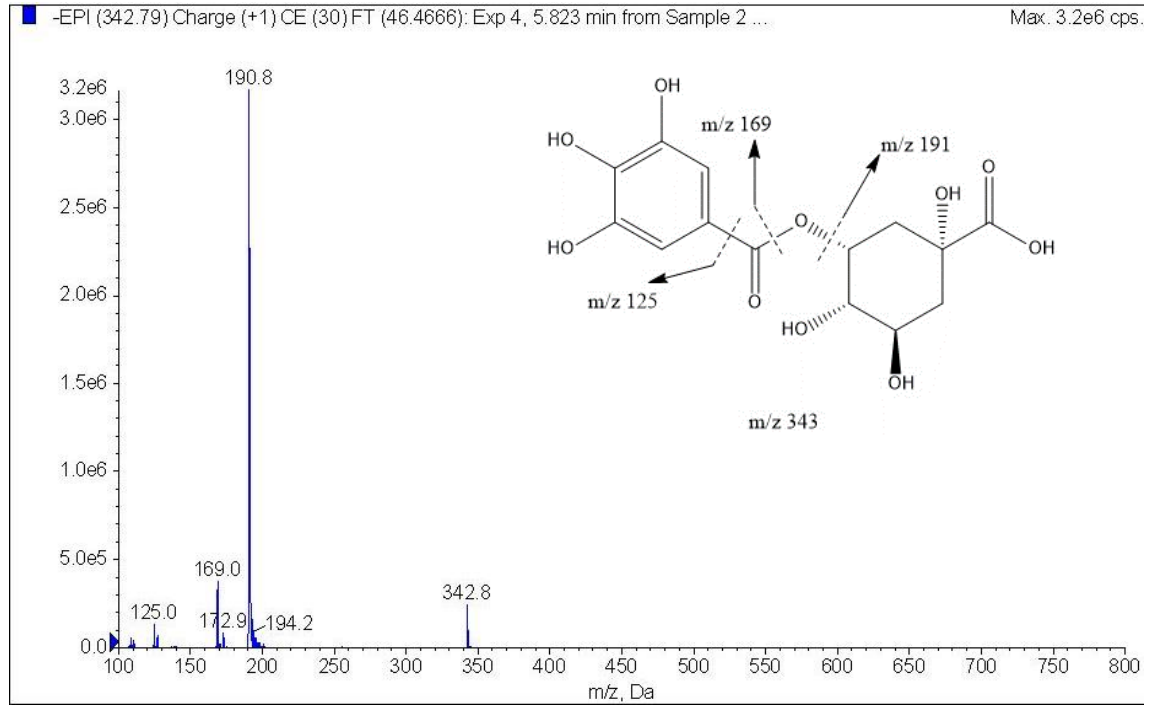
5 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



6 numaralı madde: 5.82 dk'da kolonu terk eden m/z 343 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip bileşikte m/z 191 $[M-H-152]^-$ kinik asit'e ait temel iyon piki belirlenmiştir (Görsel 4.10). Ana yapıdan 152 amu'luk kayıp bir galloil ünitesini düşündürürken, m/z 169 piki gallik asit varlığını desteklemiştir. m/z 169 $\rightarrow$ m/z 125 piki yine gallik asit'e ait karakteristik bir karboksilik asit kaybını (-44 amu) göstermiştir. m/z 191 $\rightarrow$ m/z 173 esnasında da bir su çıkışı gözlemlenmiştir. Literatür ile de karşılaştırılarak molekül galloilkinik asit olarak değerlendirilmiştir (Sannomia vd., 2022; Rodríguez-Pérez vd., 2013; Cliffor vd., 2007).

Görsel 4.10

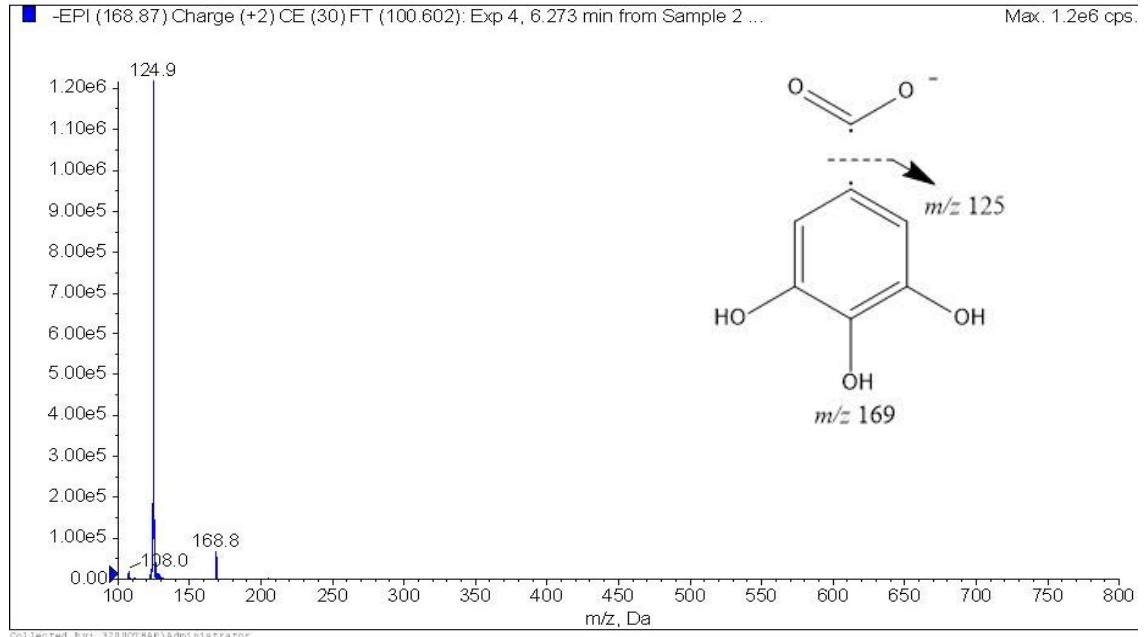
6 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



7 numaralı madde: m/z 169 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip ve karboksil kopması sonucu m/z 125 $[M-H-44]^-$ (-CO₂) temel iyon piki veren madde referans ile de karşılaştırılarak gallik asit olarak tanımlanmıştır (Görsel 4.11).

Görsel 4.11

7 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

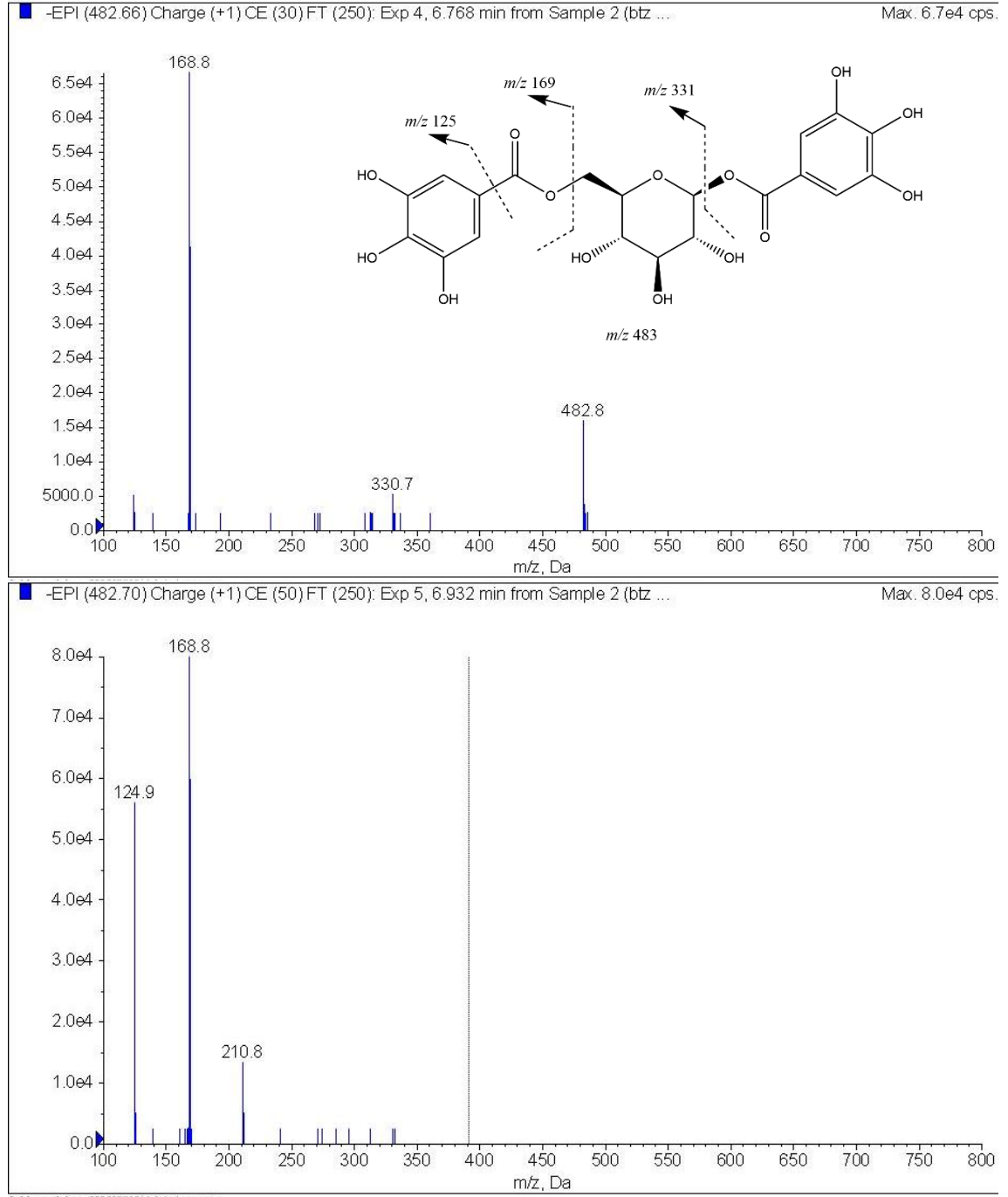


8 numaralı madde: m/z 483 moleküler iyon pikine sahip ve 6.14 dk'da kolonu terk eden bileşik galloil kopması sonucu m/z 331 $[M-H-152]^-$ pikini vermiştir. Bu yapıdan da bir şeker molekülü kopması sonucu $[M-H-152-162]^-$ m/z 169 kütlesi oluşmuş ve yapıda iki adet gallik asit varlığı anlaşılmıştır. Literatür ile de karşılaştırılarak molekül digalloil hekzos olarak tanımlanmıştır (Esmat vd., 2012) (Görsel 4.12).

9 numaralı madde Kolonu 6.76 dk'da terk eden ve $[M-H]^-$ 305 moleküler iyon pikine sahip bileşiğin sırasıyla m/z 287 $[M-H-H_2O]^-$, m/z 261, m/z 219 $[M-H-C_3O_2]^-$, m/z 203 $[M-H-C_3O_2-H_2O]^-$, m/z 179, m/z 175, m/z 163 $[M-H-126]^-$, m/z 137 $[M-H-168]^-$, m/z 125, m/z 109 fragmentleri gözlenmiştir. Özellikle m/z 219 ve m/z 203 $[M-H-C_3O_2-H_2O]^-$ fragmentleri, flavan-3-ol iskeletinde C halkasının RDA benzeri bir parçalanma yoluyla önce C_3O_2 ardından H_2O kaybetmesi ile oluşmaktadır. Bu veriler kateşin/epikateşin'e bir -OH grubunun daha eklenmesiyle oluşan gallokateşin/epigallokateşin yapısına işaret etmiştir. Ayrıca kateşine özgü fragmentlerden +16 Da'lık fragmentler (m/z 261, 179, 167 gibi) ile de gallokateşin varlığı kuvvetlendirilmiştir. Tüm bunların sonucunda bileşik daha önce *Pistacia* yapraklarında da tanımlanmış gallokateşin veya epigallokateşin olarak yorumlanmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013) (Görsel 4.13).

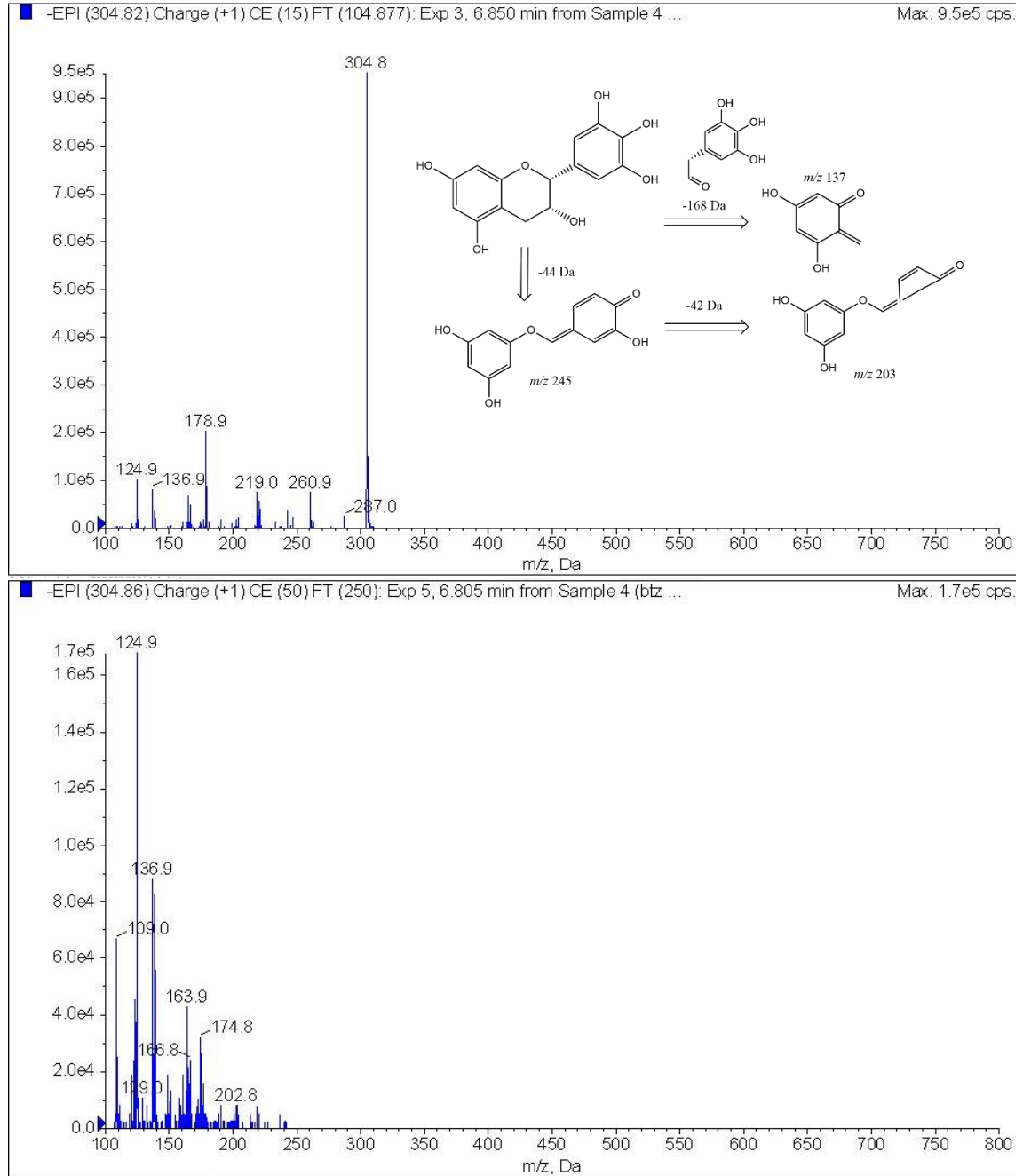
Görsel 4.12

8 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.13

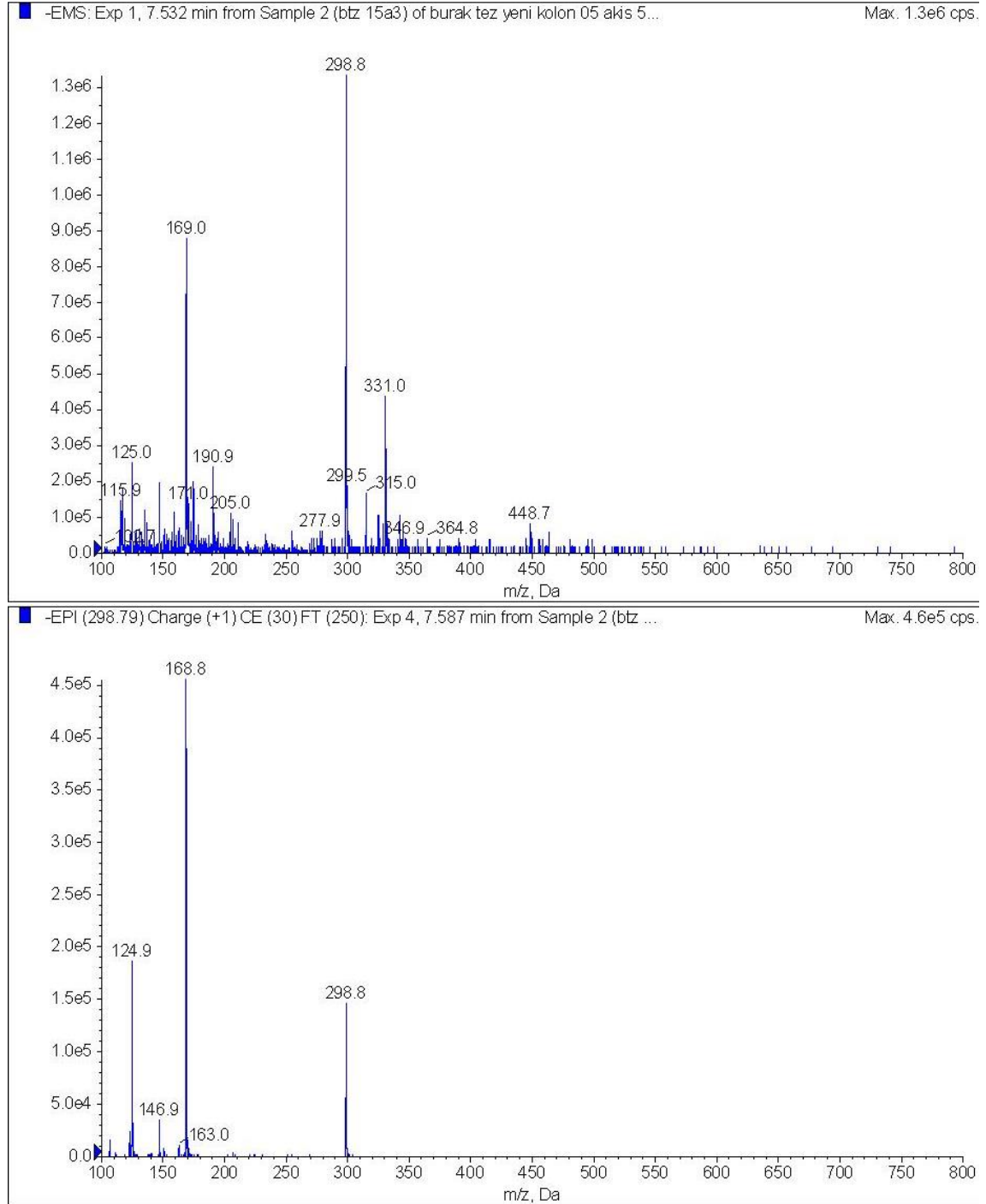
9 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



10 numaralı madde m/z 299 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip molekül m/z 169 temel iyon pikini vermiştir. Kolonu 7.49 dk'da terk eden bu bileşikte m/z 125 fragmentinin de gözlemlenmesiyle bir gallik asit yapısının bulunduğu düşünülmüştür. m/z 299 $\rightarrow$ m/z 147 oluşumu esnasındaki -152 amu kaybı yine galloil birimini gösterirken, yapının m/z 147 pikine sahip olabilecek bir molekülün gallik asit ile esterleşmesi sonucu oluşabileceği düşünülmüştür. Bu bileşik bir gallik asit türevi olarak değerlendirilmiştir (Görsel 4.14).

Görsel 4.14

10 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

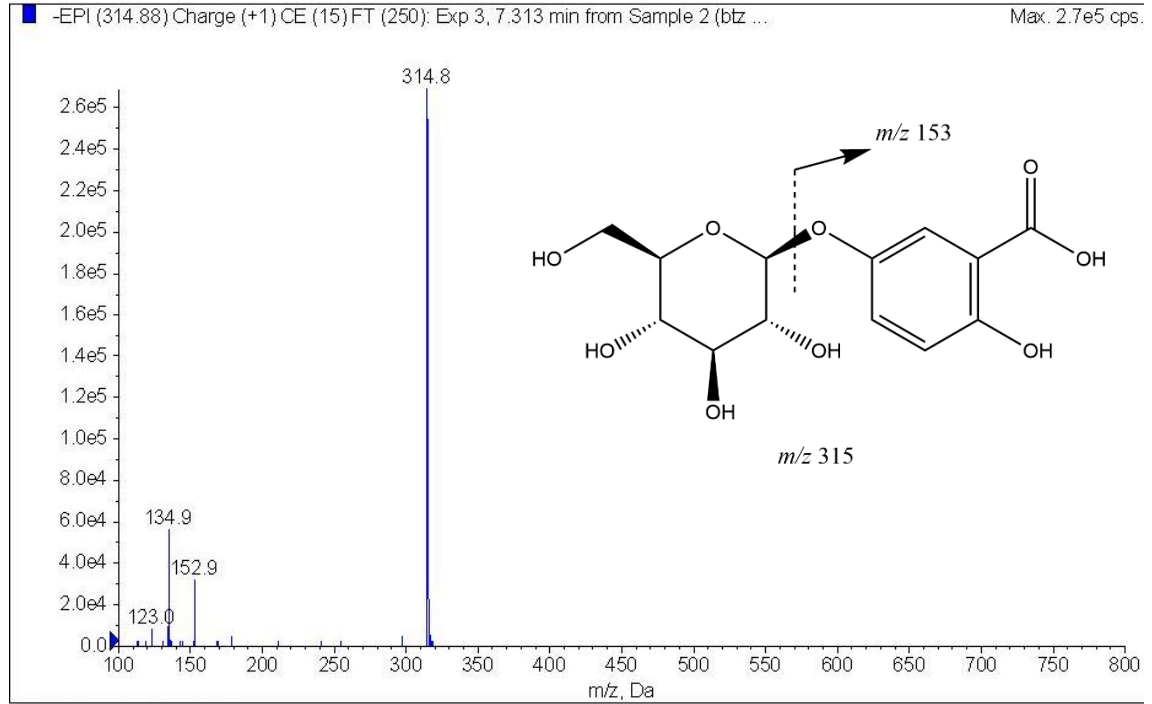


11 numaralı madde: Kolonu 7.77 dk'da terk eden ve m/z 315 moleküler iyon piki veren maddeden 162 amu'luk heksos kopması sonucu m/z 153 kütlesi oluşmuştur. Dihidroksi benzoik asit yapısı olarak düşünülen bu kütleden -18 amuluk su kaybı ile oluşan m/z 135 ve CH_2O kopması sonucu (-30 amu) oluşan m/z 123 yapıdaki hidroksil grubunu kuvvetlendirmiştir (Görsel 4.15). Protokateşik asit (3,4-dihidroksi benzoik asit) ve

gentisik asit (2,5-dihidroksi benzoik asit) bitkilerdeki en yaygın dihidroksi benzoik asit türevleri iken literatür taramaları sonucu gentisik asit'in çeşitli *Pistacia* yapraklarında tanımlanması dolayısıyla bileşik gentisik asit-*O*-hekzosit olarak tanımlanmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013; Kirollos vd., 2019).

Görsel 4.15

11 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

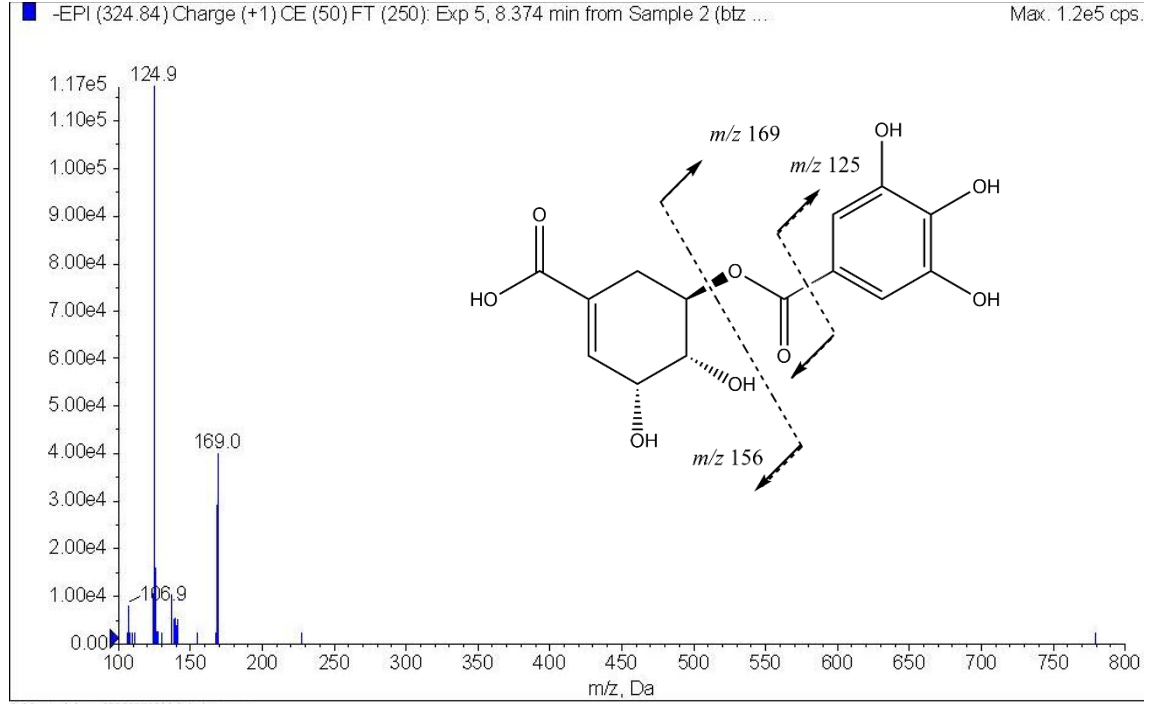


12 numaralı madde: m/z 325 moleküler iyon pikini veren madde kolonu 8.43 dk'da terk etmiştir. Parçalanma ürünlerinden m/z 169 ve m/z 125 yapıdaki gallik asit varlığını göstermiştir. Gallik asit kütlesi oluşurken açığa çıkan m/z 156 amu'luk fark literatür ile de karşılaştırılarak daha önce *Pistacia* yapraklarında tanımlanmış bir molekül olan galloilşikimik asit ile ilişkilendirilmiştir (Chaves vd., 2023) (Görsel 4.16).

13 numaralı madde: m/z 357 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip ve 9.37 dk'da kolondan çıkan madde m/z 169 temel iyon piki vermiştir. m/z 191 pikinin moleküler iyon pikinden 166 amu'luk bir metil galloil kopması ile oluştuğu ve kinik asit'e ait olduğu sonucuna varılmıştır (Görsel 4.17). Ayrıca gallik asit'e ait olan m/z 169 ve m/z 125 pikleri bunu desteklemiştir. Sonuç olarak madde metil galloilkinik asit olarak tanımlanmıştır (Sannomia vd., 2022).

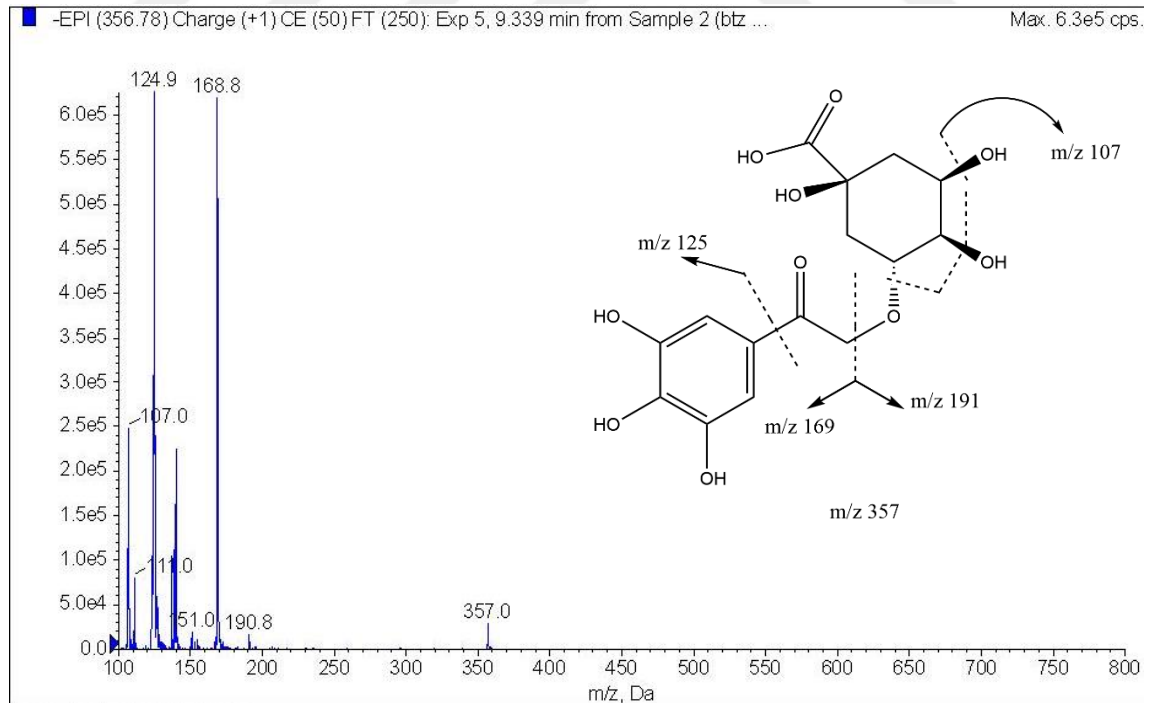
Görsel 4.16

12 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.17

13 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



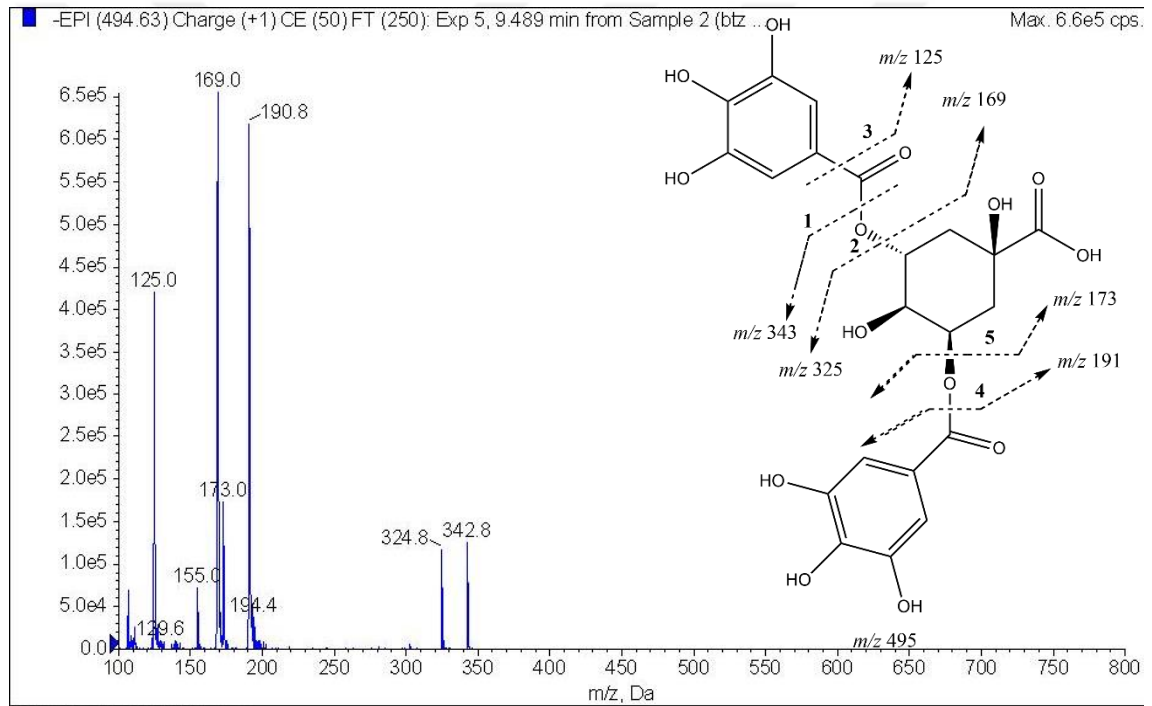
14 numaralı madde: m/z 495 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip molekül m/z 343 temel iyon pikini vermiştir. m/z 191, m/z 169, m/z 125 ve m/z 107 pikleri kinik asit ve gallik asit varlığını göstermiştir (Görsel 4.18). Temel iyon pikinin oluşmasında rol oynayan 152

amu'luk kopma galloil yapısına işaret etmiştir. Bu da galloilkinik asit yapısına bir gallik asit'in daha bağlandığını göstermiş ve madde digalloil kinik asit izomeri olarak tanımlanmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013; El Bishbishy vd., 2020; Cliffor vd., 2007).

Gallik asitlerin pozisyonel bağlanma noktalarının değerlendirilmesinde ise gallik asit ve kinik asit'e bağlı kütlelerin benzer olması belirleyici olmuştur. m/z 191 ve m/z 169 piklerinin benzer yoğunlukta ve kuvvetli gelmesi, dekarboksilasyon piklerine rastlanmaması, literatür ile de kıyaslanarak bileşiğin 3,5-di-O-galloilkinik asit olabileceğini düşündürmüştür.

Görsel 4.18

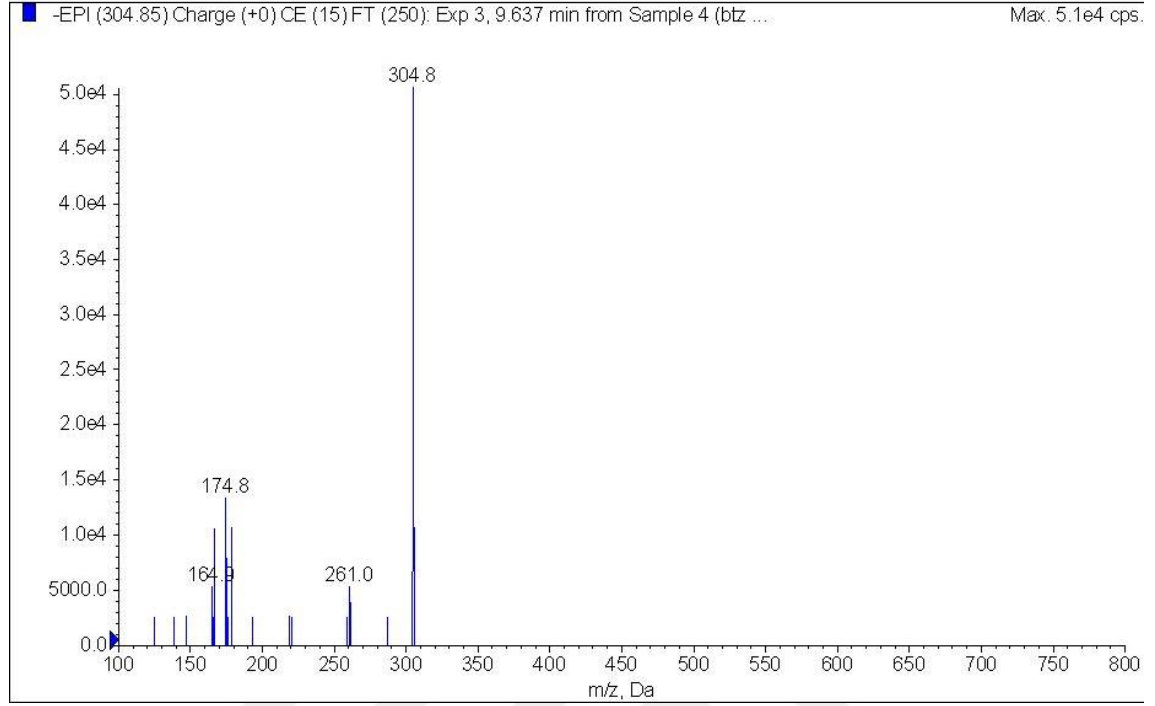
14 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



15 numaralı madde m/z 305 moleküler iyon piki veren ve kolonu 9.62 dk'da terk eden molekül, 9 numaralı madde ile aynı kütle ve benzer bir parçalanma ile benzer fragmentleri vermektedir (Görsel 4.19). Bu sebeple madde gallokateşin/epigallokateşin olarak yorumlanmıştır (Pacifio vd., 2014).

Görsel 4.19

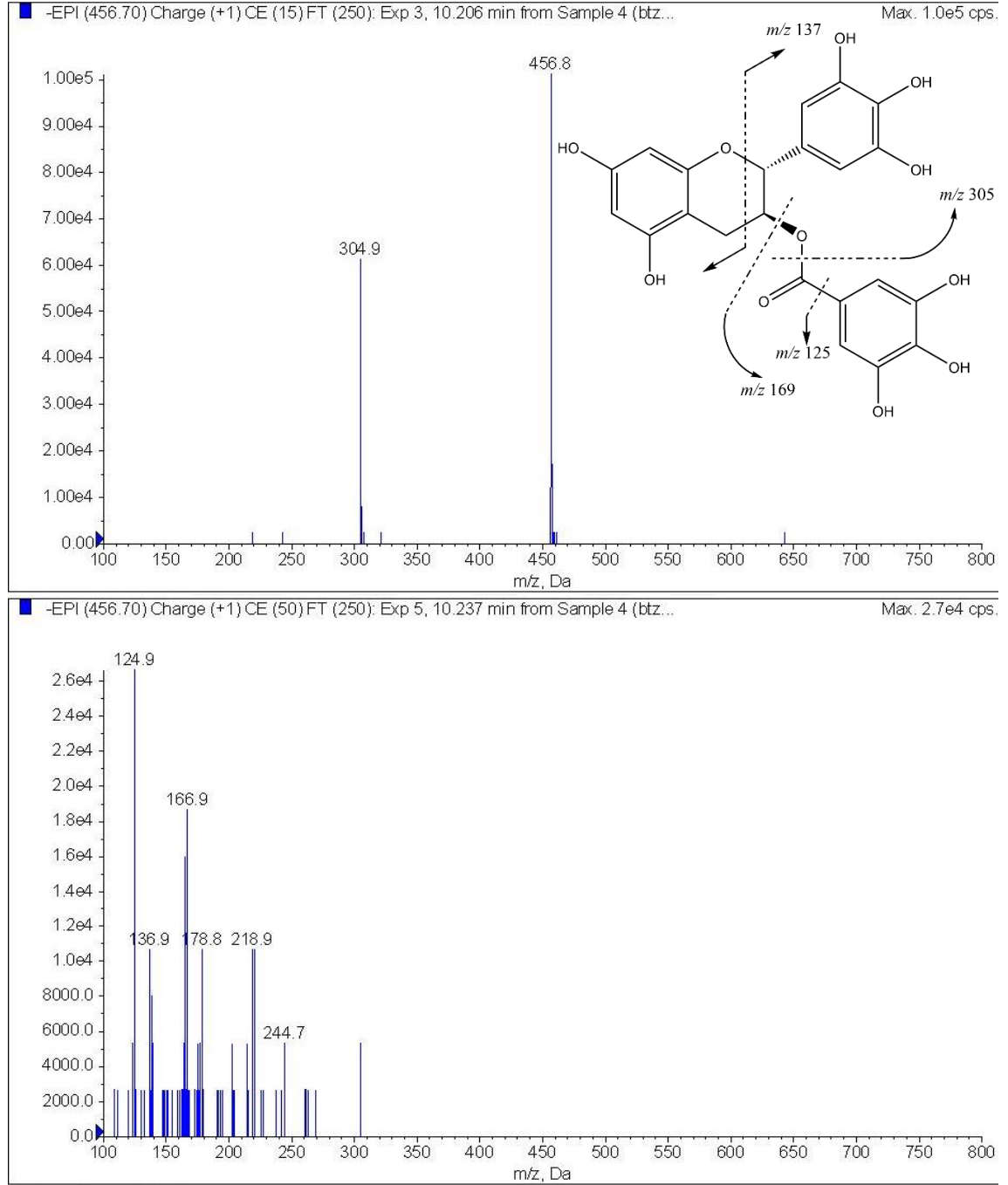
15 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



16 numaralı madde m/z 457 moleküler iyon piki veren bileşikten -152 amu'luk bir galloil ünitesi kopması ile m/z 305 temel iyon piki oluşmuştur (Görsel 4.21). 9 ve 16 numaralı maddelerde anlatılan flavan-3-ol iskeletinin RDA ve buna benzer kırılmaları ile oluşturduğu m/z 245, m/z 219, m/z 179 ve m/z 137 fragmentleri gözlemlenmiştir. Buna ek olarak m/z 169 ve m/z 125 kütleleri ile yapıdaki gallik asit belirlenmiştir. Bu bilgiler ışığında gallokateşin/epigallokateşin-O-gallat olarak tanımlama yapılmıştır. Analitik standart Epigallokateşin-3-O-gallat maddesi aynı şartlarda kolonu daha geç terk ettiği için bu molekül Gallokateşin-3-O-gallat olarak tanımlanmıştır (El Bishbishy vd., 2020).

Görsel 4.20

16 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



17 numaralı madde m/z 495 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip molekül m/z 343 temel iyon pikini vermiştir. m/z 191, m/z 169, m/z 125 ve m/z 107 pikleri kinik asit ve gallik asit varlığını göstermiştir. Temel iyon pikinin oluşmasında rol oynayan 152 amu'luk kopma galloil yapısına işaret etmiştir. Bu da galloilkinik asit yapısına bir gallik asit'in daha bağlandığını göstermiş ve madde digalloil kinik asit izomeri olarak tanımlanmıştır (El Bishbishy vd., 2020; Rodríguez-Pérez vd., 2013; Clifford vd., 2007) (Görsel 4.20).

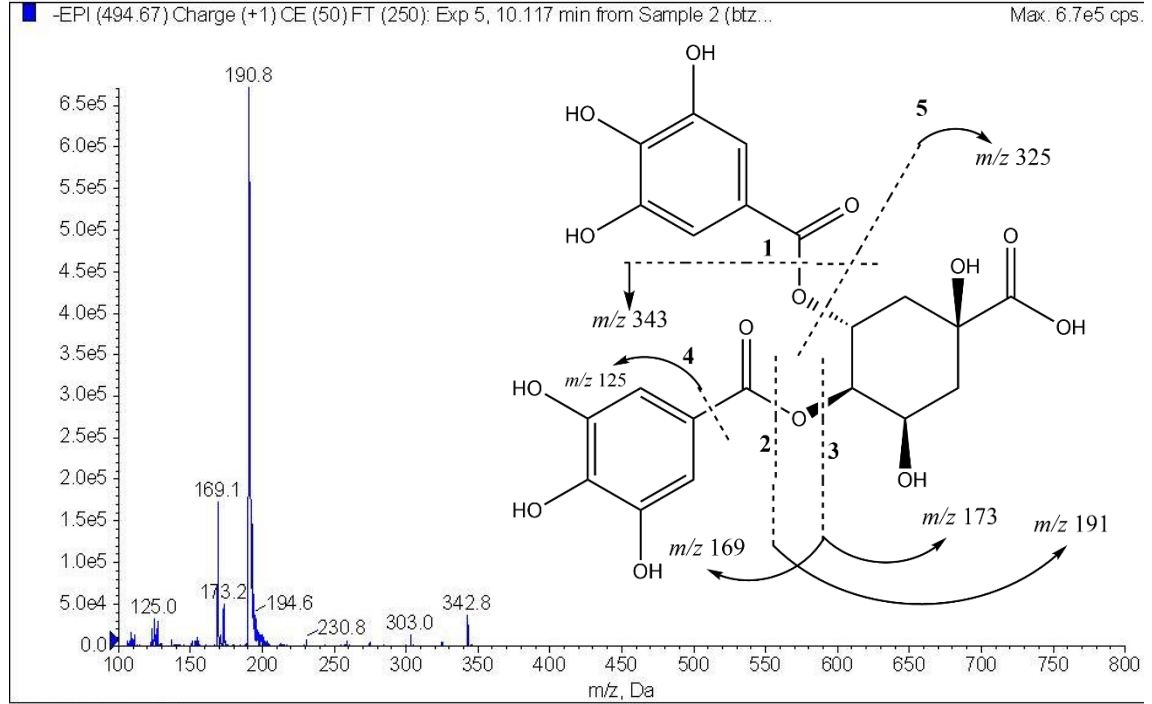
3,5-diGKA sonrasında geldiği için 4,5-di pozisyonu olma ihtimali hem polarite hem de dekarboksilasyon fragmentleri dolayısıyla göz ardı edilmiştir. Yapının muhtemel olarak 3,4-diGKA olabileceği üzerinde durulmuştur. m/z 303, 231, 201 fragmentleri ve ayrıca m/z 191 kinik asit pikinin baskın olması sebebiyle bileşiğin muhtemelen 3,4-di-O-galloilkinik asit olabileceği düşünülmüştür.

18 numaralı madde: m/z 289 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin temel iyon piki m/z 245 olarak gözlemlenmiştir. m/z 289 $\rightarrow$ 245 $[M-H-44]^-$ ($-CO_2$) piki ile flavan-3-ol yapısındaki A halkasının açılması sonucu oluşan m/z 205 ve m/z 203 pikleri literatür ile de karşılaştırıldığında karakteristik kateşin/epikateşin fragmentasyonu olduğu belirlenmiştir. Ardından standart kateşin ile karşılaştırıldığında aynı R_t değeri ve fragmentasyon yolları sebebiyle bileşik (-)-kateşin olarak tanımlanmıştır (Görsel 4.22).

19 numaralı madde: m/z 183 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin temel iyon piki m/z 169 olarak gözlemlenmiştir. Temel iyon pikinin yanında m/z 125 piki gallik asit varlığına işaret ederken 14 amu'luk kayıp yapıya bir metil grubu bağlandığını göstermiştir (Görsel 4.23). Böylece molekül metil gallat olarak tanımlanmıştır. (Bishbishy vd., 2020; Rodríguez-Pérez vd., 2013; Romani vd., 2002).

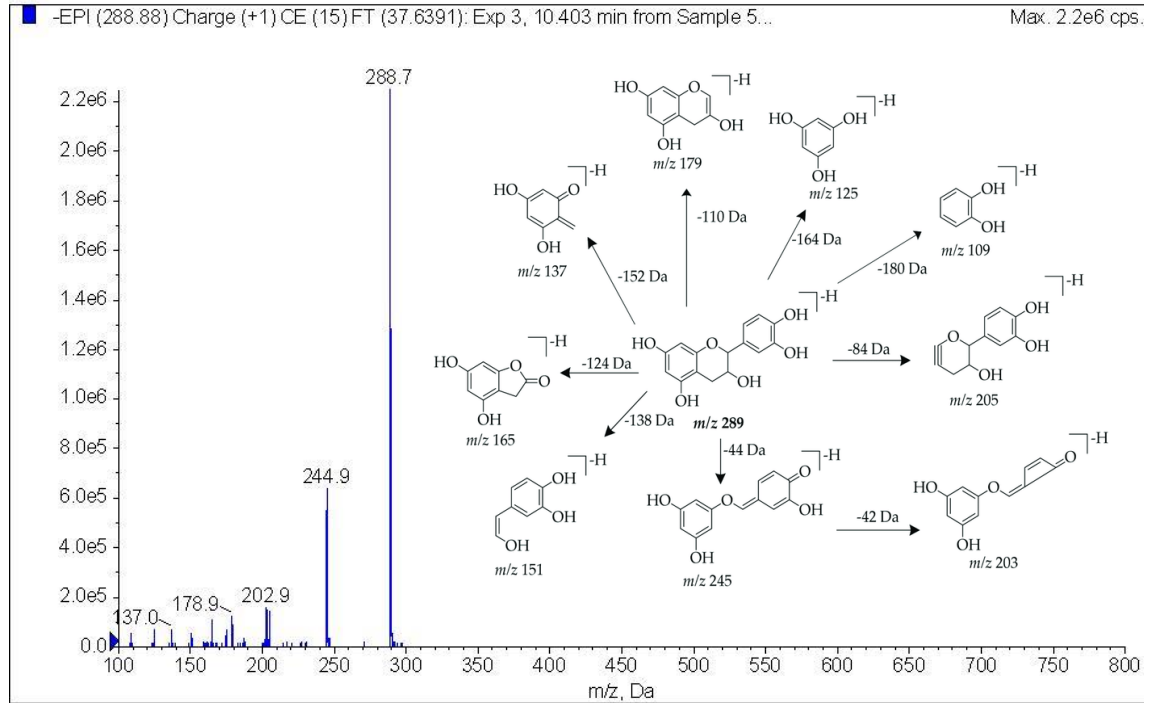
Görsel 4.21

17 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



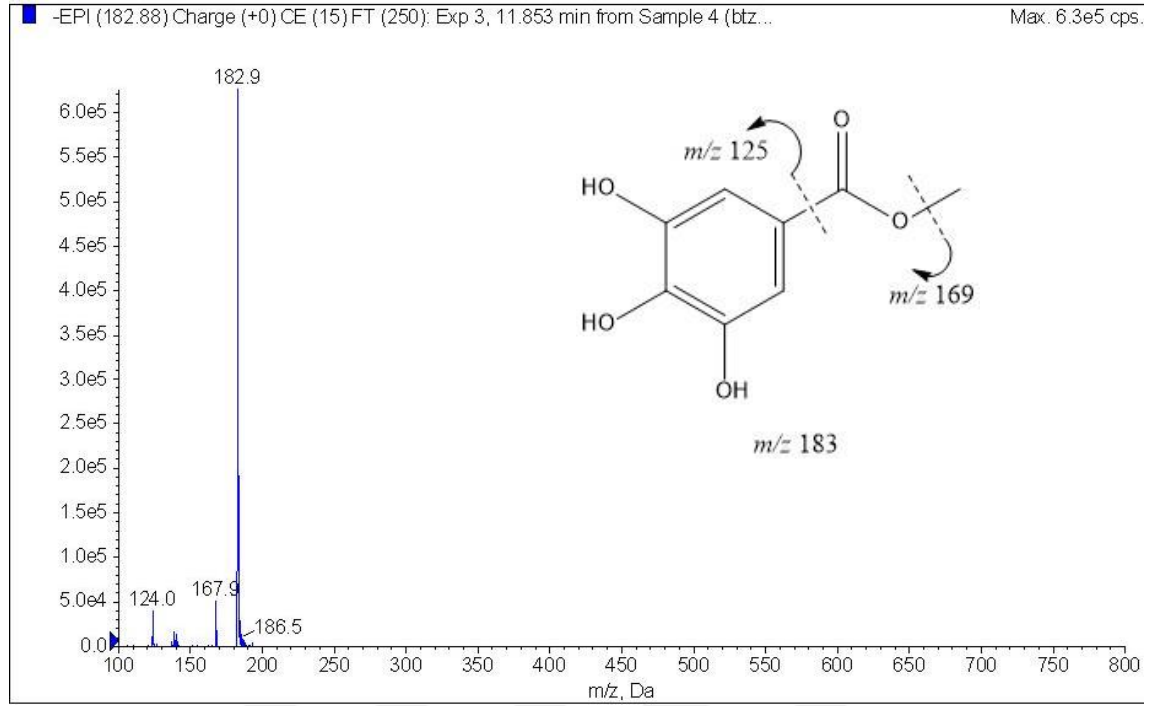
Görsel 4.22

18 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.23

19 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

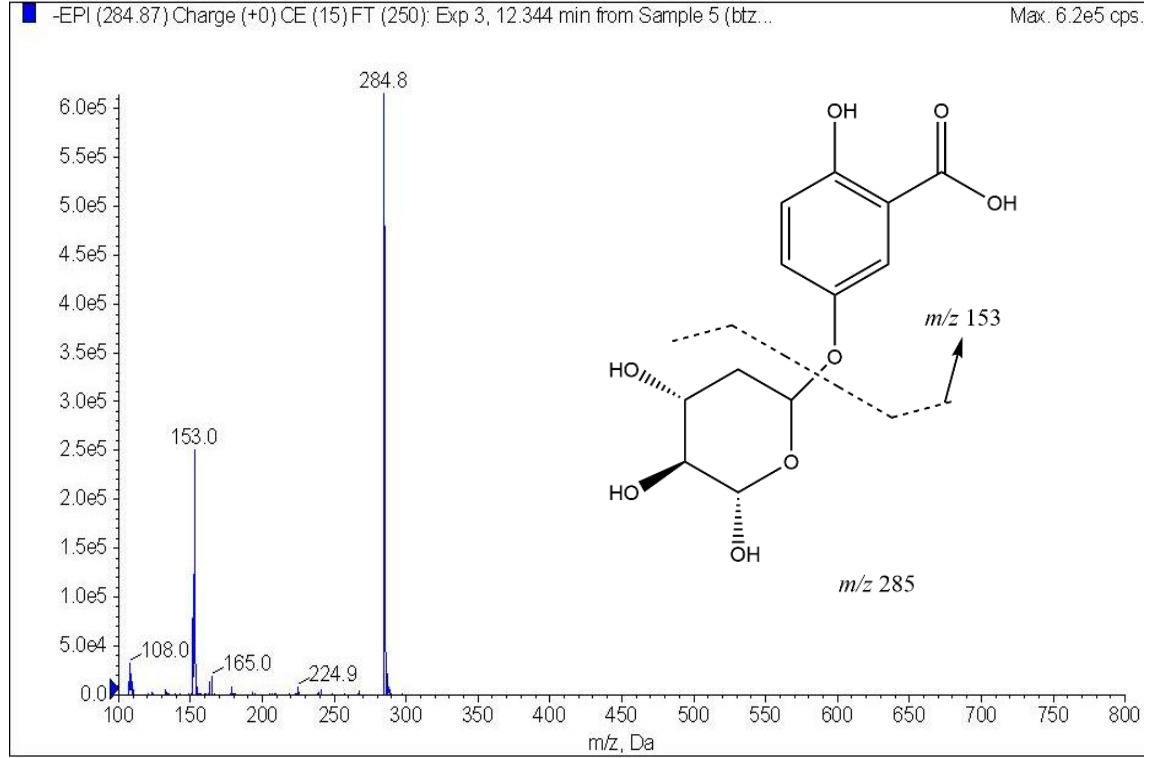


20 numaralı madde: Kolonu 12.01 dk'da terk eden ve m/z 285 moleküler iyon piki veren maddeden 132 amu'luk pentoz kopması sonucu m/z 153 kütlesi oluşmuştur. Dihidroksi benzoik asit yapısı olarak düşünülen bu kütleden -18 amu'luk su kaybı ile oluşan m/z 135 ve CH_2O kopması sonucu (-30 amu) oluşan m/z 123 yapıdaki hidroksil grubunu kuvvetlendirmiştir (Görsel 4.24). Protokateşik asit (3,4-dihidroksi benzoik asit) ve gentisik asit (2,5-dihidroksi benzoik asit) bitkilerdeki en yaygın dihidroksi benzoik asit türevleri iken literatür taramaları sonucu gentisik asit'in çeşitli *Pistacia* yapraklarında tanımlanması dolayısıyla bileşik gentisik asit-O-pentozit (uralenneozit) olarak tanımlanmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013).

21 numaralı madde, 18 numaralı madde (gallokateşin gallat) ile aynı moleküler iyon pikine (m/z 457 $[\text{M}-\text{H}]^-$) sahip ve benzer bir fragmentasyon mekanizması ile parçalanmıştır. Standart madde ile de karşılaştırılarak bu molekül epigallokateşin gallat olarak tanımlanmıştır (Görsel 4.25).

Görsel 4.24

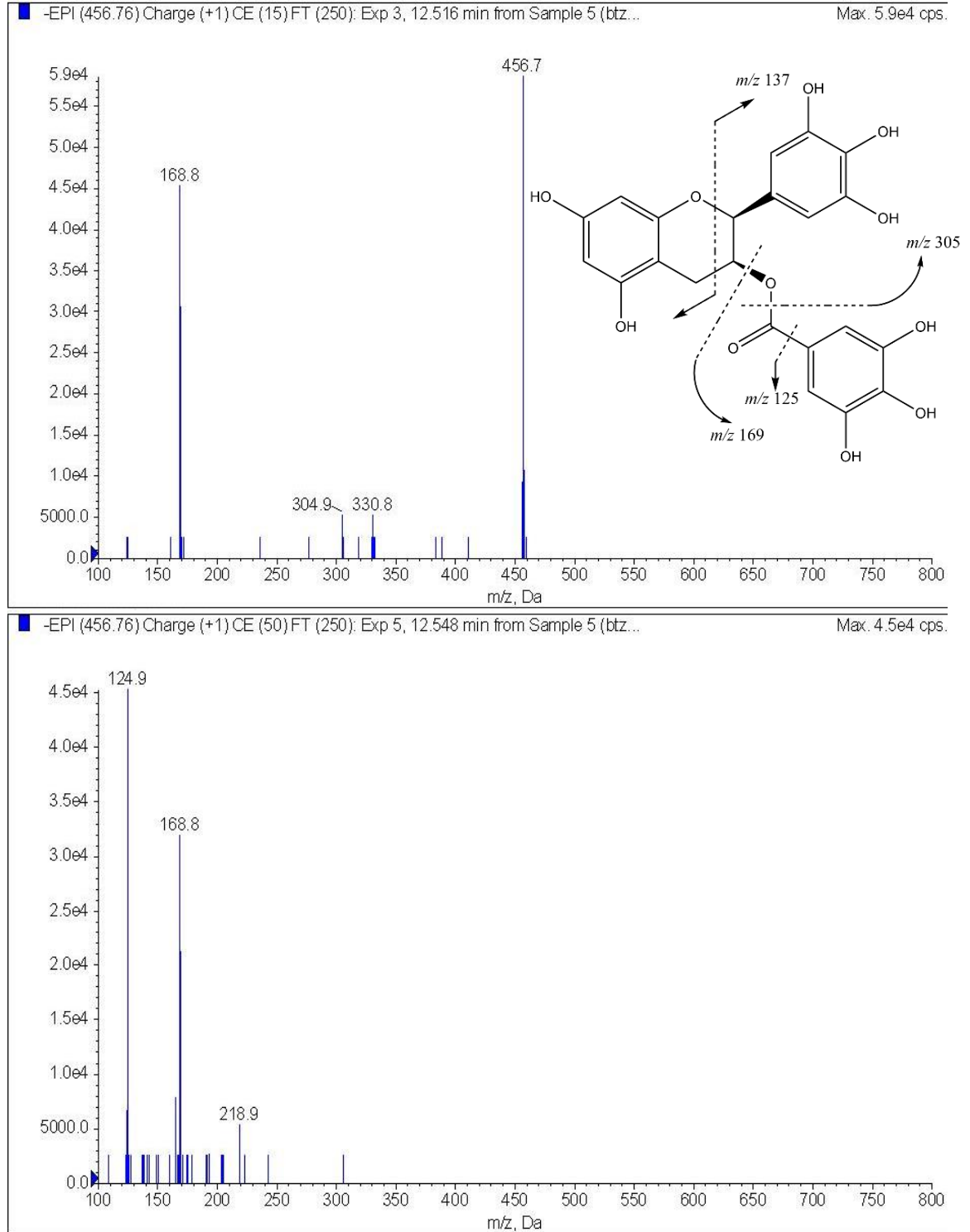
20 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



22 numaralı madde: m/z 647 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip molekül m/z 495 temel iyon pikini vermiştir. 152 amu'luk bu kopmanın yanı sıra aynı kütlede kopmalarla oluşan m/z 495 $\rightarrow$ 343 $[M-H-152]^-$ ve m/z 343 $\rightarrow$ 191 $[M-H-152]^-$ pikleri ile m/z 169 piki yapıda üç adet gallik asit ve bir kinik asit (m/z 191) olduğunu göstermiştir. Bu bilgiler ile madde trigalloil kinik asit (Pistafolin A) olarak tanımlanmıştır (El Bishbishy vd., 2020; Rodríguez-Pérez vd., 2013; Clifford vd., 2007) (Görsel 4.26).

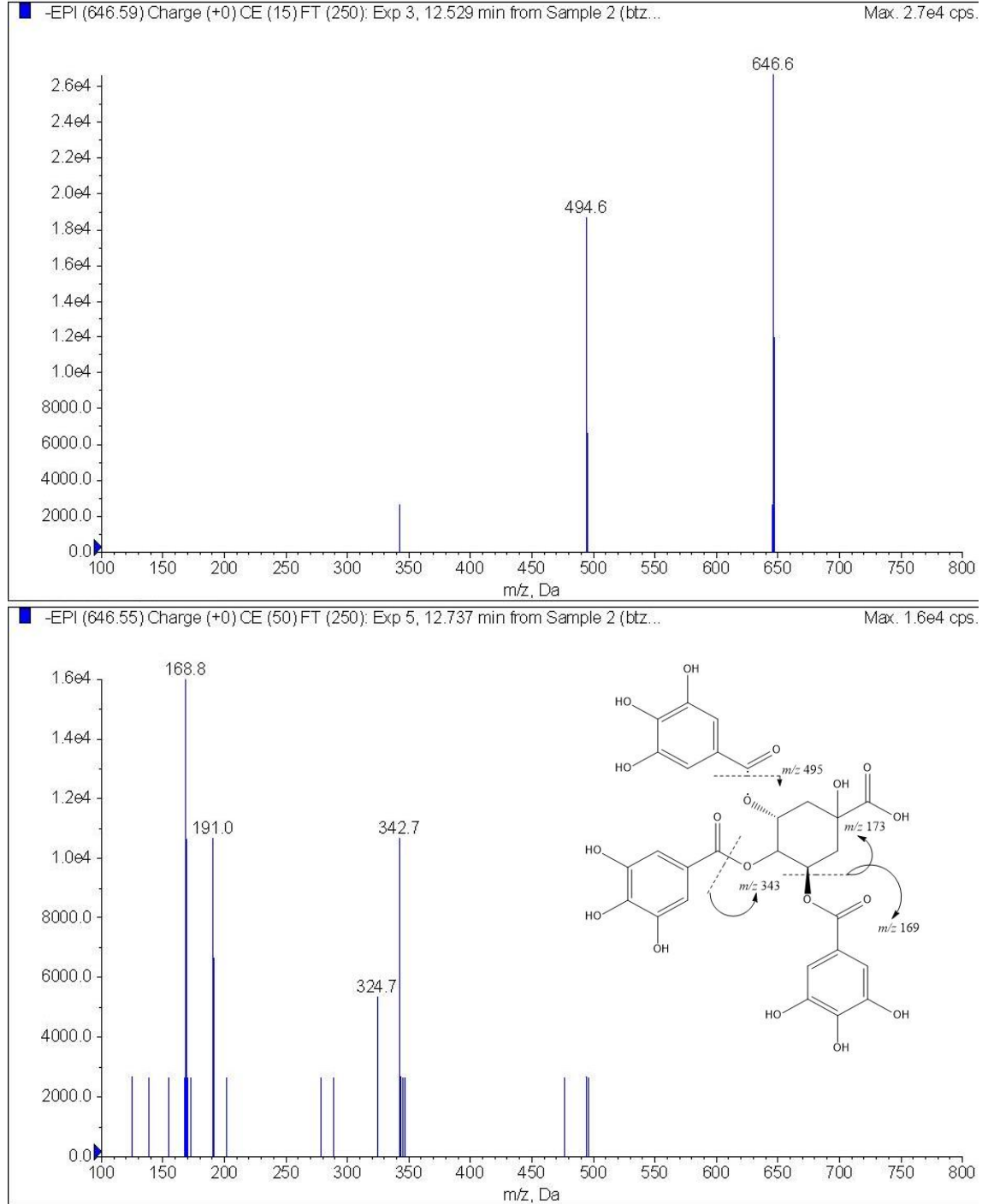
Görsel 4.25

21 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.26

22 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

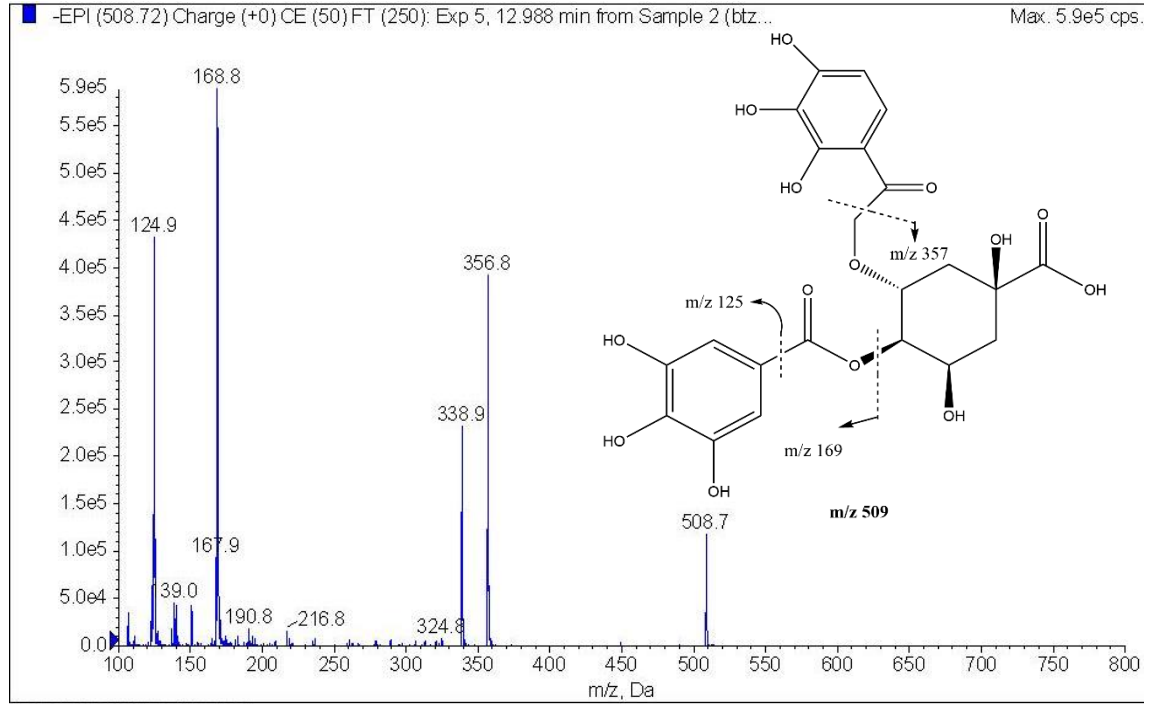


23 numaralı madde: m/z 509 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin temel iyon piki 152 amu'luk bir galloil kopması sonucu oluşan m/z 357 olarak gözlemlenmiştir. Bu fragmentten oluşan m/z 357 $\rightarrow$ 191 $[M-H-166]^-$ ve m/z 357 $\rightarrow$ 339 $[M-H-18]^-$ pikleri esnasında oluşan 166 amu ve 18 amu'luk farklar sırasıyla metilgalloil ve hidroksil

kopmalarını göstermiştir. Ayrıca gallik asit çekirdeğine ait m/z 169 ve 125 pikleri gözlemlenmiştir (Görsel 4.27). Bu bilgiler ışığında 7 numaralı madde olan metilgalloil kinik asit'e bir gallik asit'in daha bağlanmasıyla oluşan bu molekül *O*-galloil-*O*-metilgalloil kinik asit olarak tanımlanmıştır (Nogueira vd., 2015).

Görsel 4.27

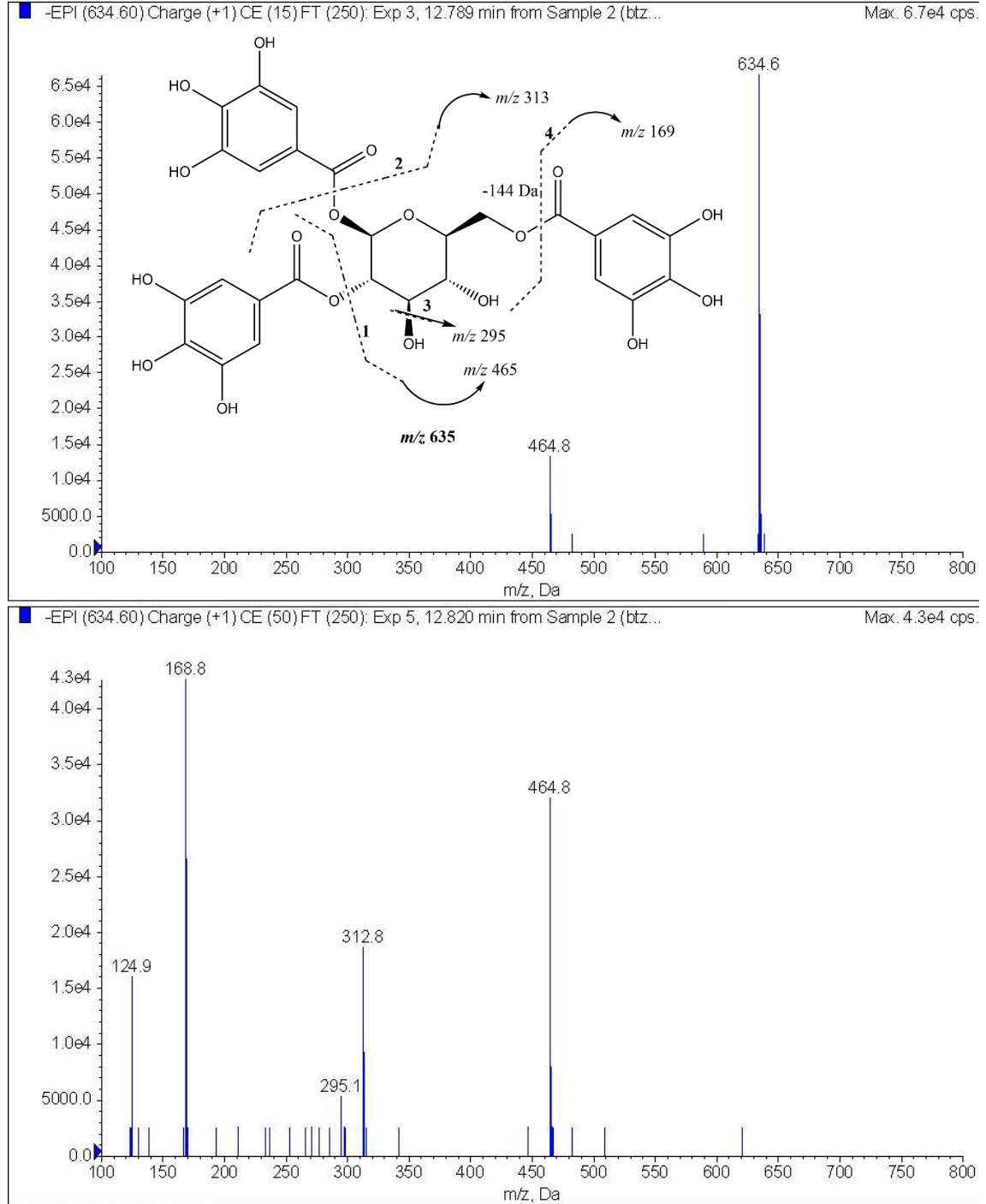
23 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



24 numaralı madde Kolonu 12.90 dk'da terk eden bileşik m/z 635 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikini vermiştir. Parçalanma ürünleri arasında m/z 169 ve m/z 125 piklerinin görünmesi yapıda gallik asit'in varlığına işaret etmiştir. Moleküler iyon pikinden m/z 465 fragmenti oluşurken ortaya çıkan -170 amu'luk farkın bir galloil ve su $[M-H-152-18]^-$ kaybından kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu fragmentten bir galloil ünitesinin daha kopmasıyla (-152 Da) m/z 313 $[M-H-152-18-152]^-$ fragmenti oluşmuştur. Bundan bir su kaybı ile m/z 295 $[M-H-152-18-152-18]^-$ kütlesi gözlemlenmiştir. Burada özellikler m/z 313 $\rightarrow$ m/z 169 kopması esnasında -144 amu'luk bir su kaybı olmuş ve fragmentasyonun ilk yolağında galloil üniteleri fazladan su kaybı ile yapıdan koptuğu için -162 amu'luk hekzos kopmasının bu sebeple 144 Da olarak gözlemlendiği düşünülmüştür (Görsel 4.28). Ayrıca *Pistacia* türlerinde -mono ve -di galloil glukozlar da daha önce tanımlanmıştır. Bu bulgulardan hareketle bileşik Trigalloil glukoz olarak tanımlanmıştır (Ben Ahmed vd., 2016).

Görsel 4.28

24 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

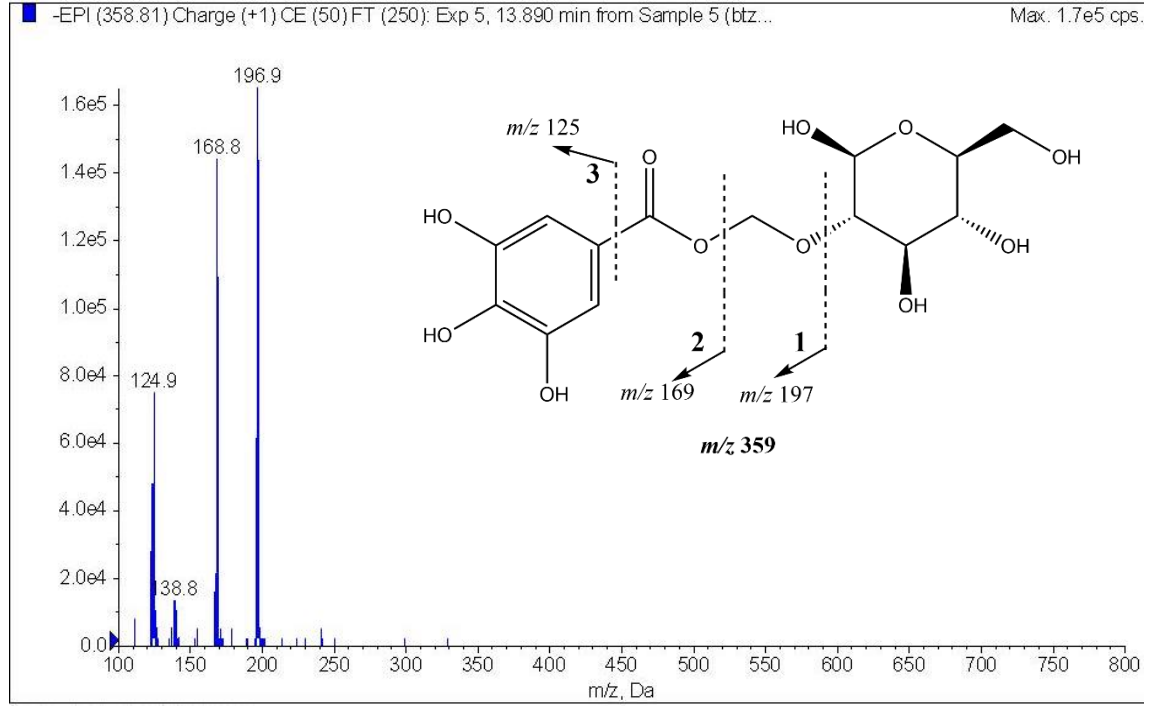


25 numaralı madde: m/z 359 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddeden -162 amu'luk kayıp sonrası m/z 197 fragmentinin oluştuğu düşünülmüş ve yapıdaki şeker varlığı anlaşılmıştır. m/z 169 ve m/z 125 fragmentleri karakteristik olarak gallik asit ile ilişkilendirilmiştir. m/z 197 $\rightarrow$ m/z 169 parçalanması ile oluşan -28 amu'luk kütle farklı yapıdan bir etil grubunun koptuğuna işaret etmiştir (Görsel 4.29). Etil gallat'ın *Pistacia*

yapraklarında daha önce tanımlanması sebebiyle yapının bir etil gallat-*O*-hekzos olduğu düşünülmüştür (Gok vd., 2022).

Görsel 4.29

25 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

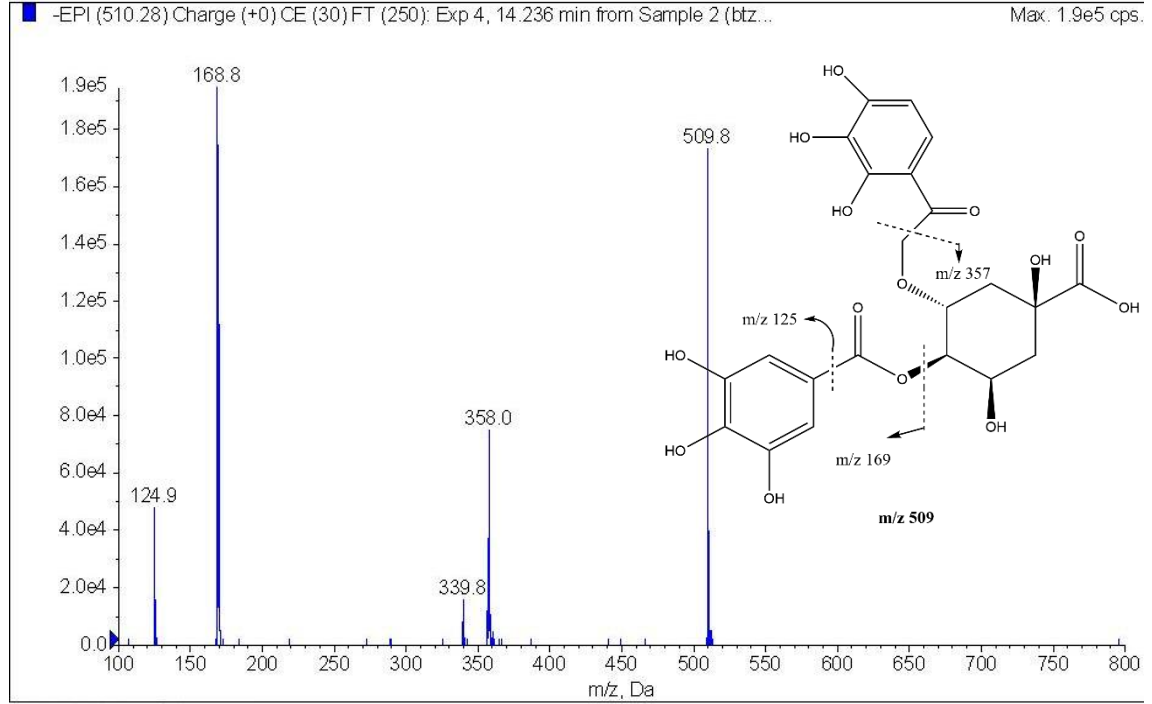


26 numaralı madde 25 numaralı madde ile aynı moleküler iyon pikini veren bu bileşik (m/z 509 $[M-H]^-$) benzer fragmentasyon yolları sergilemiştir (m/z 509 $\rightarrow$ 357 $[M-H-152, \text{gallaolil kopması}]^-$; m/z 357 $\rightarrow$ 191 $[M-H-166, \text{metil gallat kopması}]^-$; m/z 357 $\rightarrow$ 339 $[M-H-18, \text{hidroksil kopması}]^-$; m/z 339 $\rightarrow$ 325 $[M-H-14, \text{metil kopması}]^-$). Bu bilgiler ışığında molekül *O*-galloil-*O*-metilgalloil kinik asit izomeri olarak tanımlanmıştır (Nogueria vd., 2015) (Görsel 4.30).

27 numaralı madde m/z 647 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip molekül m/z 495 temel iyon pikini vermiştir (Görsel 4.31). 152 amu'luk bu kopmanın yanı sıra aynı kütlede kopmalarla oluşan m/z 495 $\rightarrow$ 343 $[M-H-152]^-$ ve m/z 343 $\rightarrow$ 191 $[M-H-152]^-$ pikleri ile m/z 169 piki yapıda üç adet gallik asit ve bir kinik asit (m/z 191) olduğunu göstermiştir. Ayrıca poligalloil kinik asitlerin pozisyonel farklılıklarına göre oluşan veya yoğunluğu değişen m/z 325 $[M-H-152-152-18]^-$, m/z 289 $[M-H-152-152-18-18-18]^-$ ve m/z 173 gibi dekarboksilasyon ve dehidratasyon fragmentleri de gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgular ve literatür verileriyle desteklenerek madde trigalloil kinik asit olarak tanımlanmıştır (El Bishbishy vd., 2020; Rodríguez-Pérez vd., 2013; Cliffor vd., 2007).

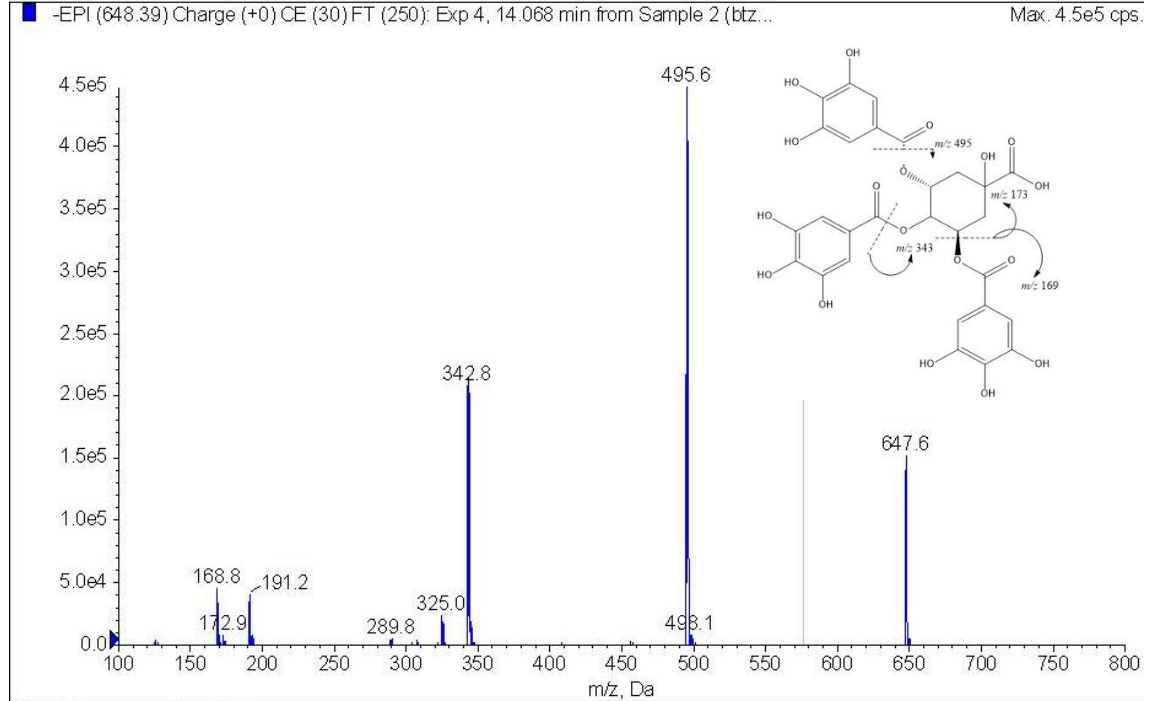
Görsel 4.30

26 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.31

27 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

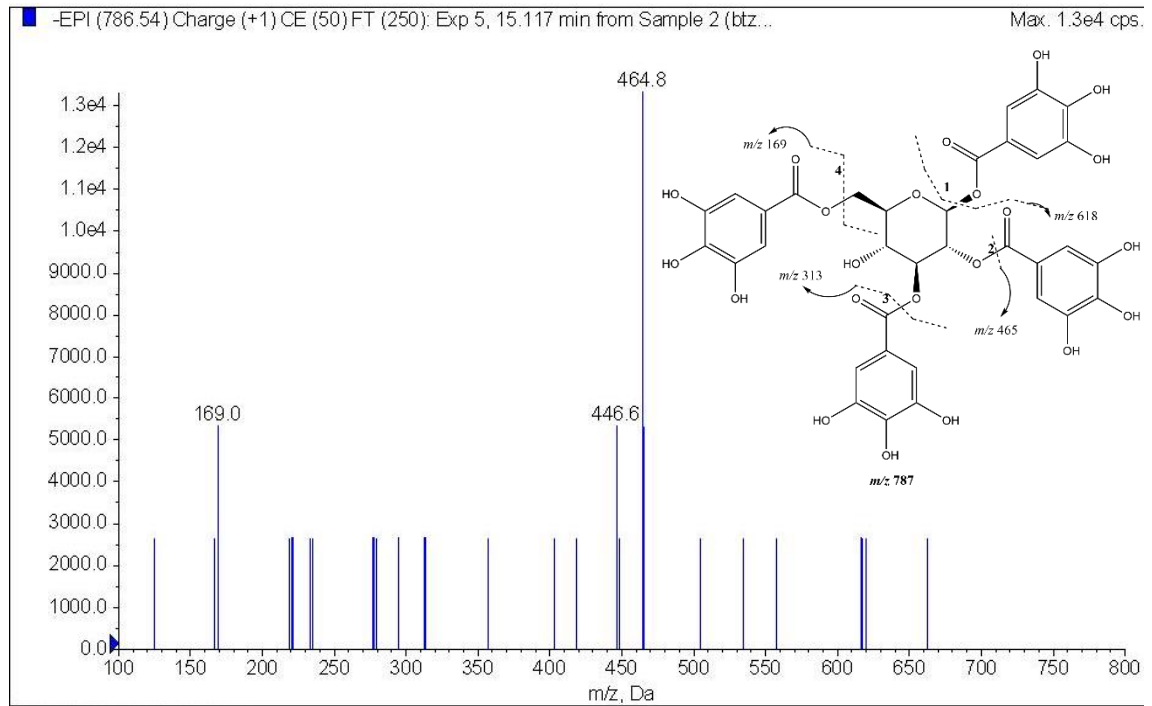


28 numaralı madde Kolonu 15.04 dk'da terk eden ve m/z 787 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip bileşik m/z 465 $[M-H]^-$ temel iyon piki göstermiştir. Bu esnada oluşan -322 amu'luk farkın galloil+gallik asit (152+170 Da) kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. m/z

169 [M-H]⁻ fragmenti bileşikte gallik asit bulunduğuna işaret etmiştir (Görsel 4.32). Literatür ile karşılaştırıldığında bu kütleyle sahip bileşik *Pistacia* yapraklarında daha önce tetragalloil glukoz olarak tanımlanmıştır. Ayrıca bitkide -mono, -di ve -tri galloil glukoz gibi bileşikler de bulunmuştur. Bu bilgiler, 28 numaralı bileşiğin tetragalloil glukoz olarak tanımlamasını kuvvetlendirmiştir. Bileşiğin düşük miktarı sebebiyle fragmentler tam gözlemlenmese de bileşiğin tetragalloil glukoz olabileceği düşünülmüştür (Ben Ahmed vd., 2016).

Görsel 4.32

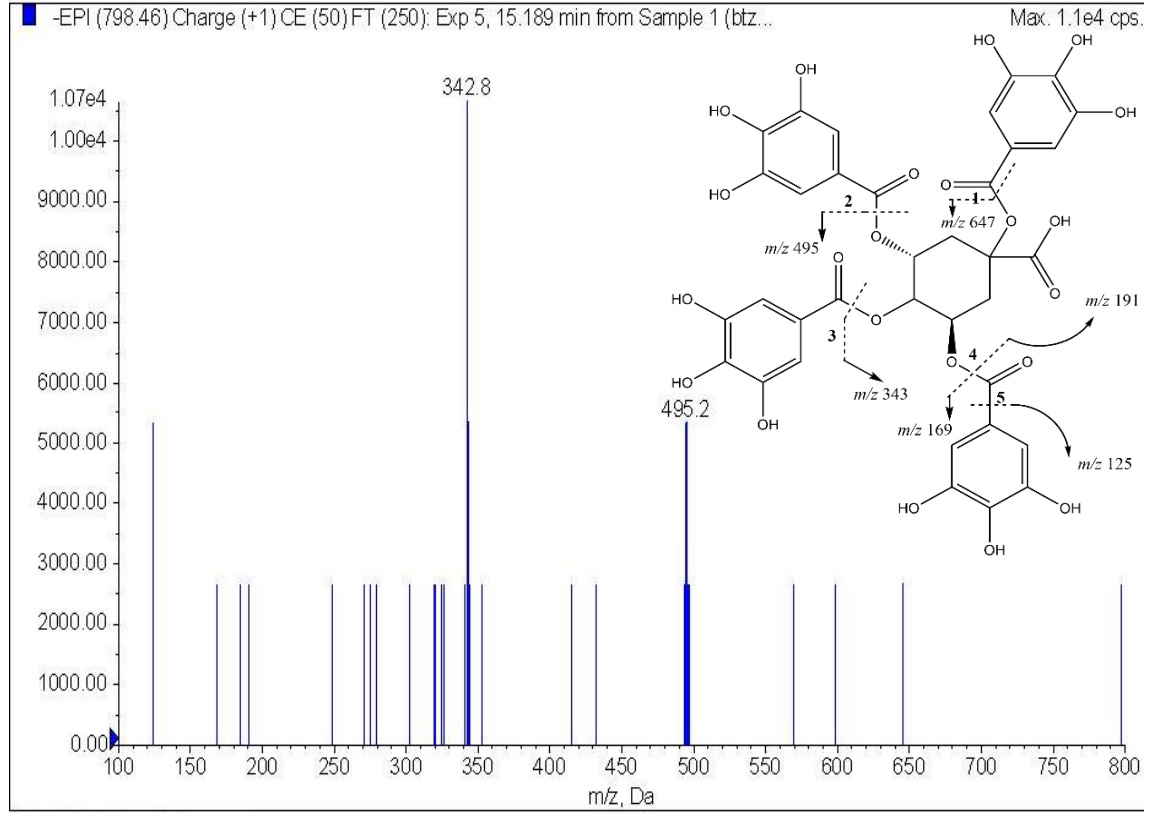
28 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



29 numaralı madde Kolonu 15.52 dk'da terk eden ve m/z 799 [M-H]⁻ moleküler iyon pikine sahip bileşikten seri -152 amu'luk kopmalar sonucu sırasıyla m/z 647 [M-H-152], m/z 495 [M-H-152-152], m/z 343 [M-H-152-152-152] ve m/z 191 [M-H-152-152-152-152] kütleleri oluşmuştur. Bu kopmalar sırasındaki kütle farkı galloil ünitesini gösterirken m/z 169 ve m/z 125 kütleleri de bunu doğrulamıştır. Ayrıca seri 4 adet galloil kopması sonucu açığa çıkan m/z 191 kütlesi ise kinik asit çekirdeğini gösterdiği için literatür ile de kıyaslanarak molekül tetragalloil kinik asit olarak tanımlanmıştır (Ben Ahmed vd., 2016) (Görsel 4.33)

Görsel 4.33

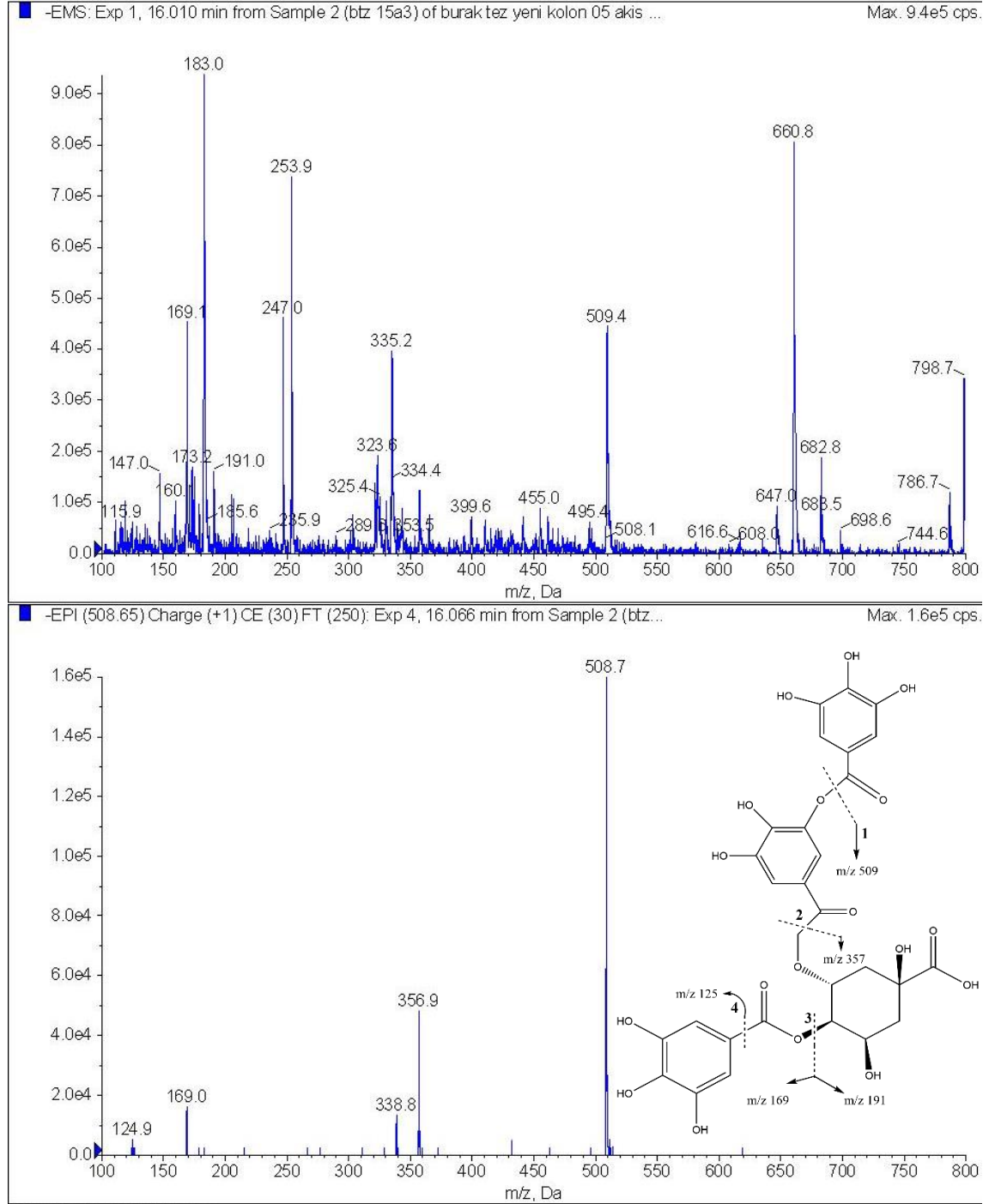
29 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



30 numaralı madde m/z 661 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki gösteren maddeden -152 amu'luk kayıp ile m/z 509 fragmenti ve bundan da aynı şekilde -152 amu'luk kayıp sonrası m/z 357 fragmenti oluşmuştur. İki seri galloil kaybını gösteren bu fragmentasyon yolağı sonrası oluşan m/z 357 yapısı bir metilgalloil kinik asit türevi olarak düşünülmüştür. Yine bu molekülde de m/z 357 $\rightarrow$ m/z 169 oluşumu esnasında -188 amu'luk kayıp bir metilgalloil yapısının koptuğunu göstermiştir (Görsel 4.34). Literatürde de daha önce tanımlanan bu bileşik O-galloil-O-(metilgalloil-O-galloil) kinik asit olarak değerlendirilmiştir (Nogueira vd., 2015).

Görsel 4.34

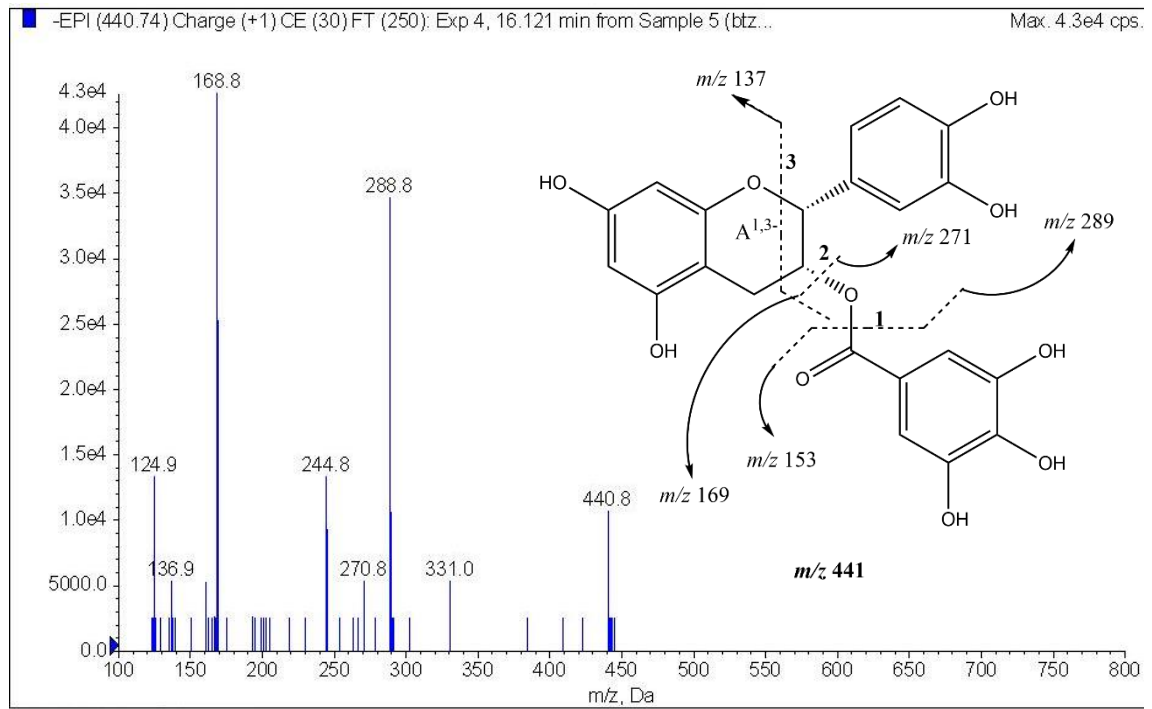
30 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



31 numaralı madde m/z 441 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip bileşiğin temel iyon piki m/z 289 olarak belirlenmiştir (Görsel 4.35). m/z 289 pikine ek olarak m/z 271 ve m/z 245 fragmentleri yapının epikateşin/kateşin türevi olduğunu işaret etmektedir. m/z 441 $\rightarrow$ 289 fragmentasyonu sırasında oluşan -152 amu'luk fark (galloil kopması) ve gallik asit'e ait m/z 169 ile m/z 169 $\rightarrow$ 125 ($-CO_2$) pikleri yapıdaki gallik asit varlığını doğrulamıştır. Literatür ile de karşılaştırılarak bileşik kateşin/epikateşin monogallat olarak yorumlanmıştır (El Bishbishy vd., 2020; Rodríguez-Pérez vd., 2013).

Görsel 4.35

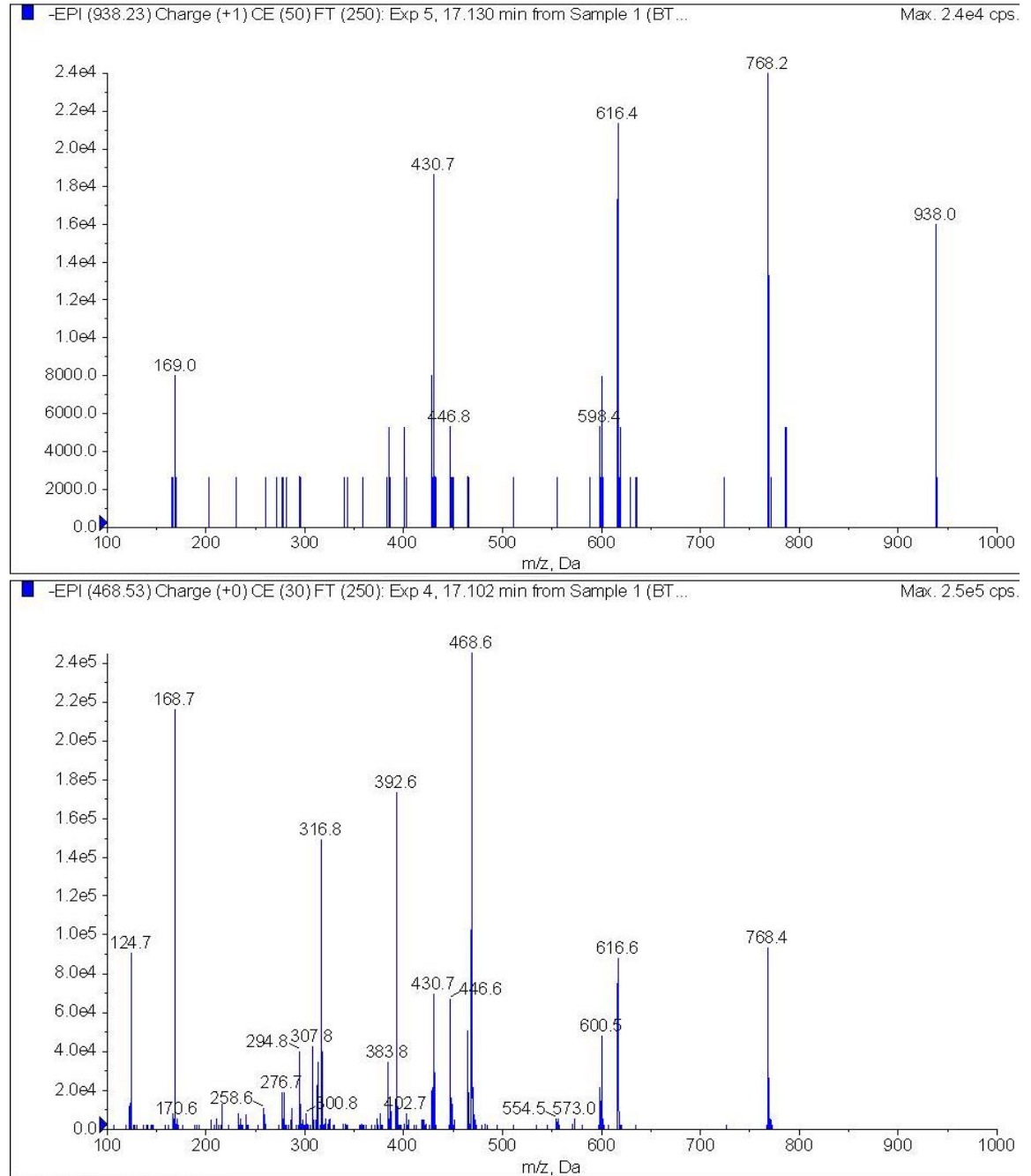
31 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



32 numaralı madde: Moleküler iyon piki m/z 938 $[M-2H]^-$ olarak gözlemlenen maddeden iki seri nötr gallik asit kaybı ile (-170 Da) m/z 769 $[M-H-170]^-$ ve m/z 599 $[M-H-170-170]^-$ fragmentleri oluşmuştur. Ayrıca m/z 769 kütesinden sırasıyla galloil ve gallik asit kaybı ile m/z 617 $[M-H-170-152]^-$ ve m/z 447 $[M-H-170-152-170]^-$ fragmentleri ile m/z 169 ve m/z 125 kütleleri yapıda birçok gallik asit olduğunu göstermiştir (Görsel 3.36). Galloilglukoz yapılarında yüksek parçalanma enerjilerinde halka içi ve RDA benzeri kırılmalar ile m/z 393 ve m/z 317 fragmentlerinin oluşabileceği bildirilmiştir. Literatür ile desteklenerek bu molekül bir pentagalloil glukoz olarak tanımlanmıştır (Gök vd., 2022).

Görsel 4.36

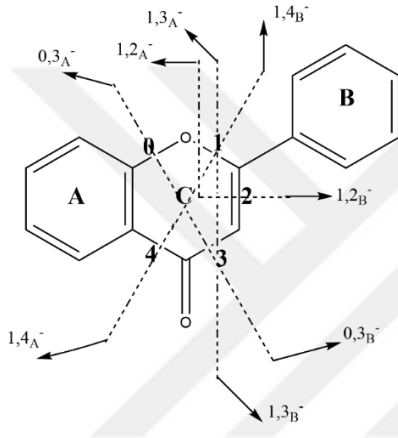
32 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Bu bölümden sonra tanımlanan bileşiklerin çoğunluğu flavonoit türevleridir. Bu yapıların aglikon formlarının tanımlanmasında A, B ve C halkalarındaki kopmaların tanısallık önemi oldukça önemlidir. Bunlardan en bilineni Retro Diels-Alder (RDA) reaksiyonudur. Diels-Alder reaksiyonunun tersi olarak bilinen bu süreç siklohekzen halkasının eliminasyonu ile dien ve dienofil yapısına ayrılmasını içermektedir. Flavonoitlerin C halkasında oluşan bu kırılma reaksiyonu ile A ve B halkaları flavonoitin türüne göre yüksek tanısallık içeren fragmentler üretmektedir (Şekil 4.3).

Şekil 4.3

Flavonoitlerin RDA kırılması ile oluşturduğu fragment yolları

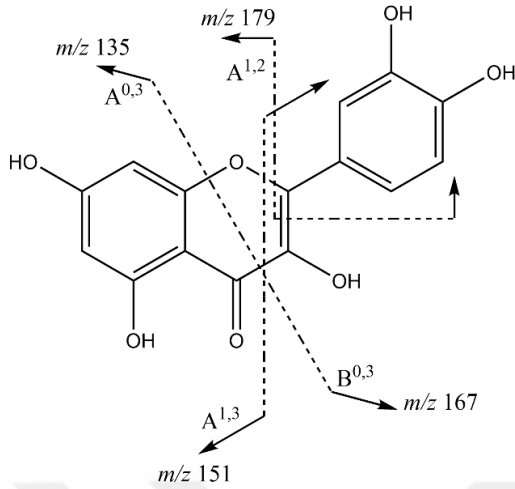


Mirsetin, kersetin ve kemferol A halkalarında aynı pozisyonunda ve sayıda hidroksil grubu içerdikleri için (5,7-dihidroksi) RDA fragmentasyonu sonrasında benzer fragmentler gözlemlenmektedir. Şekil 4.4’de gösterildiği gibi bu üç bileşik de C halkasının açılması sonrasında $A^{1,2}$ (m/z 179), $A^{1,3}$ (m/z 151) ve $A^{0,3}$ (m/z 135) fragmentleri ile karakterizedir. Ayrıca bu bileşikler C3 pozisyonundaki hidroksil grubunu kaybettikten sonra oluşan RDA açılması ile $A^{1,2}$ (m/z 163) fragmentini de göstermektedir.

Kersetin RDA sonrası A^- fragmentlerine ek olarak, moleküler iyon pikinden sıralı reaksiyonlar ile $-COH$ (-29 Da) $[M-H-CO-H]^-$, $-O$ (-16 Da) $[M-H-CO-H-O]^-$ ve $-CO$ (-28 Da) $[M-H-CO-H-O-CO]^-$ kayıpları ile oluşan m/z 271, m/z 255 ve m/z 227 fragmentleri ile karakteristiktir. Ayrıca C3 konumundaki $-OH$ kopması ile m/z 284 fragmenti de gözlemlenmektedir (4.5).

Şekil 4.4

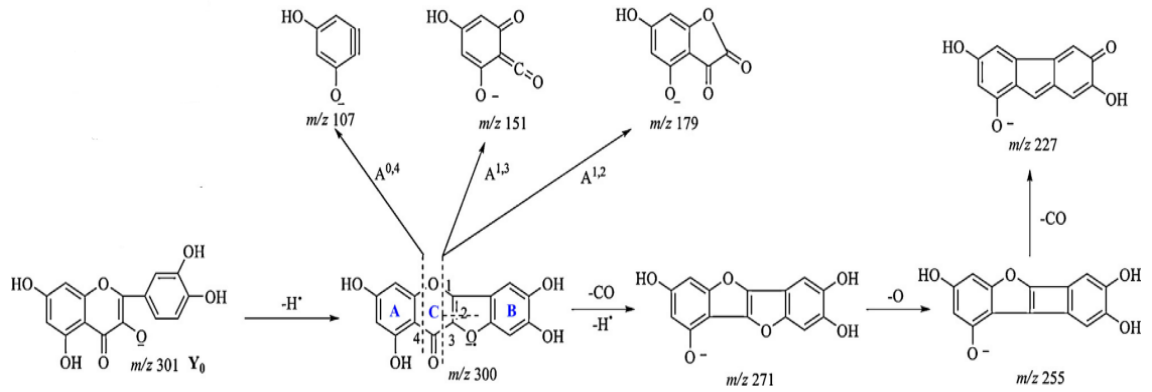
Kersetinin RDA kırılması ile oluşturduğu fragment yolları



Mirsetin kersetin'e ek olarak B halkasında 5' pozisyonunda bir -OH grubu daha içerir. Dolayısıyla m/z 317 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki verir. Benzer şekilde -CO kaybı ile m/z 287 ve bundan da -O kaybı ile m/z 271 fragmentleri ile karakterizedir.

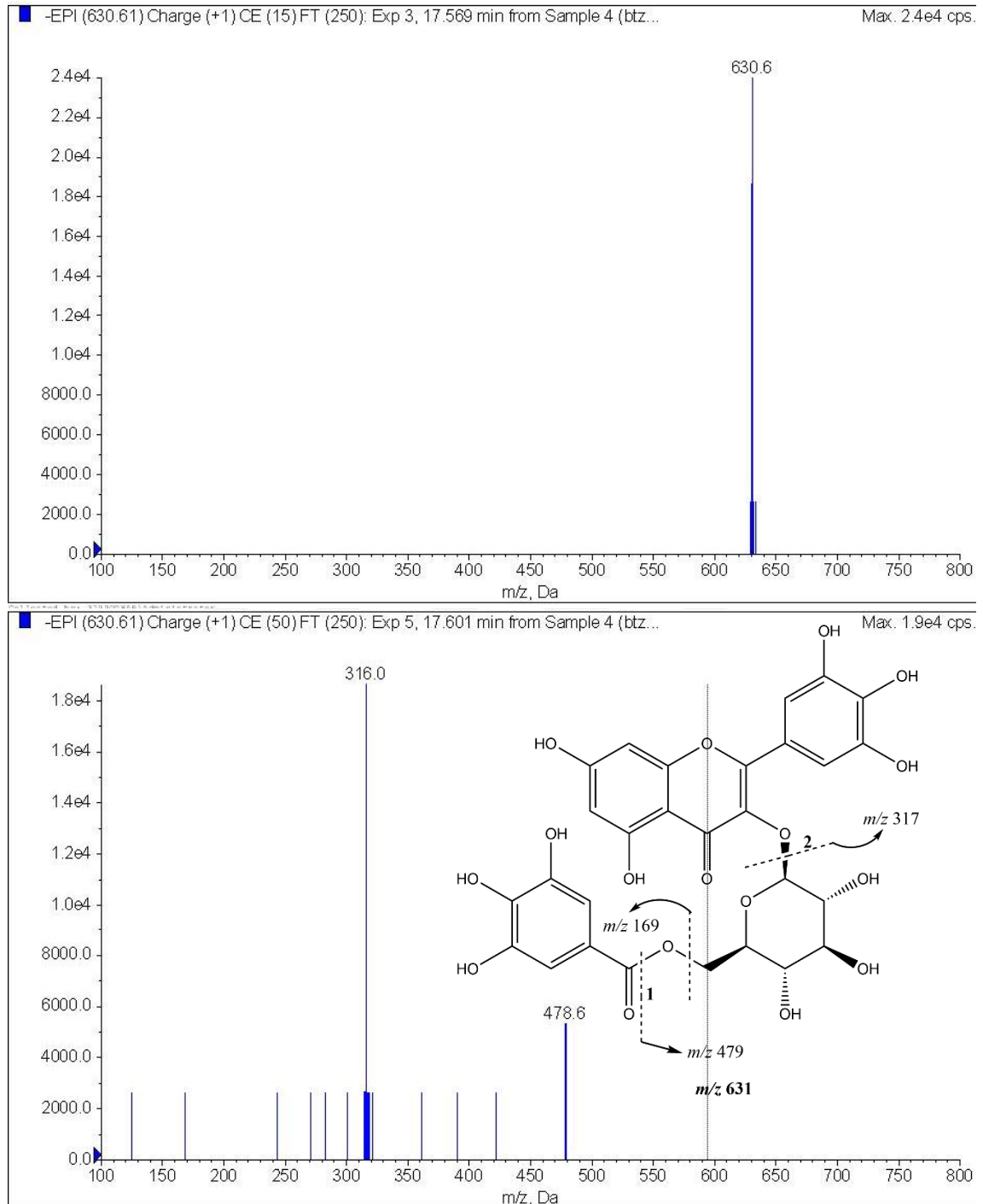
Şekil 4.5

Kemferolün RDA ve diğer fragmentleri



33 numaralı madde: m/z 631 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddeden 152 amu'luk bir kopma sonucu (galloil ünitesi) m/z 479 temel iyon piki oluşmuştur. m/z 479 $\rightarrow$ 317 $[M-H-162]^-$ fragmentasyonu bir heksosit kopmasına işaret ederken m/z 317 pikinin düşük miktar dolayısıyla fragmentleri detaylı olarak gözlemlenememiştir (Görsel 4.37). Ancak izolasyon çalışmaları esnasında aynı zamanda aynı moleküler iyon pikine sahip bir bileşik saptanmış ve m/z 317 kütlesine ait karakteristik m/z 287, m/z 271, m/z 179 ve m/z 151 fragmentlerinin olduğu gözlemlenmiştir. Bu sebeple aglikon yapının mirsetin olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak bileşik mirsetin-O-galloil heksosit olarak tanımlanmıştır (Saldanha vd., 2013).

33 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

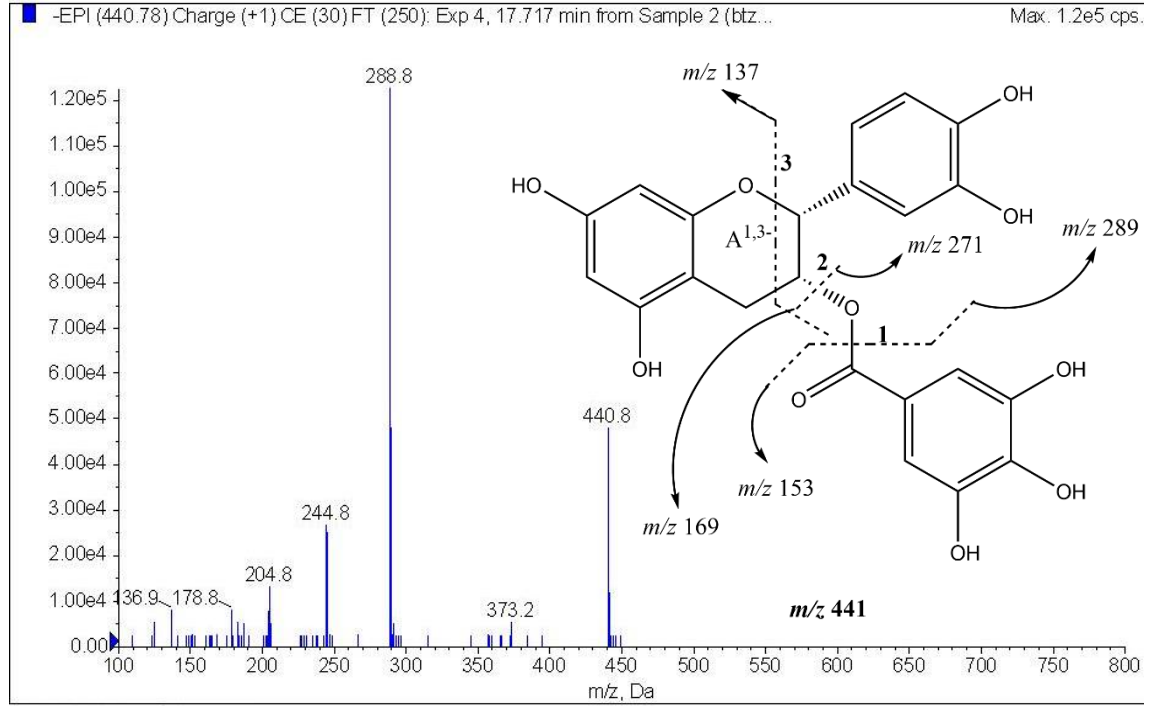


34 numaralı madde: m/z 441 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip bileşiğin temel iyon piki m/z 289 olarak belirlenmiştir. m/z 289 pikine ek olarak m/z 245 ve m/z 205 fragmentleri yapının epikateşin/kateşin türevi olduğunu göstermiştir. m/z 441 $\rightarrow$ 289 fragmentasyonu sırasında oluşan -152 amu'luk fark (galloil kopması) ve gallik asit'e ait m/z 169 ile m/z 169 $\rightarrow$ 125 (-CO₂) pikleri yapıdaki gallik asit varlığına işaret etmiştir. Literatür ile de

karşılaştırılarak bileşik kateşin/epikateşin monogallat olarak tanımlanmıştır (El Bishbishy vd., 2020; Rodríguez-Pérez vd., 2013) (Görsel 4.38).

Görsel 4.38

34 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

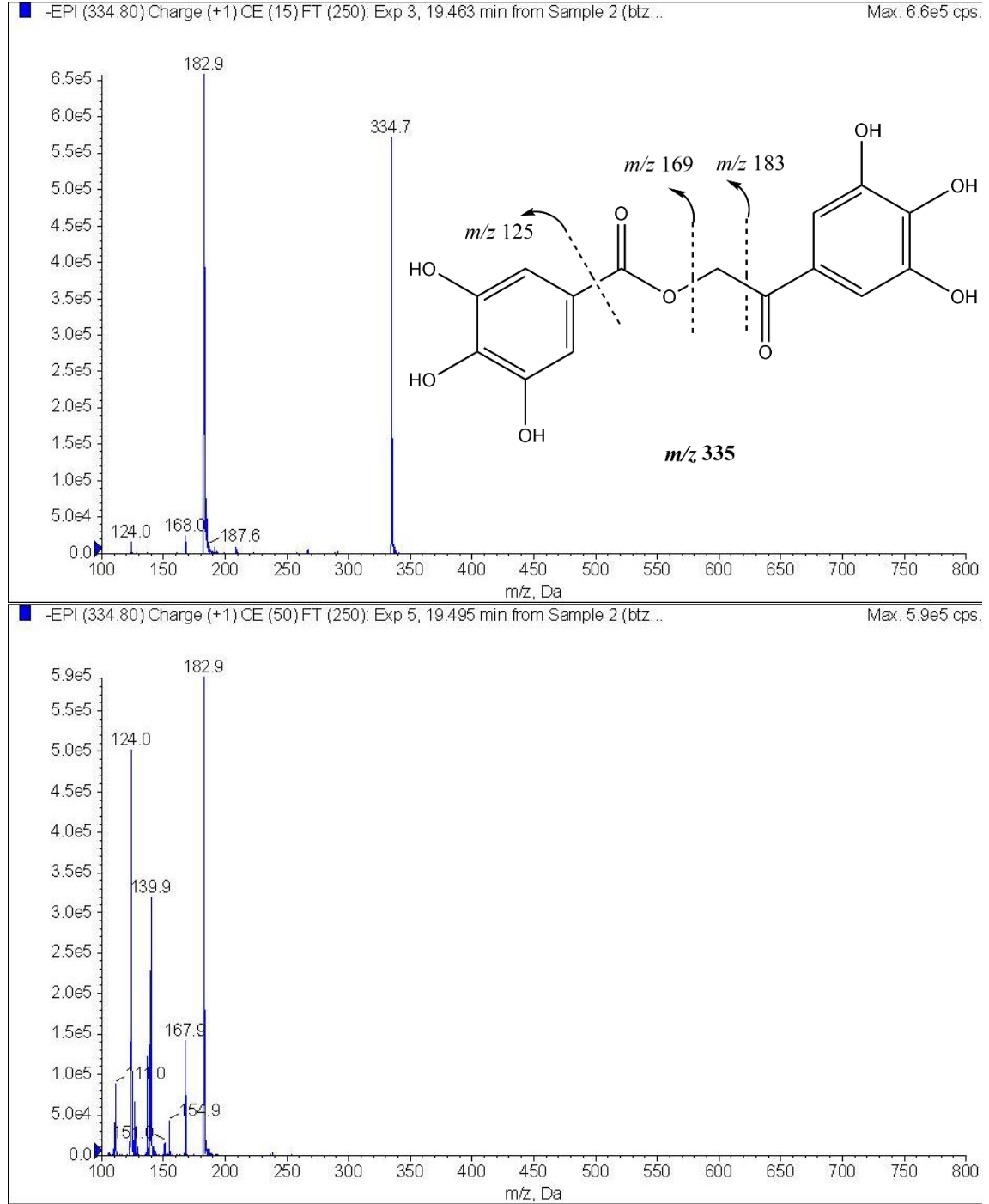


35 numaralı madde Kolonu 18.67 dk'da terk eden bileşik m/z 335 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki vermiştir. Galloil kopması ile $[M-H-152]^-$ m/z 183 temel iyon piki gözlemlenirken gallik asit'e ait m/z 169 ve m/z 125 fragmentleri gallik asit yapısını doğrulamıştır (Görsel 4.39). Metilgallat'a bir galloil biriminin bağlandığı anlaşılmış ve bileşik literatür verileri ile de desteklenerek metil digallat esteri olarak yorumlanmıştır (Pacifio vd., 2014).

36 numaralı madde: m/z 625 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddeden 308 amu'luk bir kopma sonucu $[M-2H-308]^-$ m/z 316 temel iyon piki oluşmuştur (Görsel 4.40). Rutinozit kopmasına işaret eden bu pikten oluşan temel iyon piki mirsetin aglikonu ile ilişkilendirilen m/z 287, m/z 271, m/z 179 ve m/z 151 fragmentlerini oluşturmuştur. Bu bilgiler ışığında bileşik mirsetin rutinozit'i olarak tanımlanmıştır (Elez Garofulić vd., 2020).

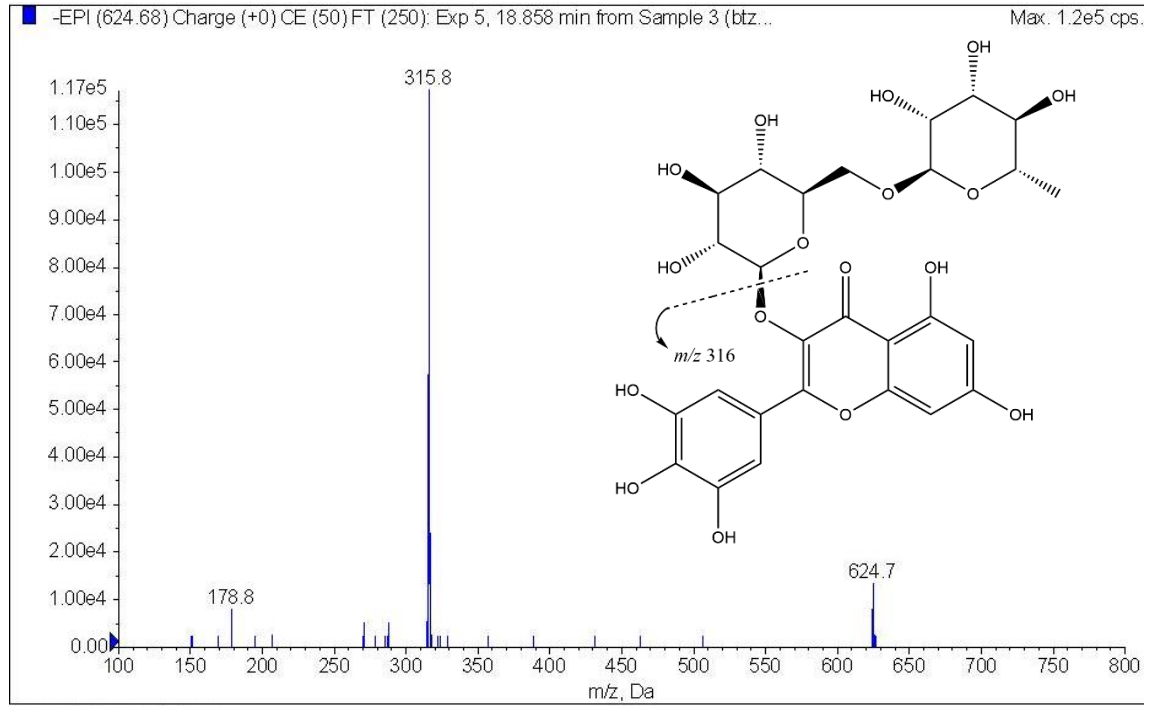
Görsel 4.39

35 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.40

36 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

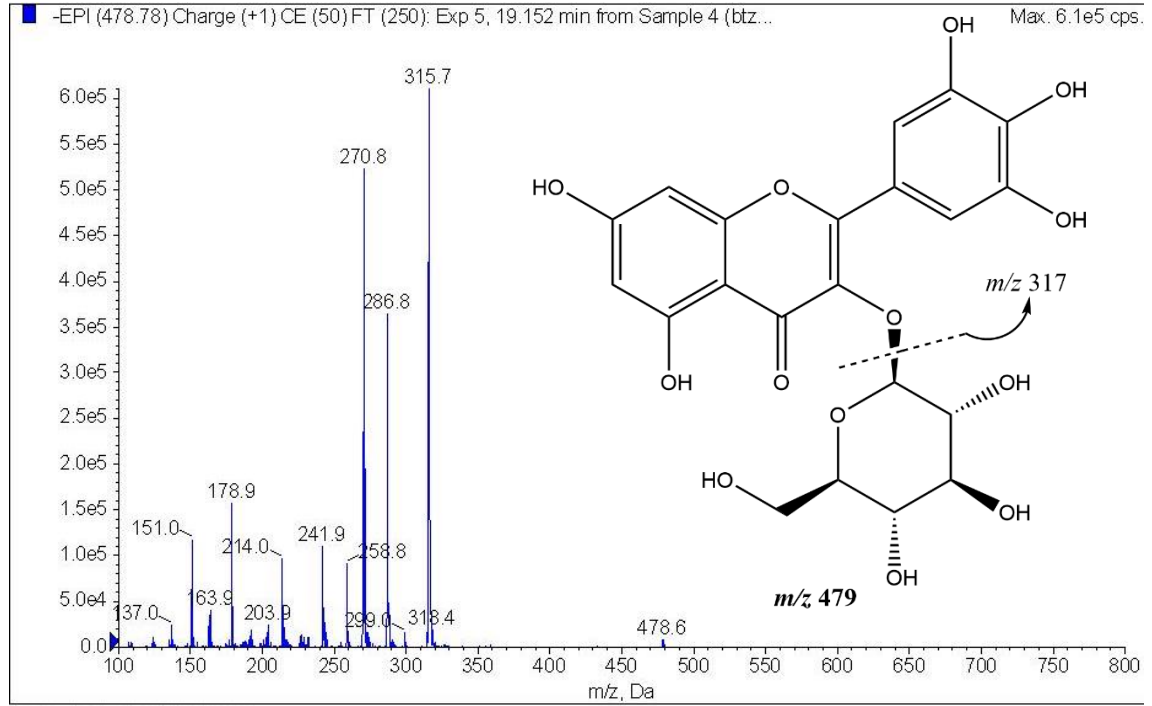


37 numaralı madde Kolonu 19.03 dk'da terk eden ve m/z 479 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin temel iyon piki m/z 316 $[M-2H-162]^-$ olarak gözlemlenmiştir. 162 amu'luk heksosit kopması sonucu oluşan m/z 317 piki, mirsetin'e ait sıralı -CO, -O ve -O kaybı sonrası m/z 287 $[M-H-176-30]^-$, m/z 271 $[M-H-176-30-16]^-$ m/z 242 ve $[M-H-176-30-16-30]^-$ fragmentlerini vermiştir (Görsel 4.41). RDA halka kırılmaları sonucu oluşan m/z 179, m/z 163, m/z 151 ve m/z 137 pikleri de gözlemlenmiştir. Bu bilgiler ışığında bileşik literatür verileri ile desteklenerek mirsetin-O-heksosit olarak tanımlanmıştır (Kirolos vd., 2019; Pacifico vd., 2014).

38 numaralı madde: m/z 493 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin temel iyon piki m/z 317 $[M-H-176]^-$ olarak gözlemlenmiştir. 176 amu'luk bir glukuronik asit kopması sonucu olduğu düşünülen m/z 317 piki, mirsetin'e ait C3-OH kopması sonucu m/z 299 $[M-H-176-18]^-$, sıralı -CO ve O kopmaları ile m/z 271, $[M-H-176-30-16]^-$ ve RDA halka kırılmaları sonucu karakteristik m/z 179, m/z 163, m/z 151, m/z 137 ve m/z 107 fragmentlerini vermiştir. Bu bilgiler ışığında bileşik literatürde ile desteklenerek mirsetin glukuronit olarak tanımlanmıştır (Elez Garofulić vd., 2020) (Görsel 4.42).

Görsel 4.41

37 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

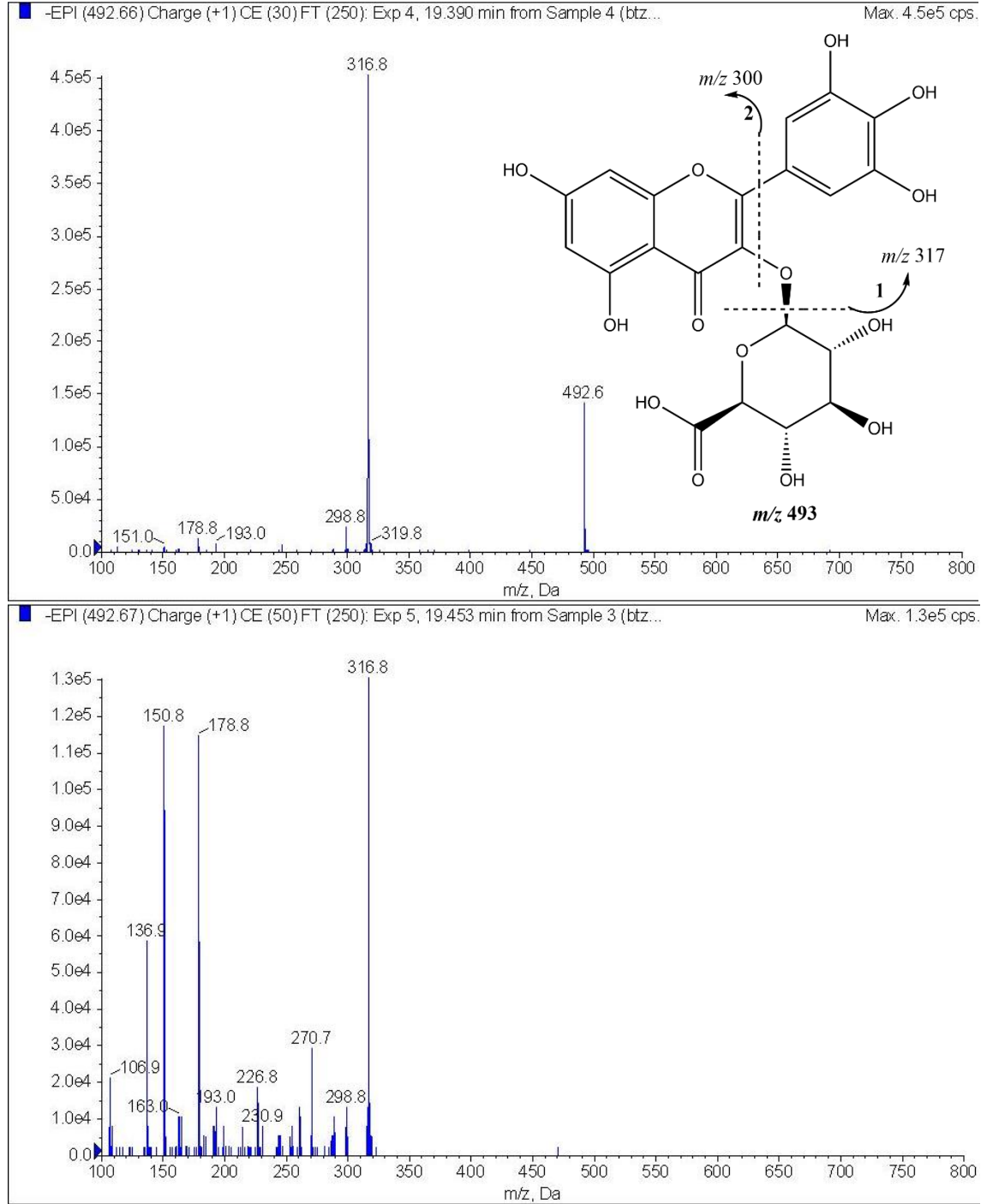


39 numaralı madde: m/z 615 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip molekülün temel iyon piki m/z 300 $[M-2H-314]^-$ olarak gözlemlenmiştir (Görsel 4.43). Moleküler iyon pikinden galloil kopması sonucu m/z 463 $[M-H-152]^-$ fragmenti oluştuğu düşünülmüş ve gallik asit'e ait m/z 169 ve m/z 125 fragmentleri bunu desteklemiştir. m/z 463 $\rightarrow$ m/z 300 $[M-2H-162]^-$ fragmentasyonu esnasında bir hekzos kaybı olduğu gözlemlenmiştir. Temel iyon pikinin kersetin'e karakteristik daha önce de açıklanan sıralı $-COH$ (-29 Da) ve $-O$ (-16 Da) kaybı sonrası oluşan m/z 271 ve m/z 255 fragmentlerini ve RDA kırılmaları ile karakterize m/z 179 ($A^{1,2-}$) ve m/z 151 ($A^{1,3-}$) piklerini içerdiği gözlemlenmiştir. Bu bilgiler ışığında literatür karşılaştırmaları da yapılmış ve bileşik kersetin galloil hekzositi olarak tanımlanmıştır (Saldanha vd., 2013).

40 numaralı madde m/z 449 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin temel iyon piki m/z 316 $[M-2H-132]^-$ olarak gözlemlenmiştir (Görsel 4.44). 132 amu'luk kopmanın pentozit kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Temel iyon pikinin karakteristik fragmentleri sebebiyle (m/z 287, m/z 271, m/z 259, m/z 179, m/z 151 ve m/z 137) mirsetin olduğu anlaşılmış ve bileşik mirsetin-O-pentozit olarak tanımlanmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013).

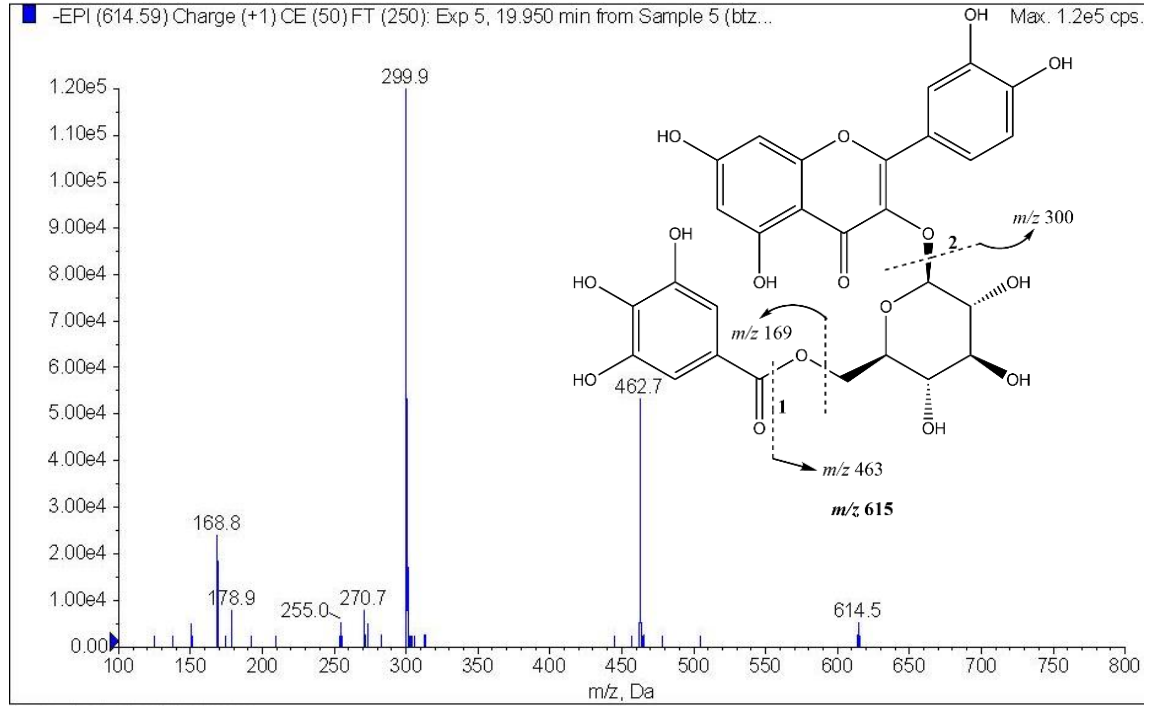
Görsel 4.42

38 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



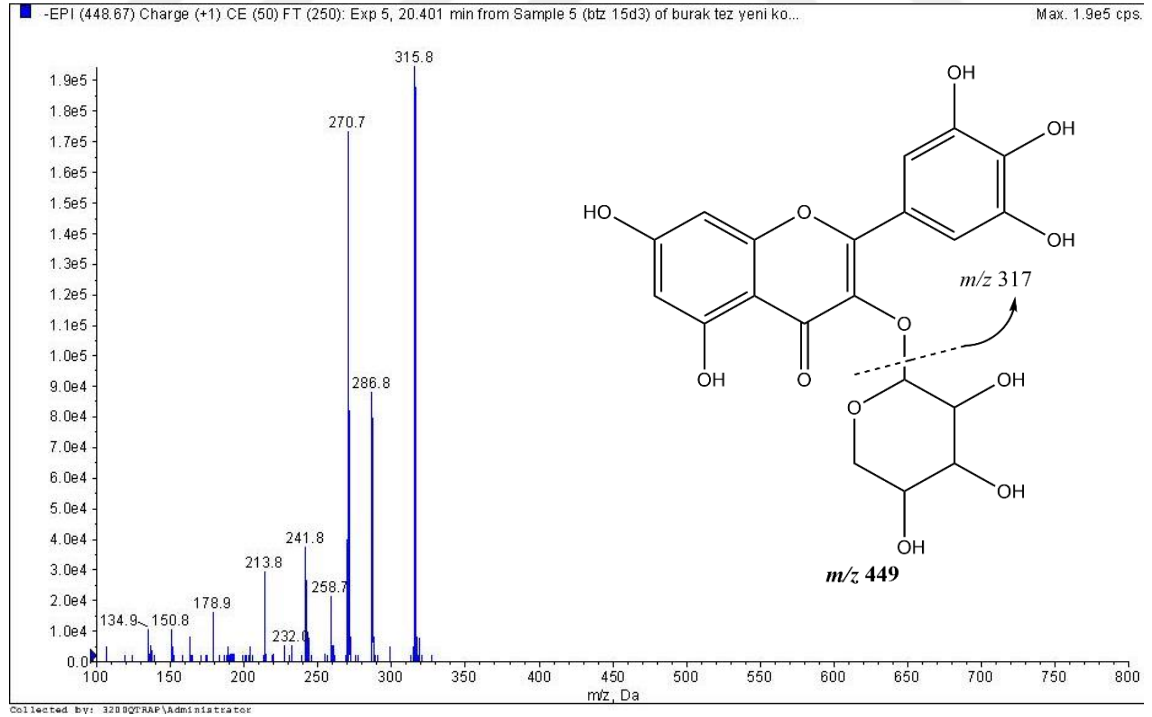
Görsel 4.43

39 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.44

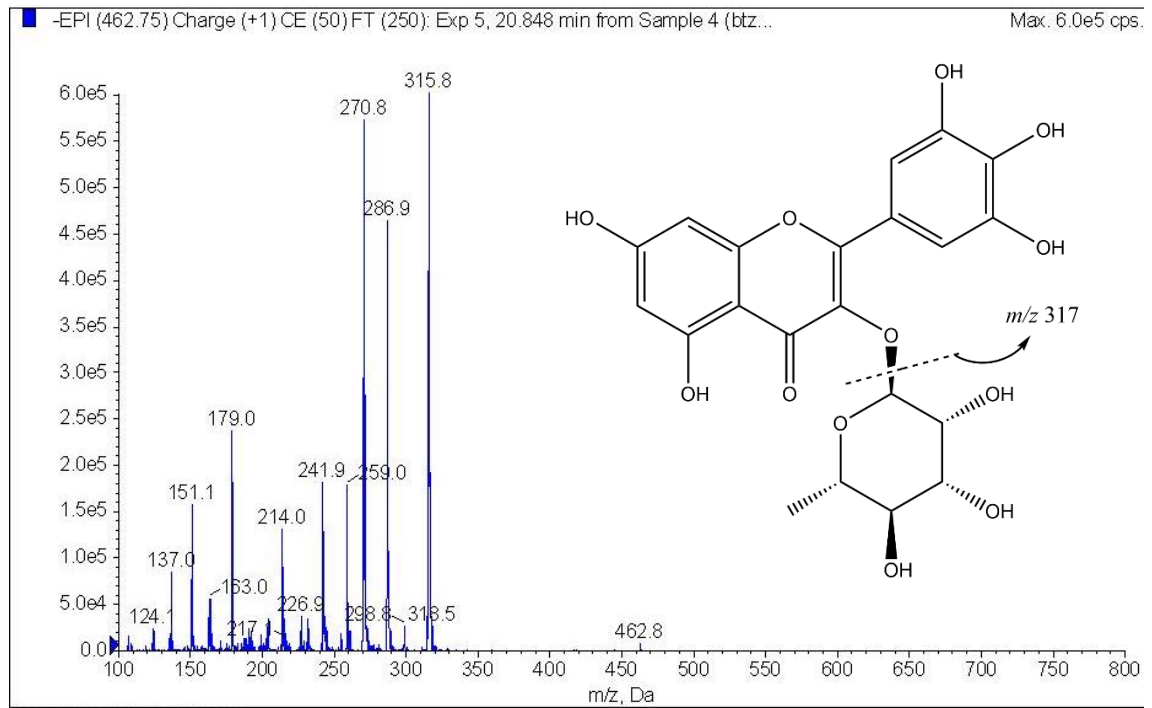
40 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



41 numaralı madde: m/z 463 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin temel iyon piki m/z 316 $[M-2H-146]^-$ olarak gözlemlenmiştir (Görsel 4.45). 146 amu'luk kopmanın ramnozit şekerinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ek olarak m/z 316 kütlelerinden oluşan karakteristik m/z 287, m/z 271, m/z 259, m/z 214, m/z 179, m/z 151 ve m/z 137 fragmentleri sebebiyle aglikon yapı mirsetin olarak değerlendirilmiştir. Literatür ile de karşılaştırılarak bileşik mirsetin-*O*-ramnozit'i olarak tanımlanmıştır (Elez Garofulić vd., 2020; Saldanha vd., 2013).

Görsel 4.45

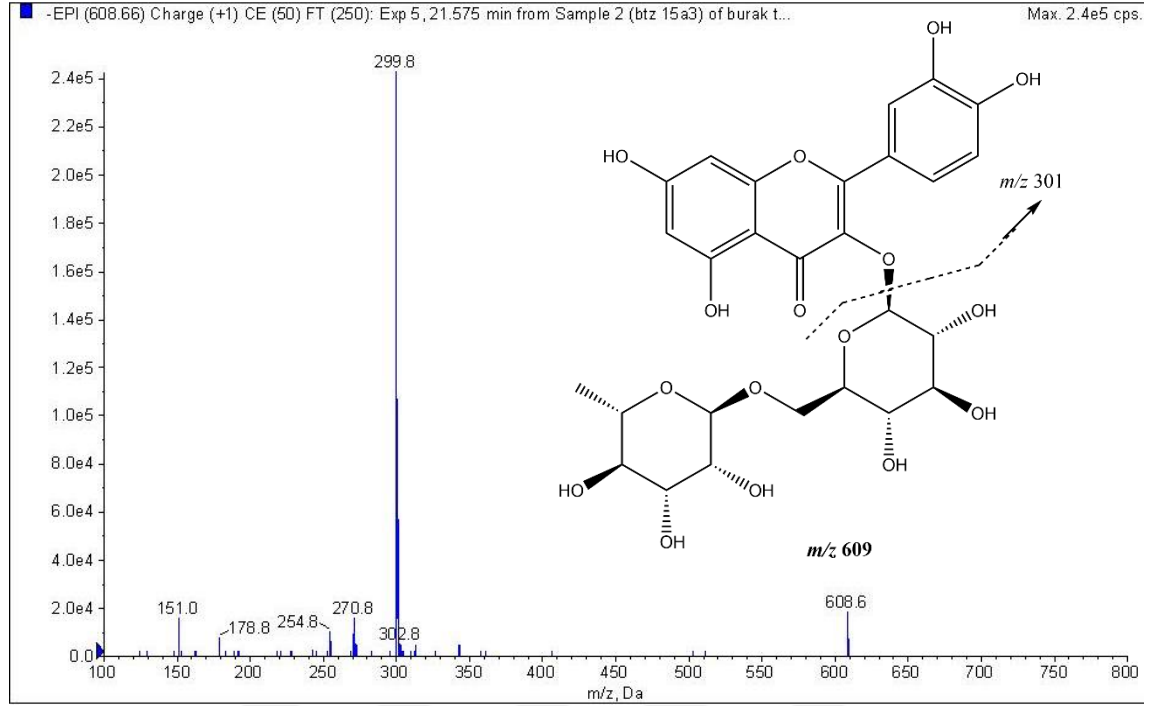
41 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



42 numaralı madde: m/z 609 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip madde m/z 301 kersetine ait temel iyon piki göstermiştir. m/z 609 $\rightarrow$ 301 fragmentasyonu sonucu oluşan -308 amu'luk farkın karakteristik bir rutinozit şekeri (hekzos + ramnoz) kopması olduğu sonucuna varılmış ve standart madde ile de karşılaştırılarak madde Rutin (kersetin 3-*O*-rutinozit) olarak tanımlanmıştır (Görsel 4.46).

Görsel 4.46

42 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



43 numaralı madde m/z 463 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip madde m/z 300'de $[M-2H-162]^-$ temel iyon piki göstermiştir. Bu esnada oluşan -162 amu'luk farkın hekzos kopmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Temel iyon pikinin karakteristik fragmentasyonu sonucu (m/z 271, m/z 255, m/z 243, m/z 227, m/z 179, m/z 151 ve m/z 107) molekülün kersetin olduğu anlaşılmış ve literatür ile de karşılaştırılarak bileşiğin kersetin-O-hekzosit olduğu sonucuna varılmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013) (Görsel 4.47).

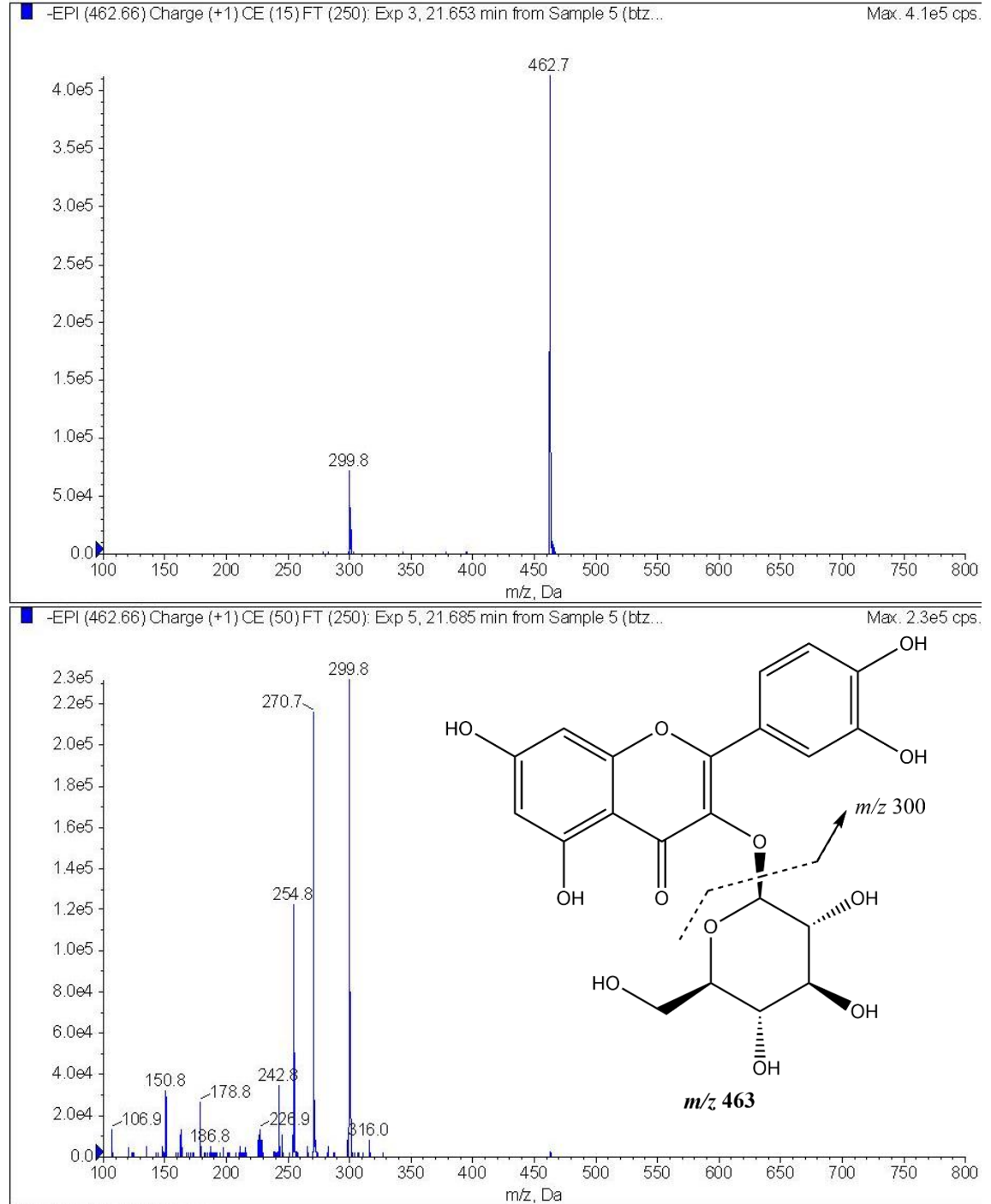
44 numaralı madde: m/z 477 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip madde m/z 301'de temel iyon piki göstermiştir. m/z 477 $\rightarrow$ 301 fragmentasyonu sonucu oluşan 176 amu'luk farkın glukronik asit'e ait olduğu düşünülmüştür (Görsel 4.48). Temel iyon pikinin fragmentasyonu sonucu molekülün kersetin olduğu anlaşılmış ve literatür ile de karşılaştırılarak bileşiğin kersetin glukuronit'i olduğu sonucuna varılmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013).

45 numaralı madde m/z 432 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin temel iyon piki m/z 300 $[M-H-132]^-$ olarak gözlemlenmiştir (Görsel 4.49). 132 amu'luk kopmanın pentozit kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Temel iyon pikinin karakteristik fragmentleri sebebiyle (m/z 271, m/z 255, m/z 243, m/z 227, m/z 163 ve m/z 151) kersetin olduğu

anlaşılmış ve bileşik kersetin-*O*-pentozit olarak tanımlanmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013).

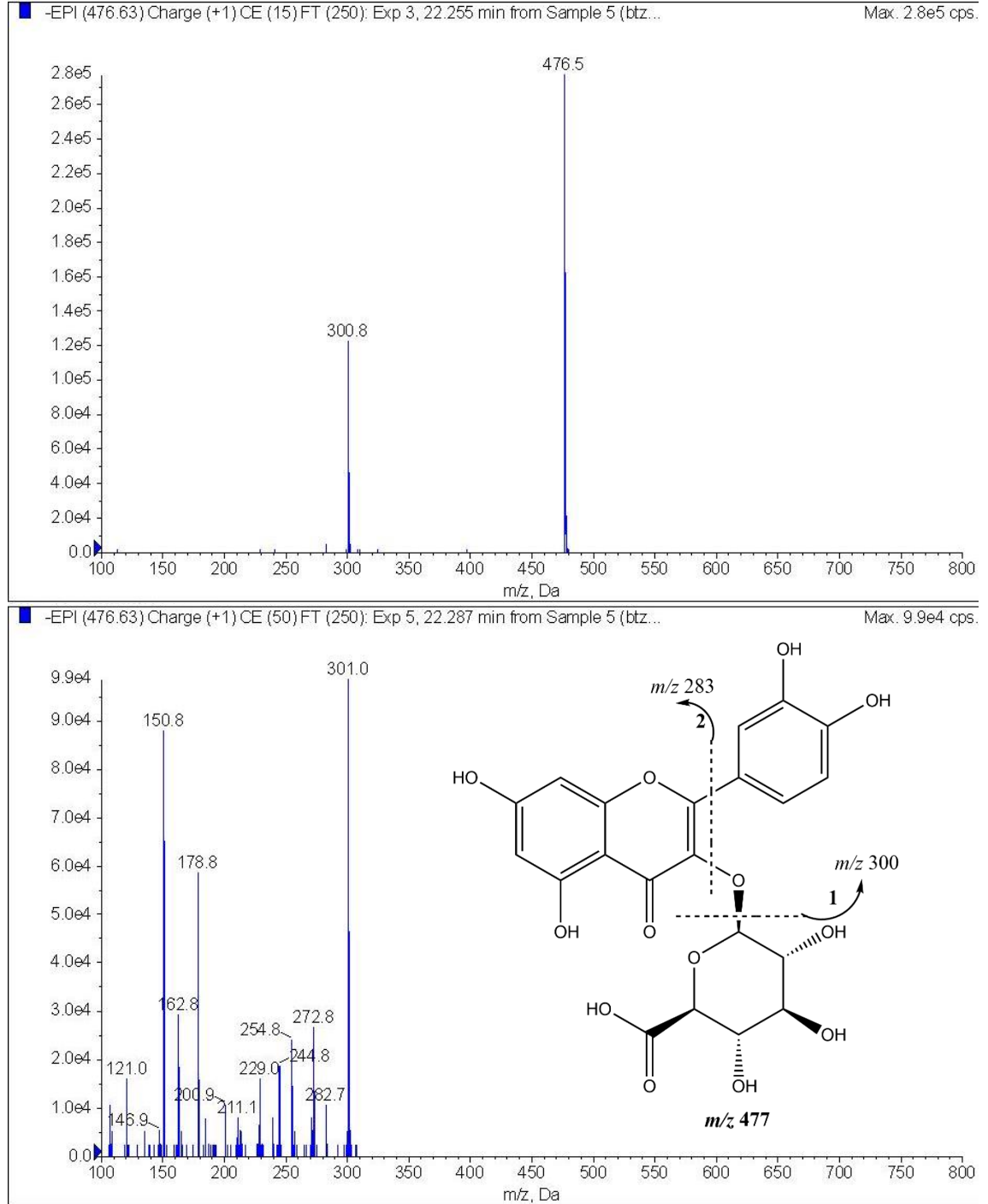
Görsel 4.47

43 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



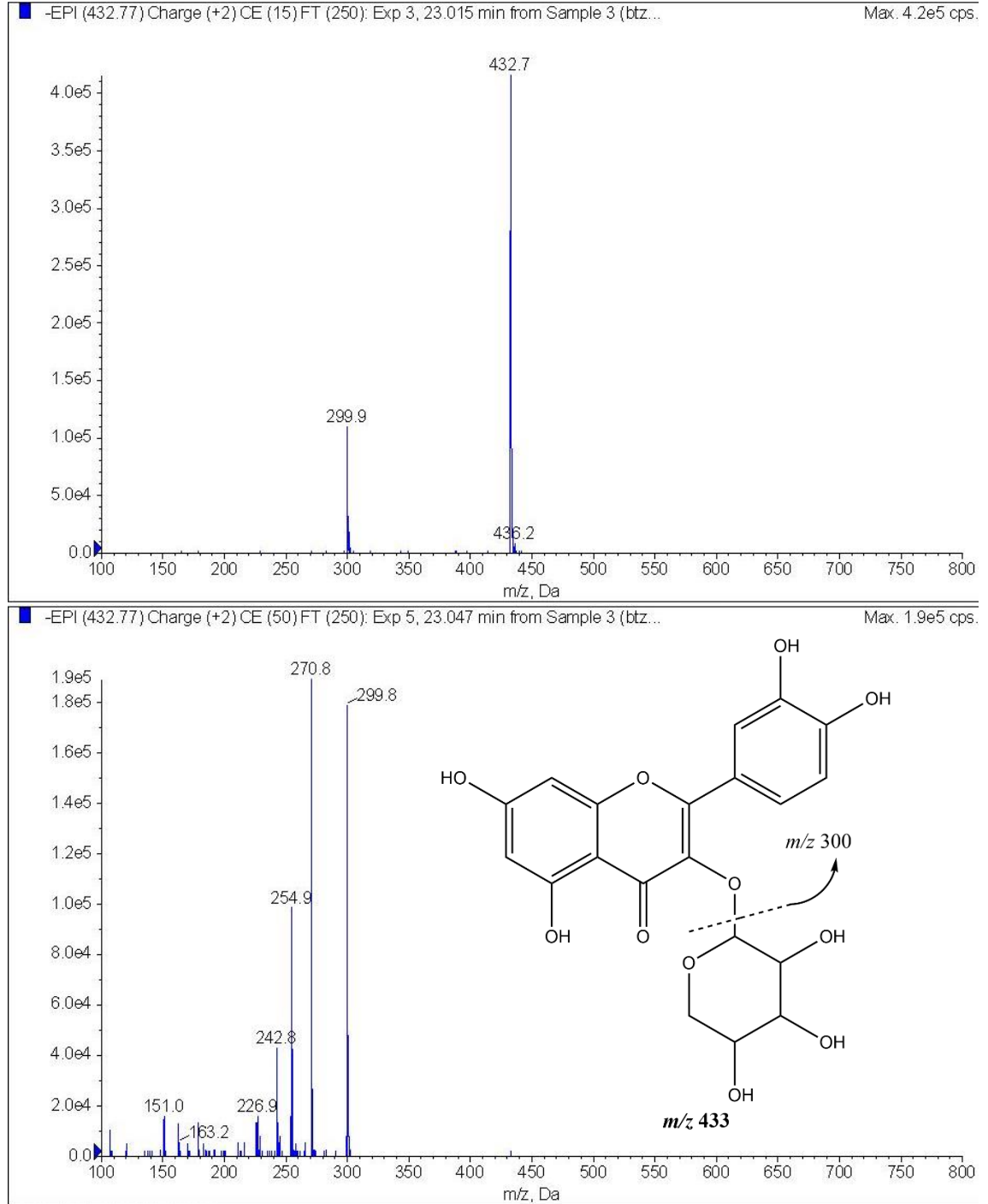
Görsel 4.48

44 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.49

45 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

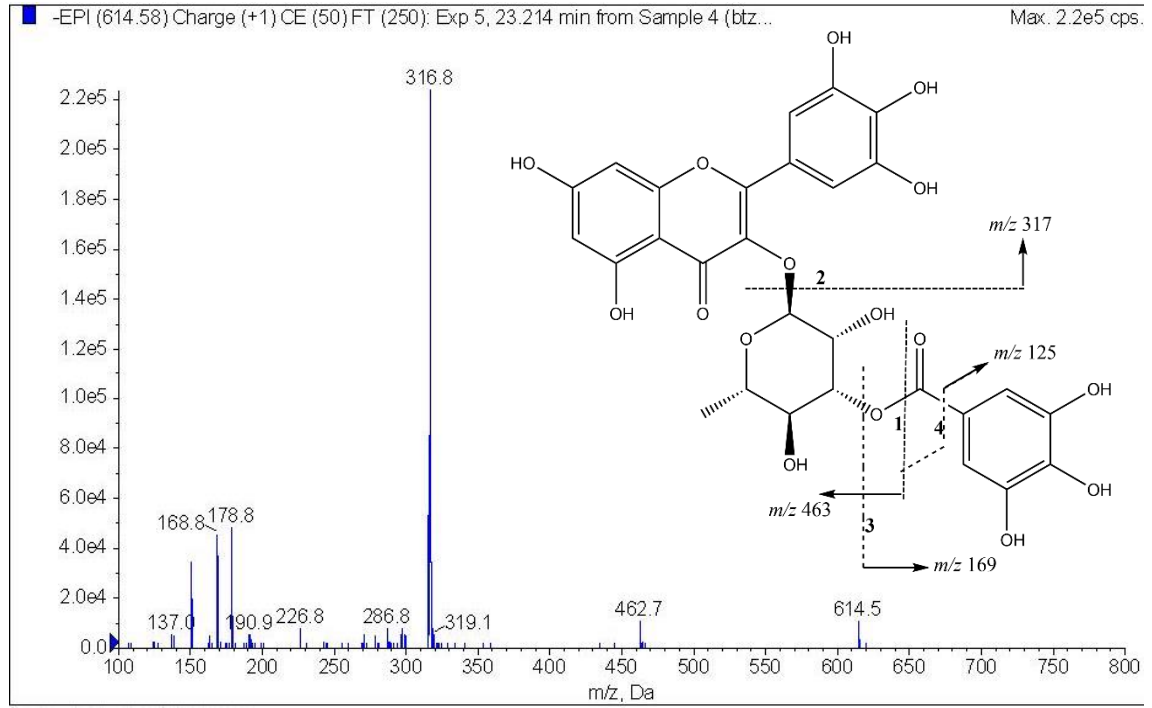


46 numaralı madde: m/z 615 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddeden -152 amu'luk bir kopma sonucu (galloil ünitesi) m/z 463 $[M-H-152]^-$ piki oluşmuştur (Görsel 4.50). Ayrıca ana yapıdan kopan galloil yapısına ek olarak m/z 169 fragmenti yapıdaki gallik asit varlığını kuvvetlendirmiştir. m/z 463 $\rightarrow$ 317 $[M-H-146]^-$ fragmentasyonu bir ramnozid kopmasına işaret etmiştir. Temel iyon pikinden oluşan m/z 287, m/z 227, m/z 191, m/z 179, m/z 151 ve m/z 137 parçalanmaları aglikon yapının mirsetin olduğunu

göstermiştir. Sonuç olarak bileşik mirsetin-*O*-galloil ramnozit olarak tanımlanmıştır (Saldanha vd., 2013).

Görsel 4.50

46 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

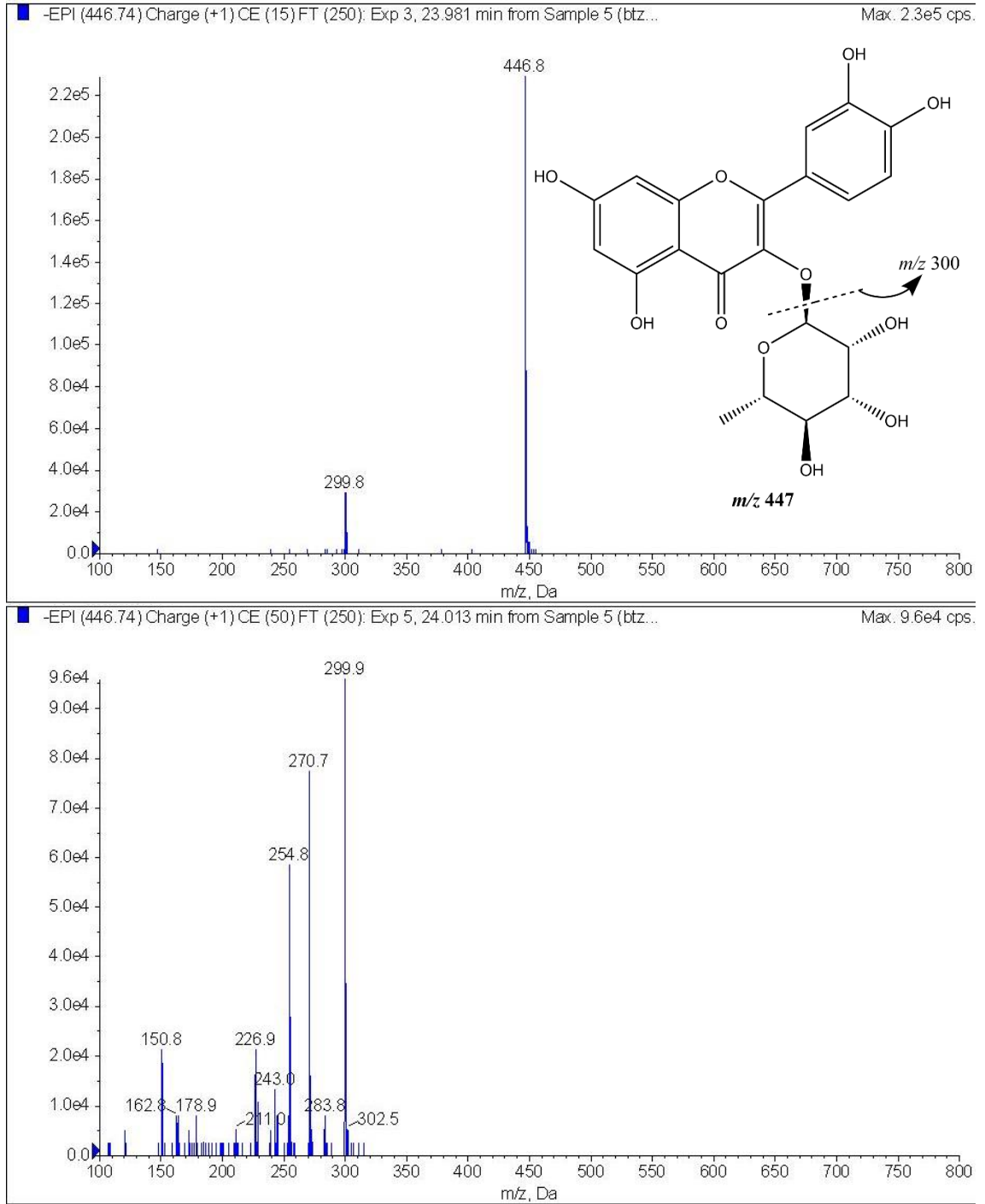


47 numaralı madde: m/z 447 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip madde m/z 300’de temel iyon piki göstermiştir. m/z 447 $\rightarrow$ 300 $[M-2H-146]^-$ fragmentasyonu sonucu oluşan -146 amu’luk farkın karakteristik ramnozit şekeri kopması olduğu belirlenmiştir. Ayrıca m/z 300 $\rightarrow$ 271, 255, 243, 179 ve 151 fragmentasyonunun RDA reaksiyonları sonucu oluşan karakteristik kersetin parçalanma ürünleri olduğu literatür ile de karşılaştırılarak belirlenmiş ve bu bilgiler ışığında maddenin bir kersetin ramnozit olduğu anlaşılmıştır. Standart madde olarak kullanılan Kersitrin ile aynı R_t değerinde kolonu terk ettiği için de bileşik kersitrin (kersetin-3-*O*-ramnozit) olarak tanımlanmıştır (Elez Garofulić vd., 2020; Pascale vd., 2020; Saldanha vd., 2013) (Görsel 4.51).

48 numaralı madde m/z 317 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki veren bileşik mirsetin ile ilişkilendirilebilecek karakteristik RDA kırılmaları sonucu oluşan m/z 179, m/z 151, m/z 137 ve m/z 107 fragmentleri gözlemlenmiştir (Görsel 4.52). Referans olarak kullanılan mirsetin de aynı analiz şartlarında aynı R_t değerine ve aynı kütle spektrumuna sahip olduğu için bu bileşik mirsetin olarak tanımlanmıştır.

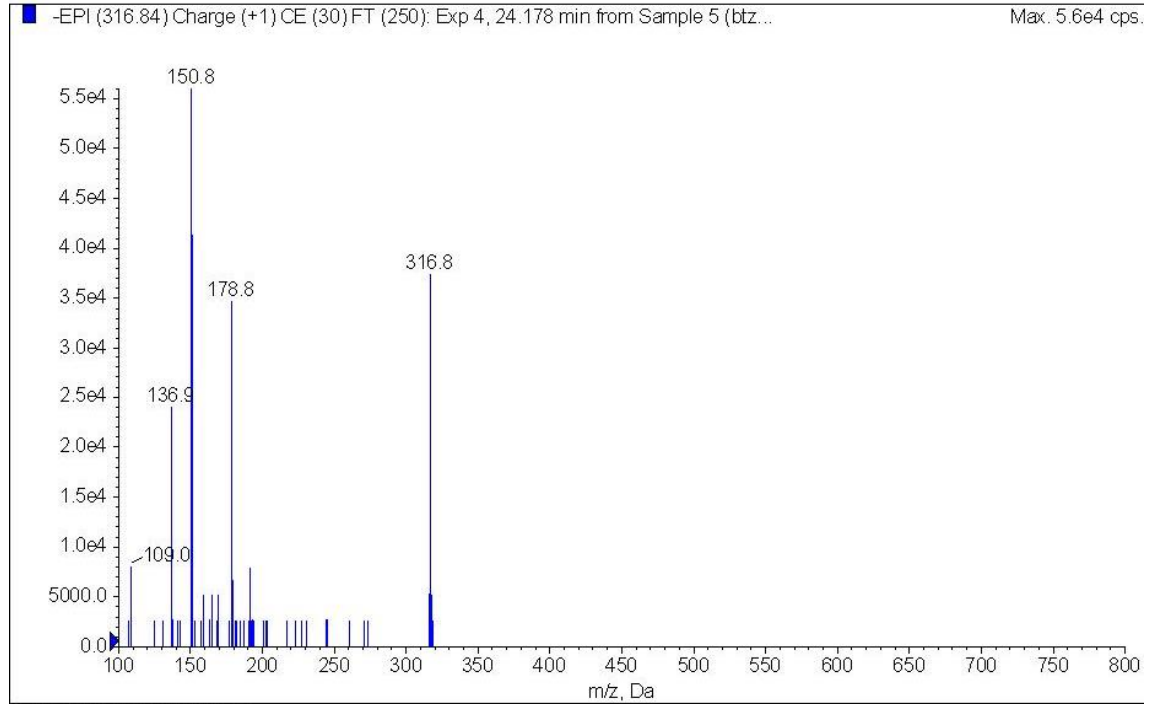
Görsel 4.51

47 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.52

48 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

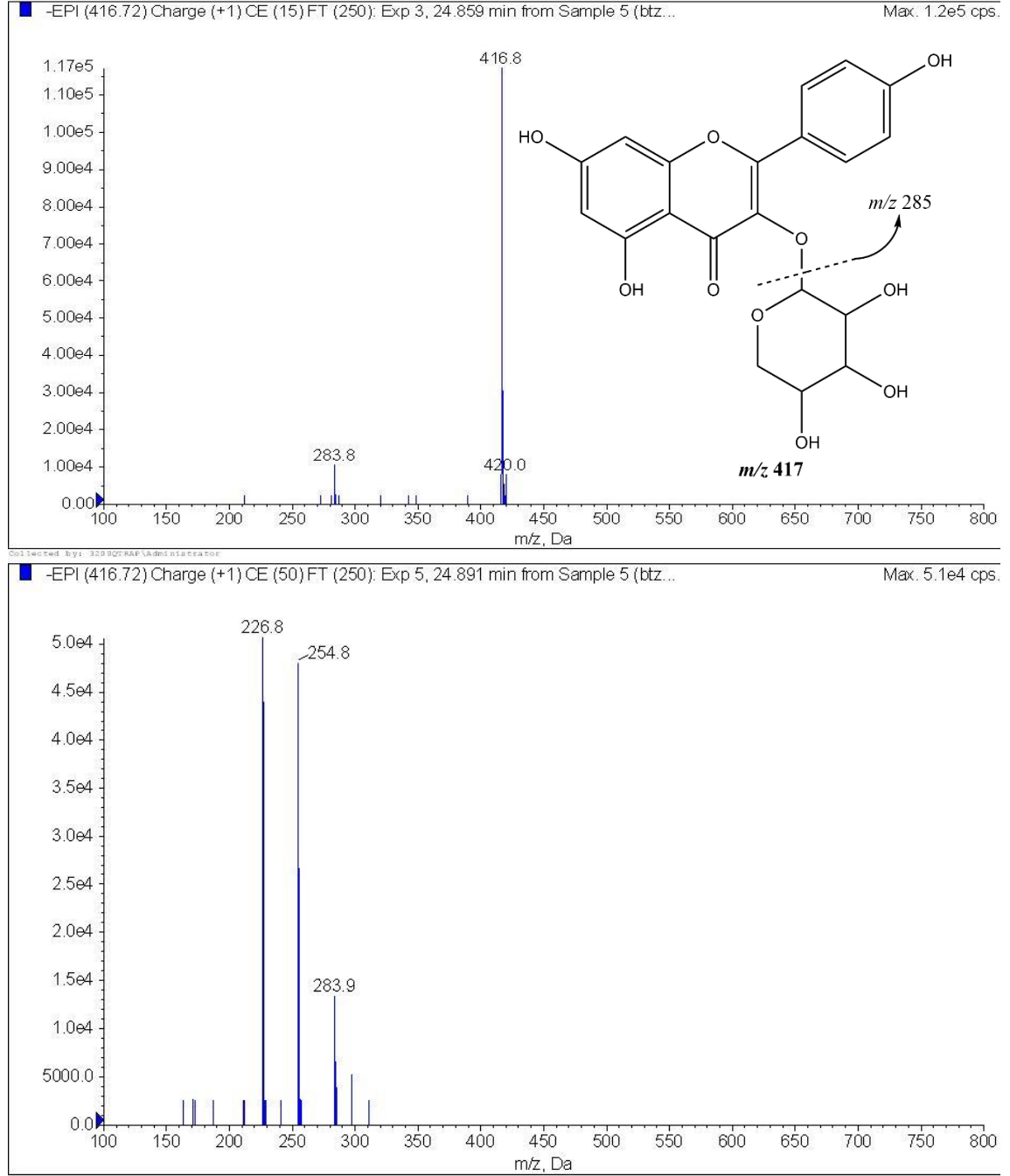


49 numaralı madde Kolonu 24.80 dk'da terk eden bileşiğin moleküler iyon piki m/z 417 $[M-H]^-$ olarak gözlemlenmiştir (Görsel 4.53). Bu pikten bir pentozit kopması sonucu (-132 Da) m/z 284 $[M-2H-132]^-$ fragmentinin oluştuğu düşünülmüştür. Kemferol'e ait olduğu düşünülen bu kütle karakteristik iki seri $-CO$ kaybı ile sırasıyla m/z 255 $[M-2H-132-29]^-$ ve m/z 227 $[M-2H-132-29-28]^-$ fragmentlerini oluşturmuştur. Muhtemel diğer fragmentler (RDA) düşük miktar sebebiyle gözlemlenemese de literatür ile de desteklenerek bileşiğin kemferol-*O*-pentozit'i olabileceği sonucuna varılmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013).

50 numaralı madde: m/z 767 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin temel iyon piki m/z 316 olarak belirlenmiştir. Oluşan fragmentlerde m/z 767 $\rightarrow$ m/z 615 $[M-H-152]^-$ bir galloil ünitesi, m/z 615 $\rightarrow$ m/z 449 $[M-H-166]^-$ metilgalloil yapısı ve m/z 449 $\rightarrow$ m/z 316 $[M-2H-132]^-$ ise yapıda pentoz şekeri olduğunu göstermiştir. m/z 169 kütlesi gallik asit, m/z 316 ise mirsetin yapısı ile ilişkilendirilmiş ve spektrumda detaylı fragmentler gözlemlenememiştir. Bu bilgiler doğrultusunda mirsetin-*O*-pentozit yapısına *O*-galloil-*O*-metilgalloil bağlı olabileceği düşünülmüştür (Görsel 4.54).

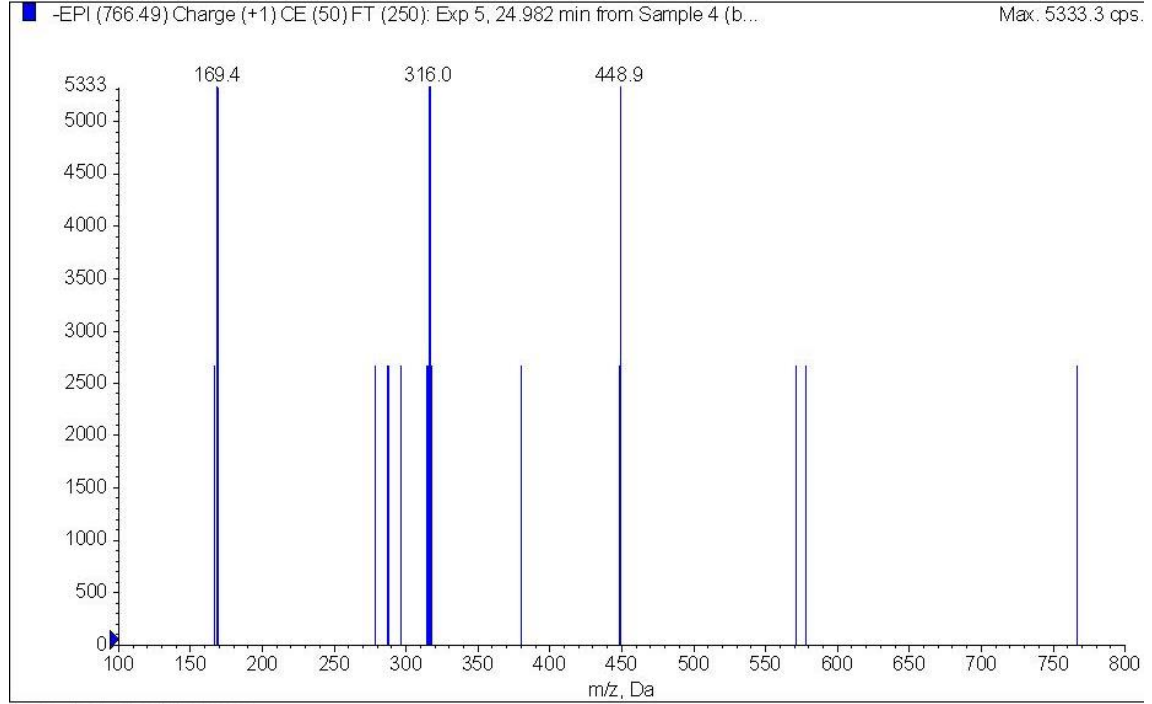
Görsel 4.53

49 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.54.

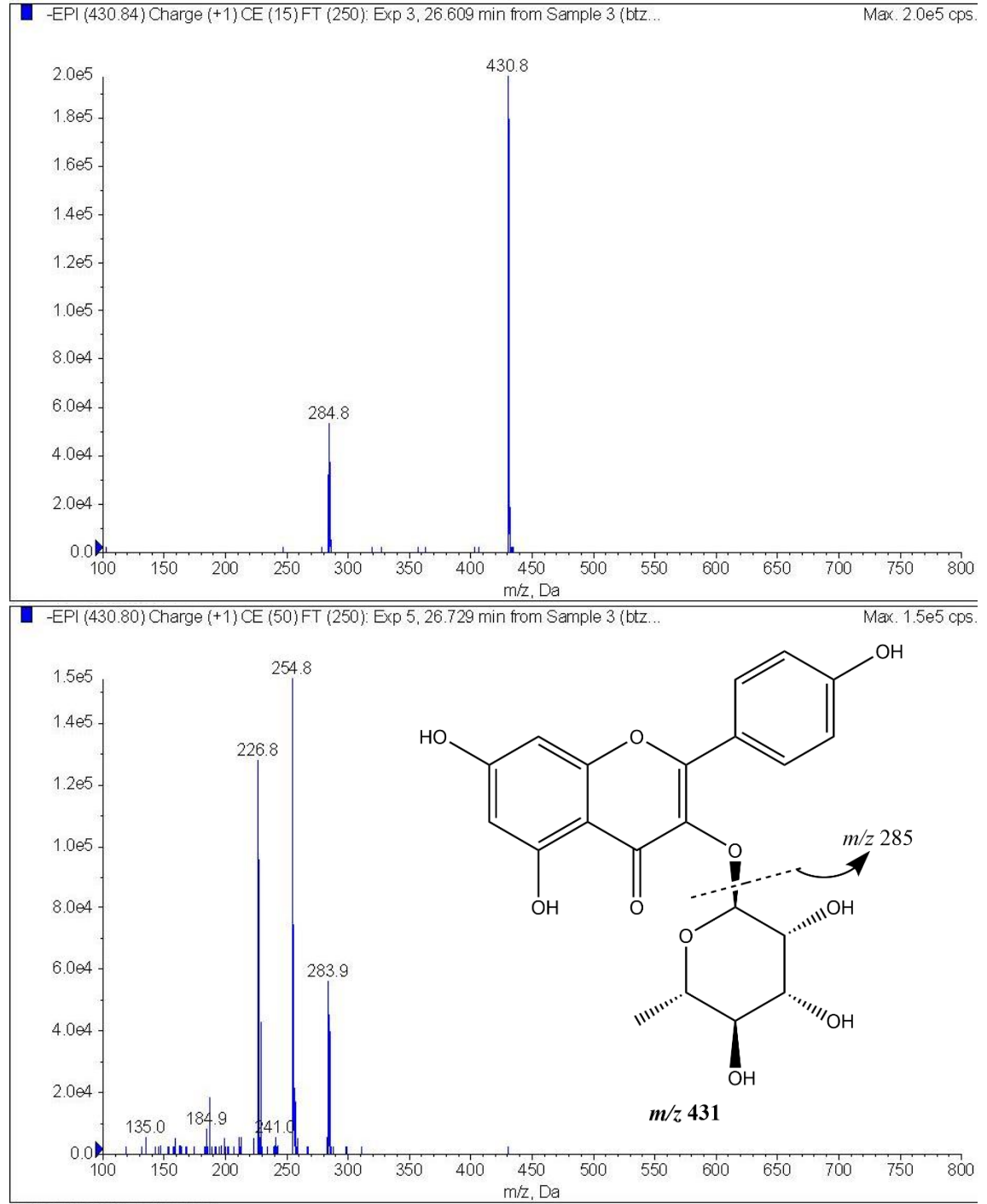
50 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



51 numaralı madde kolonu 26.57 dk'da terk eden bileşiğin moleküler iyon piki m/z 431 $[M-H]^-$ olarak gözlemlenmiştir (Görsel 4.55). Bu pikten bir ramnozid kopması sonucu (-146 Da) m/z 284 $[M-2H-146]^-$ fragmentinin oluştuğu düşünülmüştür. Kemferol'e ait olduğu düşünülen bu kütle iki seri -CO kaybı ile sırasıyla m/z 255 $[M-2H-132-29]^-$ ve m/z 227 $[M-2H-132-29-28]^-$ fragmentlerini oluşturmuş ve RDA temelli m/z 185 ve m/z 135 fragmentleri de gözlemlenmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda bileşiğin kemferol-O-ramnozid olabileceği sonucuna varılmıştır (Rodríguez-Pérez vd., 2013).

Görsel 4.55

51 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



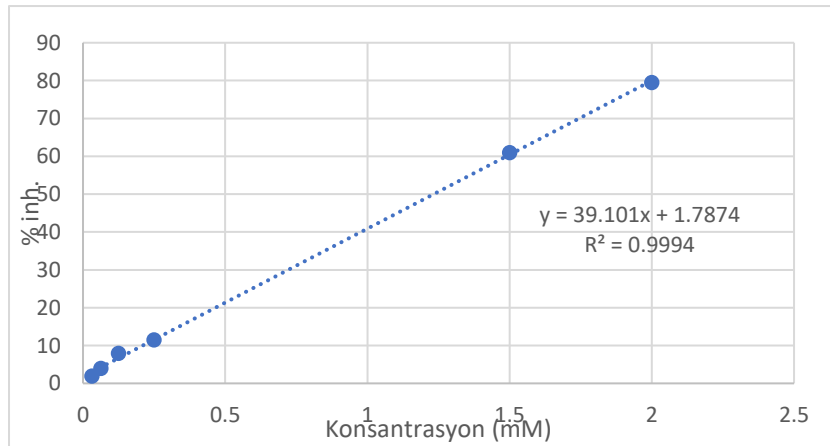
4.1.3 Ekstrelerde *in vitro* aktivite tayinleri

4.1.3.1 Antioksidan aktivite tayini

Ekstrelerin radikal süpürücü etkinliklerinin değerlendirilmesi için DPPH ve ABTS⁺ radikalleri seçilmiş ve şelatlama özellikleri için ise CUPRAC metodu kullanılmıştır. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için kullanılan farklı etki mekanizmalarında metanol ve su ekstreleri, etil asetattan daha kuvvetli etki profili sergilerken *n*-hekzan ekstreleri zayıf aktivite göstermiştir. *P. atlantica* metanol ve su ekstreleri DPPH radikalini sırasıyla IC₅₀ 4.59 ± 0.16 ve IC₅₀ 4.37 ± 0.20 µg/mL değeri ile oldukça kuvvetli bir şekilde süpürürken pozitif kontrol olarak kullanılan gallik asit (IC₅₀ 3.94 ± 0.14 µg/mL) ile arasında p < 0.05 değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Genel anlamda ise su ekstreleri en kuvvetli DPPH radikali süpürücü etkiyi göstermiştir (Tablo 4.4). ABTS⁺ radikal süpürücü etki Troloks'a eşdeğer olarak verilmiştir. Troloks'a ait kalibrasyon eğrisi ve denklemi Şekil 4.6'da verilmiştir. Dört türden elden edilen yaprak su ekstreleri en kuvvetli radikal süpürücü etkinliği gösterirken *P. vera* yapraklarından elde edilen metanol ekstresi kuvvetli radikal süpürücü etki göstermiştir. Metanol ve su ekstreleri kendi içinde kıyaslandığında ise *P. atlantica* ekstresinin en iyi etkiyi gösterdiği bulunmuştur (Tablo 4.4).

Şekil 4.6

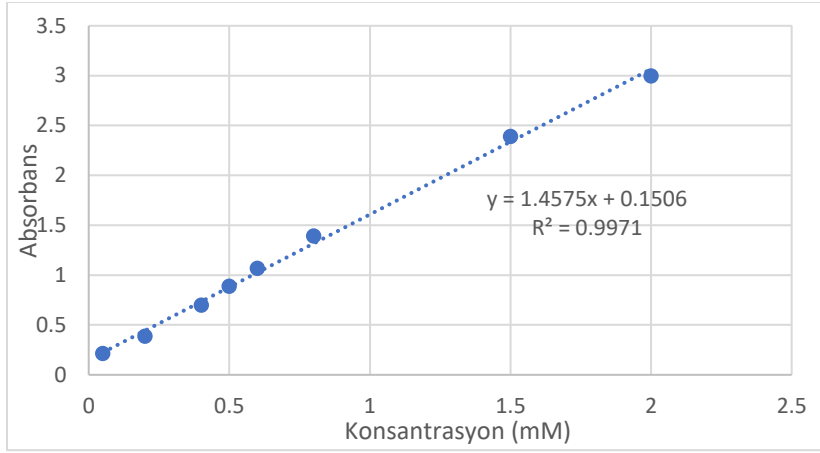
Troloks kalibrasyon eğrisi (ABTS⁺)



Ekstrelerin Bakır (II) indirgeme kapasiteleri Troloks'a eşdeğer olarak verilmiş ve Troloks'a ait kalibrasyon eğrisi Şekil 4.7'de verilmiştir. CUPRAC sonuçlarına göre su ve metanol ekstreleri oldukça kuvvetli bir şelatlama özelliği göstermiştir. Özellikle *P. atlantica* metanol ekstresi 6873.09 ± 161.63 mM_{TE}/g_{ekstre} ile en kuvvetli şelatlayıcı olmuştur. Bunu 4999.32 ± 147.93 mM_{TE}/g_{ekstre} ile *P. lentiscus* izlemiştir (Tablo 4.4).

Şekil 4.7

Troloks kalibrasyon eğrisi (CUPRAC)



Tablo 4.4

Ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçları

	Ekstreler	DPPH (IC ₅₀ , µg/mL)	TEAC (mM _{TE} /g _{ekstre})	CUPRAC (mM _{TE} /g _{ekstre})
n-Hekzan	<i>P. atlantica</i>	146.61 ± 2.58	69.89 ± 4.59 ^a	42.12 ± 3.12
	<i>P. lentiscus</i>	134.21 ± 1.21 ^a	72.66 ± 4.03 ^a	100.38 ± 1.46
	<i>P. terebinthus</i>	137.41 ± 3.01 ^a	82.75 ± 1.95 ^b	117.47 ± 1.72
	<i>P. vera</i>	112.05 ± 4.18	85.67 ± 5.18 ^b	166.31 ± 8.23
Etil asetat	<i>P. atlantica</i>	16.98 ± 0.34	392.76 ± 5.41	1072.15 ± 66.01
	<i>P. lentiscus</i>	29.26 ± 0.85	357.71 ± 10.01	1030.78 ± 65.53
	<i>P. terebinthus</i>	75.81 ± 2.54 ^b	215.3 ± 4.05 ^c	426.37 ± 26.79 ^a
	<i>P. vera</i>	75.2 ± 4.47 ^b	212.65 ± 8.67 ^c	345.87 ± 15.31 ^a
Metanol	<i>P. atlantica</i>	4.59 ± 0.16	1774.23 ± 58.19	6873.1 ± 161.63
	<i>P. lentiscus</i>	8.16 ± 0.26	1524.14 ± 46.46	4999.32 ± 147.93
	<i>P. terebinthus</i>	9.79 ± 0.19	1379.71 ± 86.09 ^d	3754.65 ± 166.19 ^b
	<i>P. vera</i>	12.1 ± 0.37	1382.89 ± 59.12 ^d	3746.19 ± 138.71 ^b
Su	<i>P. atlantica</i>	4.42 ± 0.2 ^c	2761.51 ± 63.93	4325.59 ± 94.60 ^{ab}
	<i>P. lentiscus</i>	5.48 ± 0.11	2295.16 ± 27.61	4564.01 ± 140.86 ^{cd}
	<i>P. terebinthus</i>	9.09 ± 0.39	898.08 ± 10.36	2237.08 ± 87.26
	<i>P. vera</i>	6.25 ± 0.48	2171.59 ± 71.58	4476.53 ± 91.21 ^{bc}

Tablo 4.4

(Devam) Ekstrelerin antioksidan aktivite sonuçları

Ekstreler	DPPH (IC ₅₀ , µg/mL)	TEAC (mM _{TE} /g _{ekstre})	CUPRAC (mM _{TE} /g _{ekstre})
Gallik asit**	3.94 ± 0.14 ^c	-	-

*Not: ^{a-d} Aynı kolonda bulunan aynı harfler istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını belirtmektedir (p < 0.05). **: pozitif kontrol.

4.3.1.2 Tirozinaz İnhibisyonu

Ekstrelerin deri pigmentasyonunda ve bununla ilgili rahatsızlıklarda kritik bir rol oynayan tirozinaz enzimi üzerine olan etkileri L-DOPA substratı kullanılarak araştırılmıştır. Tüm ekstreler yüksek-tek konsantrasyon uygulaması ile araştırıldıktan sonra (1 mg/mL) aktif olan ekstrelerde konsantrasyon seyreltmesi kullanılarak IC₅₀ değeri bulma yoluna gidilmiştir. Bu aşamada *n*-hekzan ekstreleri inhibitör aktivite göstermezken etil asetat ekstrelerinden *P. atlantica* ve *P. terebinthus* sırasıyla %25.64 ± 0.13 ve %24.93 ± 0.13 inhibisyon, *P. lentiscus* ise %7.74 ± 1.45 inhibitör aktivite göstermiştir. Bu aktiviteler zayıf olarak değerlendirilmiş, *P. vera* etil asetat ekstresi ise hiç aktivite göstermemiştir. Çalışılan dört türün metanol ekstrelerinin hepsi %90'ın üzerinde bir inhibisyon göstermiştir. Su ekstrelerinde ise *P. lentiscus* ve *P. vera* %90'ın üzerinde inhibisyon sergilemiştir. *P. terebinthus* su ekstresi zayıf inhibisyon (%61.38 ± 4.64) gösterirken *P. atlantica* su ekstresi ise inhibitör etki sergilememiştir. Bu sebeple 1 mg/mL konsantrasyonda %90 üzeri inhibisyon yapan tüm metanol ekstreleri ile *P. lentiscus* ve *P. vera* su ekstrelerinin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Su ekstrelerinde IC₅₀ değerleri sırasıyla *P. lentiscus* için 159.25 ± 5.09 µg/mL, *P. vera* için ise 99.68 ± 1.45 µg/mL olarak bulunmuştur. Metanol ekstrelerinde *P. lentiscus* 14.27 ± 0.51 µg/mL, *P. terebinthus* 9.19 ± 0.39 µg/mL, *P. vera* ise 10.95 ± 0.87 µg/mL IC₅₀ değerleriyle pozitif kontrol olarak kullanılan kojik asitten (IC₅₀ 16.52 ± 0.9 µg/mL) daha kuvvetli inhibitör aktivite göstermiştir. *P. atlantica* metanol ekstresi ise 91.87 ± 3.12 µg/mL IC₅₀ değeriyle kuvvetli etki gösterirken diğer üç türden daha zayıf etkili olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.5).

4.1.3.3 Elastaz İnhibisyonu

Deri altında bulunan ve derinin esnekliğinden sorumlu olan elastin yıkımını kontrol eden elastaz üzerine olan ekstrelerin etkileri, sentetik bir substrat olan N-Suc-(Ala)-3-p-nitroanilid kullanılarak değerlendirilmiştir. Başlangıçta yüksek ve tek konsantrasyonda (1-2 mg/mL) ekstreler araştırıldıktan sonra aktif çıkan örneklerden seri dilüsyon ile IC₅₀

değerleri hesaplanmıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan oleanolik asit ise sulu ortamdaki çözünürlük sorunları dolayısıyla maksimum 0.25 mg/mL konsantrasyonda test edilmiştir. Su ve metanol ekstreleri 2 mg/mL konsantrasyonda test edilirken *n*-hekzan ve etil asetat ekstreleri için maksimal konsantrasyon çözünürlük sorunları sebebiyle sırasıyla 1 mg/mL ve 0.5 mg/mL olarak belirlenmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5

Ekstrelerin tirozinaz ve elastaz inhibisyon değerleri

Ekstre	Tür	Tirozinaz (IC ₅₀ , µg/mL)	Elastaz (IC ₅₀ , µg/mL)
<i>n</i>-Hekzan	<i>P. atlantica</i>	-	-
	<i>P. lentiscus</i>	-	-
	<i>P. terebinthus</i>	-	-
	<i>P. vera</i>	-	-
Etil asetat	<i>P. atlantica</i>	-	-
	<i>P. lentiscus</i>	-	-
	<i>P. terebinthus</i>	-	-
	<i>P. vera</i>	-	-
Metanol	<i>P. atlantica</i>	91.87 ± 3.12	-
	<i>P. lentiscus</i>	14.27 ± 0.51	37.45 ± 2.97
	<i>P. terebinthus</i>	9.19 ± 0.39	27.78 ± 0.99
	<i>P. vera</i>	10.95 ± 0.87	55.88 ± 2.69
Su	<i>P. atlantica</i>	-	-
	<i>P. lentiscus</i>	159.25 ± 5.09	871.19 ± 40.15
	<i>P. terebinthus</i>	-	-
	<i>P. vera</i>	99.68 ± 1.45	772.46 ± 42.49
	Kojik asit**	16.52 ± 0.9	-
	Oleanolik asit**	-	-

Not*: **, pozitif kontrol

n-Hekzan ekstreleri 1 mg/mL konsantrasyonda %36.58 ± 2.53 ile %86.6 ± 2.49 arasında değişen inhibitör aktivite göstermiş ancak konsantrasyon 0.5 mg/mL'ye düşürüldüğünde

aktivite ortadan kaybolmuştur. Etil asetat ekstralarında ise 0.5 mg/mL’de 11.95 ± 1.89 ile 29.56 ± 1.28 arasında değişen inhibisyon oranları bulunurken *P. lentiscus* bu konsantrasyonda aktivite göstermemiştir. Metanol ekstraları ise %90 üzeri inhibisyon yaparken yalnızca *P. atlantica* 22.08 ± 0.56 ile zayıf inhibitör aktivite sergilemiştir. Su ekstralarında ise *P. lentiscus* ve *P. vera* 92.04 ± 2.56 ile 88.49 ± 4.25 inhibisyon ile kuvvetli etki göstermiştir. Tirozinaza paralel olarak *P. atlantica* ve *P. terebinthus* su ekstraları sırasıyla 27.65 ± 0.87 ve 12.42 ± 0.64 değerleri ile zayıf etkinlik sergilemiştir.

En aktif 6 ekstreten seri dilüsyon ile IC_{50} değerleri hesaplanmış ve su ekstralarından *P. lentiscus* 871.19 ± 40.15 µg/mL, *P. vera* ise 772.46 ± 42.49 µg/mL konsantrasyonlarda %50 inhibisyon göstererek metanol ekstralarına kıyasla daha zayıf bir aktivite göstermiştir. Metanol ekstraları en aktif ekstralar olarak bulunurken *P. terebinthus* IC_{50} 27.78 ± 0.99 µg/mL değeri ile en etkili tür olmuştur. *P. lentiscus* (IC_{50} 37.45 ± 2.97 µg/mL) ve *P. vera* (IC_{50} 55.88 ± 2.69 µg/mL) ise kuvvetli inhibisyon yaparken *P. terebinthus*’dan daha zayıf etki göstermiştir. Elastaz inhibisyonunda pozitif kontrol olarak kullanılan oleanolik asit ise 250, 125, 62.5 ve 31.25 µg/mL konsantrasyonlarda sırasıyla 34.79 ± 1.25 , 29.33 ± 0.65 , 20.42 ± 0.34 ve 20.42 ± 0.14 inhibisyon göstererek tüm metanol ekstralarına kıyasla daha zayıf etki göstermiştir.

4.1.3.4 Kolajenaz inhibisyonu

n-Hekzan ve etil asetat ekstraları kolajenaz üzerine test edilen maksimum konsantrasyonda (2 mg/mL) etki göstermemiştir. Su ekstralarından *P. atlantica* 2 mg/mL’de 95.04 ± 4.09 oranında bir inhibisyon yaparken bu etki 0.125 mg/mL konsantrasyonda tamamen kaybolmuştur. *P. terebinthus* su ekstresi ise 1 mg/mL’de 84.08 ± 4.97 ’lik bir aktivite göstermiş ancak 0.125 mg/mL’de bu etki %12.41’e düşmüştür. *P. lentiscus* su ekstresi ise 0.5 mg/mL’de 86.77 ± 0.58 oranında enzimi inhibe etmiş ama 0.0625 mg/mL konsantrasyonda etki kaybolmuştur. Bu su ekstralarının yanında *P. vera* ise çok daha iyi bir inhibitör aktivite sergilemiştir.

Metanol ekstralarında başlangıç konsantrasyonu 250 µg/mL olarak seçilmiş ve *P. atlantica* 36.89 ± 3.43 ile zayıf bir inhibitör etki göstermiştir. Diğer türler yüksek aktivite gösterirken su ekstralarında olduğu gibi *P. vera* en etkili tür olarak bulunmuştur.

Pozitif kontrol olarak kullanılan Epigallokateşin gallat ise en yüksek konsantrasyon 250 µg/mL olacak şekilde test edilmiş ve son konsantrasyon olan 15.625 µg/mL konsantrasyonda dahi %63.58 ± 4.36 oranında kuvvetli bir inhibisyon yapmış ve en etkili *P. vera* metanol ekstresinin aynı konsantrasyona 2 katı kadar yüksek oranda etkili olmuştur. Kolajenaz inhibisyonunda *P. vera* kuvvetli etki gösterirken tirozinaz ve elastaz enzimlerinde olduğu gibi referans madde kadar kuvvetli inhibitör özellik gözlemlenmemiştir.

Tablo 4.6

Ekstrelerin kolajenaz inhibisyon değerleri

Ekstreler		% İNHİBİSYON				
		250 µg/mL	125 µg/mL	62.5 µg/mL	31.25 µg/mL	15.62 µg/mL
Metanol	<i>P. atlantica</i>	36.89 ± 3.43	-	-	-	-
	<i>P. lentiscus</i>	78.92 ± 12.28	73.11 ± 1.26	62.55 ± 9.89	47.19 ± 1.44	-
	<i>P. terebinthus</i>	98.56 ± 4.57	78.19 ± 3.58	43.42 ± 3.20	-	-
	<i>P. vera</i>	93.39 ± 0.58	90.33 ± 4.36	75.54 ± 4.32	54.46 ± 2.27	30.04 ± 2.5
	EGCG*	91.32 ± 0.58	68.03 ± 3.75	44.61 ± 2.07	65.64 ± 6.11	63.58 ± 4.3
Su	<i>P. atlantica</i>	19.13 ± 0.87	-	-	-	-
	<i>P. lentiscus</i>	64.06 ± 5.18	8.85 ± 0.87	-	-	-
	<i>P. terebinthus</i>	12.41 ± 1.24	-	-	-	-
	<i>P. vera</i>	88.43 ± 0.58	88.17 ± 10.10	40.12 ± 6.11	19.75 ± 5.24	5.16 ± 0.92
	EGCG*	91.32 ± 0.58	68.03 ± 3.75	44.61 ± 2.07	65.64 ± 6.11	63.58 ± 4.3

Not*: EGCG*: epigallokateşin gallat, pozitif kontrol.

Ön çalışma bulguları değerlendirildiğinde;

In vitro enzim çalışmaları neticesinde *P. terebinthus*, *P. lentiscus* ve *P. vera* yapraklarının metanol ekstreleri hem tirozinaz hem de elastaz üzerine pozitif kontrollere kıyasla daha yüksek aktivite göstermiştir. Kolajenaz üzerine en yüksek aktiviteyi *P. vera* göstermiş olsa da pozitif kontrolden daha zayıf bir etkidir. Ön araştırmalarda *Pistacia* cinsine ait toplanan dört türün ekstreleri karşılaştırıldığında ise *P. terebinthus* metanol ekstresi hem

tirozinaz hem de elastaz enzimleri açısından en yüksek potansiyel etkiye sahip olarak değerlendirilmiştir. Bu doğrultuda, *P. terebinthus* metanol ekstresi üzerinden fraksiyonlama çalışmalarının yürütülmesine karar verilmiştir. Çalışmanın devamında hedef enzimler olarak tirozinaz ve elastaz seçilmiştir. Ekstrelerin kolajenaz üzerine inhibisyonları dikkate değer olsa da pozitif kontrolden daha düşük etkili olmaları bu kararda etkili olmuştur.

4.2 *P. terebinthus* Üzerinde Yapılan Aktivite Yönlendirmeli Analiz Çalışmalarına Ait Bulgular

Daha önce detaylı açıklanan poliamit dolgu ile gerçekleştirilen fraksiyonlama çalışmaları neticesinde 8 adet fraksiyon elde edilmiştir. Bu fraksiyonlar üzerinde *in vitro* tirozinaz ve elastaz testleri tekrarlanmıştır. Buna ek olarak YPSK-KS/KS ile tüm fraksiyonların kimyasal profilleri araştırılmıştır. *In vitro* aktivite sonuçları değerlendirildiğinde fraksiyonlar arasındaki sinerjik etkileşim Chou-Talalay metodu ile gerçekleştirilmiştir.

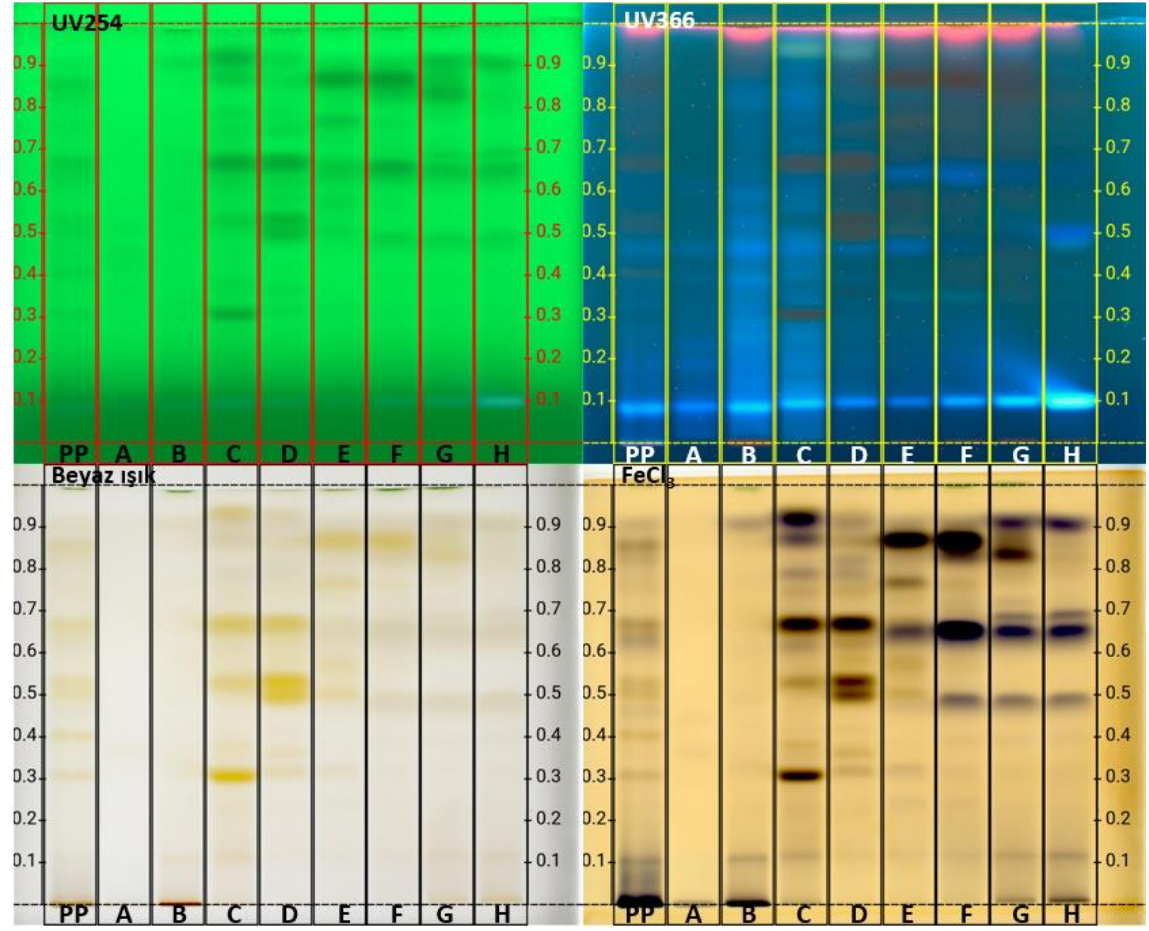
4.2.1 Fraksiyonlarda kromatografik çalışmalara ait bulgular

4.2.1.1 YPİTK Sonuçları

İTK profilleri baz alınarak gerçekleştirilen poliamit dolgulu kolon fraksiyonlaması sonrasında ana ekstre ile karşılaştırmalı olarak YPİTK analizleri gerçekleştirilmiştir. YPİTK çalışmaları iki farklı mobil faz üzerinden yürütülmüştür. Develope edilen plaklarda NPR/PEG, FeCl₃ ve H₂SO₄ türevlendirmeleri gerçekleştirilmiştir. Daha polar bileşenlerin ayrımı için etil asetat: asetik asit: formik asit: su (100:11:11:26, *h:h:h:h*) karışımı hareketli faz olarak kullanılmıştır. UV₂₅₄, UV₃₆₆, beyaz ışık görüntülemeleri ile birlikte FeCl₃ türevlendirmesi sonrası elde edilen plak görüntüleri Görsel 4.56'da verilmiştir. NPR/PEG ve sülfürik asit türevlendirilmesi sonrası kaydedilen görüntüler ise Görsel 4.57'de gösterilmiştir.

Görsel 4.56

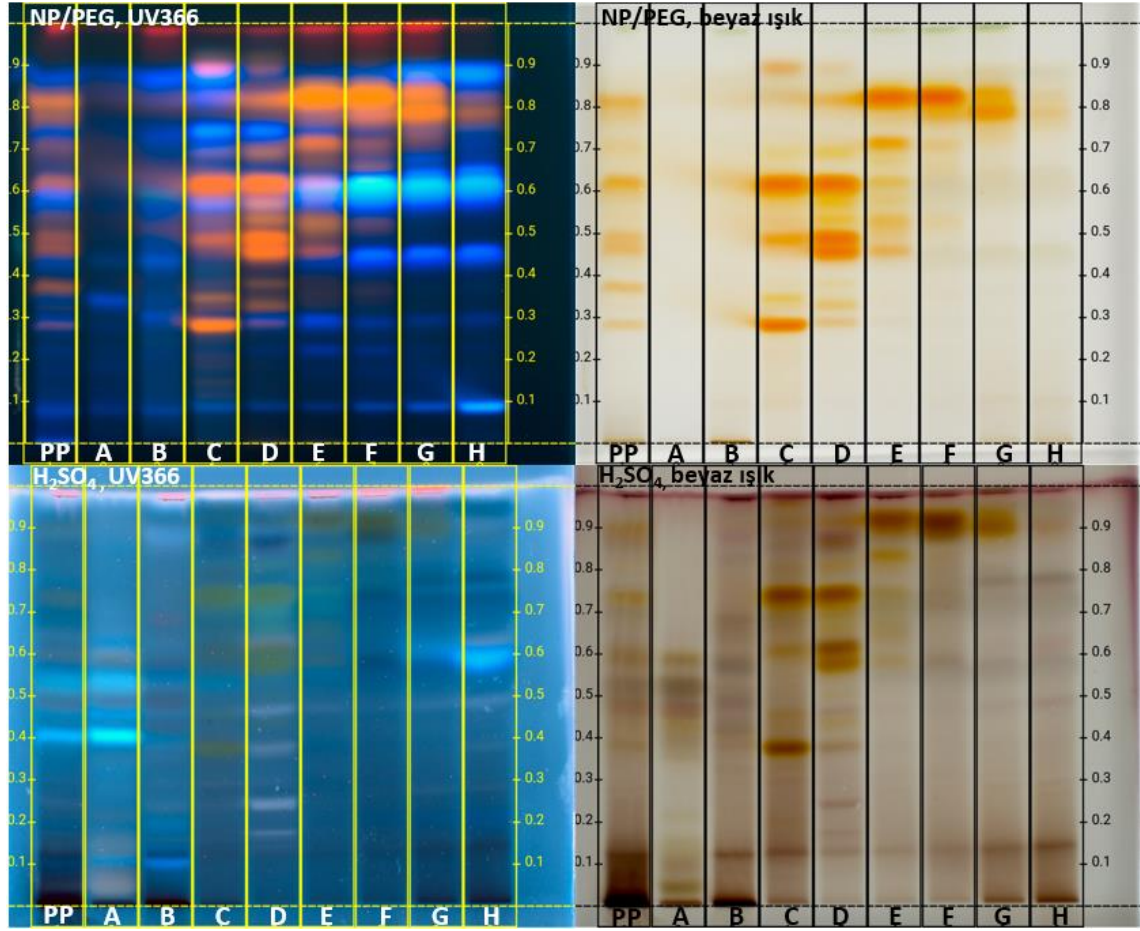
Ekstre ve fraksiyonlara ait YPİTK görüntüleri (UV254, UV366, beyaz ışık ve $FeCl_3$ türevlendirmesi)



Not*: PP, *P. terebinthus* metanol ekstresi; PP uygulama miktarı 100 μ g; Fraksiyonların uygulama miktarı 50 μ g.

Görsel 4.57

Ekstre ve fraksiyonlara ait YPİTK görüntüleri (NP/PEG ve H₂SO₄ türevlendirmesi)

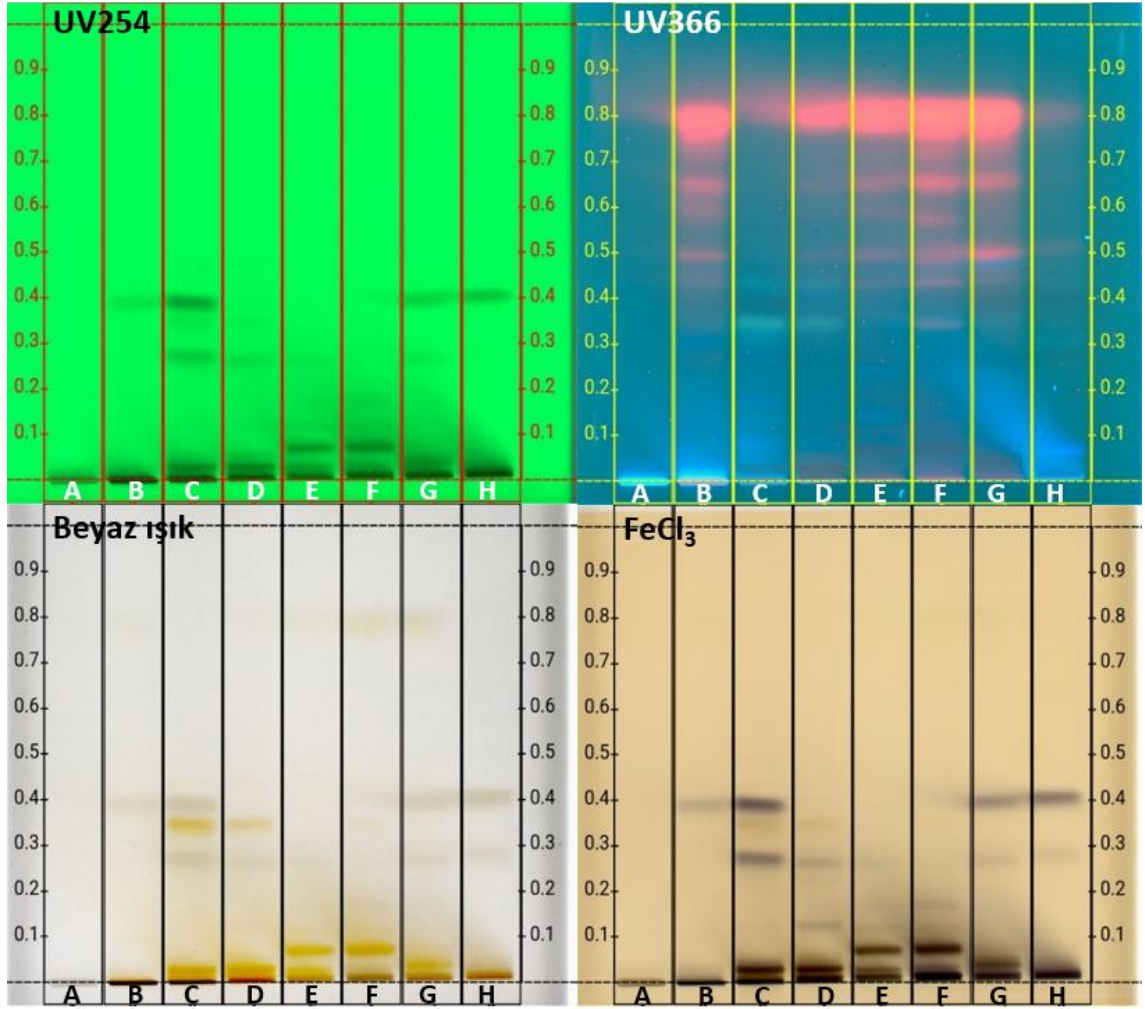


Not*:PP, *P. terebinthus* metanol ekstresi; PP uygulama miktarı 100 µg; Fraksiyonların uygulama miktarı 50 µg.

Yüksek hR_F zonlarında bazı bantların üst üste binmesi dolayısıyla daha apolar bileşiklerin ayrımını gerçekleştirmek için Toluen: etil asetat: formik asit (7:3:1, $h:h:h$) karışımı kullanılmıştır. Bu mobil faz ile gerçekleştirilen kromatografik ayırım sonrasında kaydedilen UV254 nm, UV366 nm, beyaz ışık ve FeCl₃ türevlendirme görüntüleri Görsel 4.58’de verilmiştir. NP/PEG ve sülfürik asit türevlendirmesi sonrası kaydedilen görüntüler ise Görsel 4.59’da gösterilmiştir.

Görsel 4.58

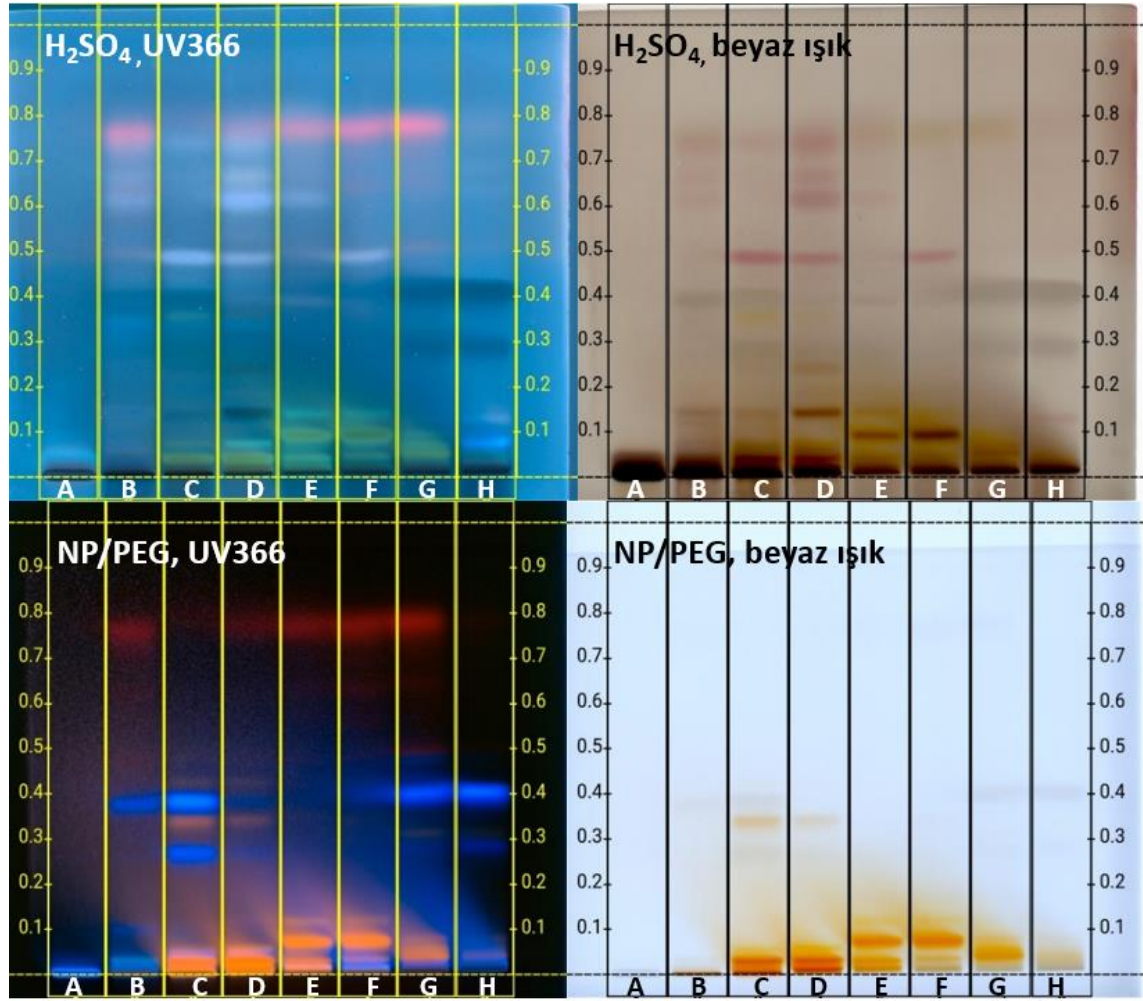
Fraksiyonlara ait YPİTK görüntüleri (UV254, UV366, beyaz ışık ve FeCl₃ türevlendirmesi)



Not: PP, P. terebinthus metanol ekstresi; PP uygulama miktarı 100 µg; Fraksiyonların uygulama miktarı 50 µg.*

Görsel 4.59

Fraksiyonlara ait YPİTK görüntüleri (H_2SO_4 ve NP/PEG türevlendirmesi)



Not*:PP, *P. terebinthus* metanol ekstresi; PP uygulama miktarı 100 μ g; Fraksiyonların uygulama miktarı 50 μ g.

4.2.1.2 YPSK-KS/KS Analizleri

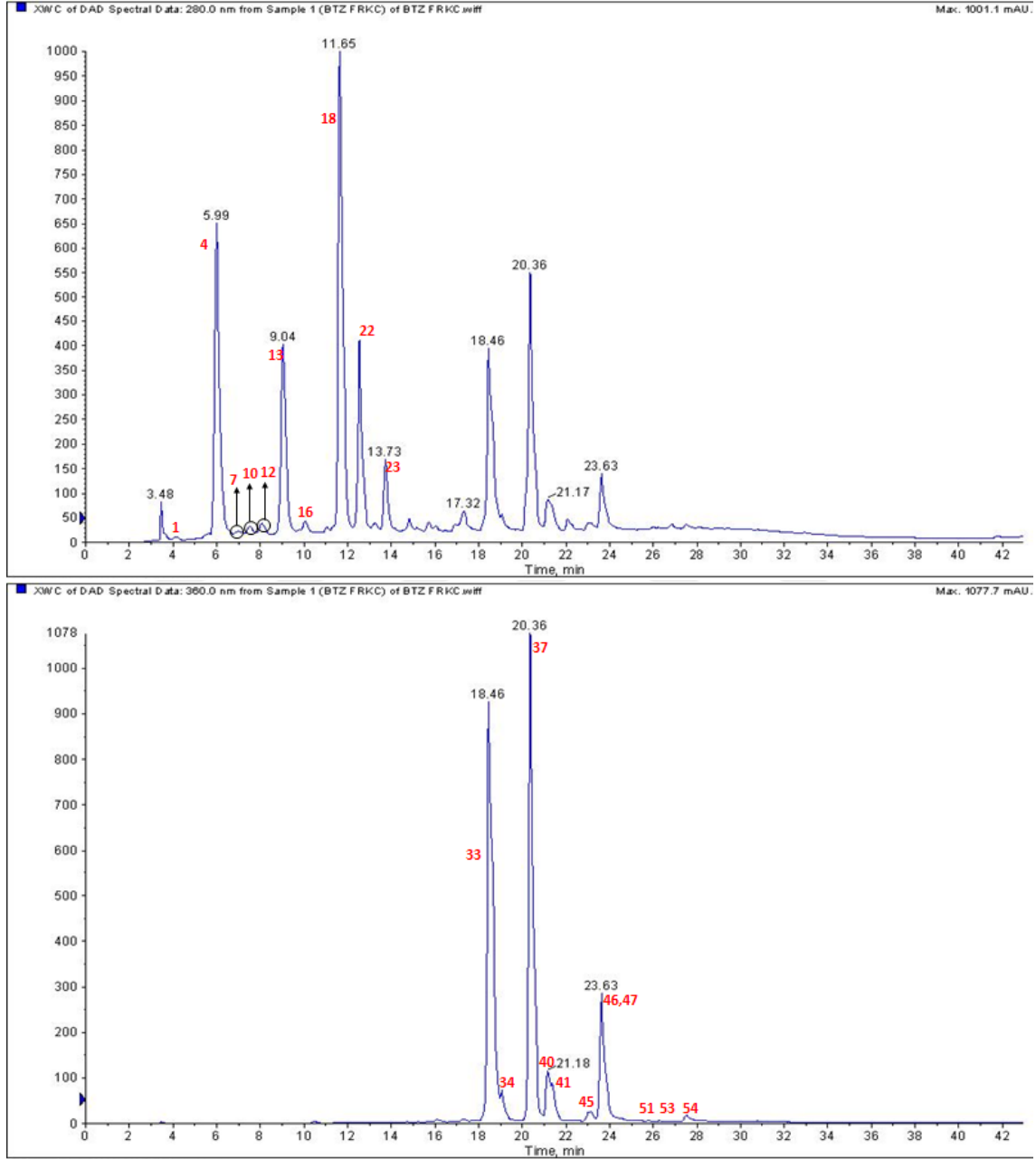
Fraksiyonların YPSK-KS/KS analizleri ekstreler için belirlenen parametrelere göre yapılmıştır. Kütle taraması 100-1000 amu aralığında gerçekleştirilmiştir. Ekstrelerin YPSK-KS/KS analizlerine ait değerlendirmeler ve tanımlanan bileşikler 4.1.2 başlığı altında detaylı olarak verildiği için fraksiyonlardaki aynı bileşikler için detaylı bir yorumlamaya gidilmeyip tabloda liste halinde verilmiştir. Ancak fraksiyonlarda bu analiz kapsamında belirlenen ek bileşikler için detaylı değerlendirme yapılmıştır.

Fraksiyon analizlerinde iki adet galloilkinik asit izomeri ve iki adet metilgalloilkinik asit izomeri ile luteolin-*O*-heksosid, kemferol-*O*-rutinozit, kemferol-*O*-heksosid, kersetin-*O*-galloil-*O*-rutinozit, mirsetin-*O*-digalloil-*O*-ramnozit, mirsetin-*O*-digalloil-*O*-pentozit ve

kersetin-*O*-digalloil-*O*-ramnozit ayrıca tespit edilmiştir. Altı fraksiyonun 280 ve 360 nm kromatogramları Görsel 4.60-Görsel 4.65’de verilmiştir.

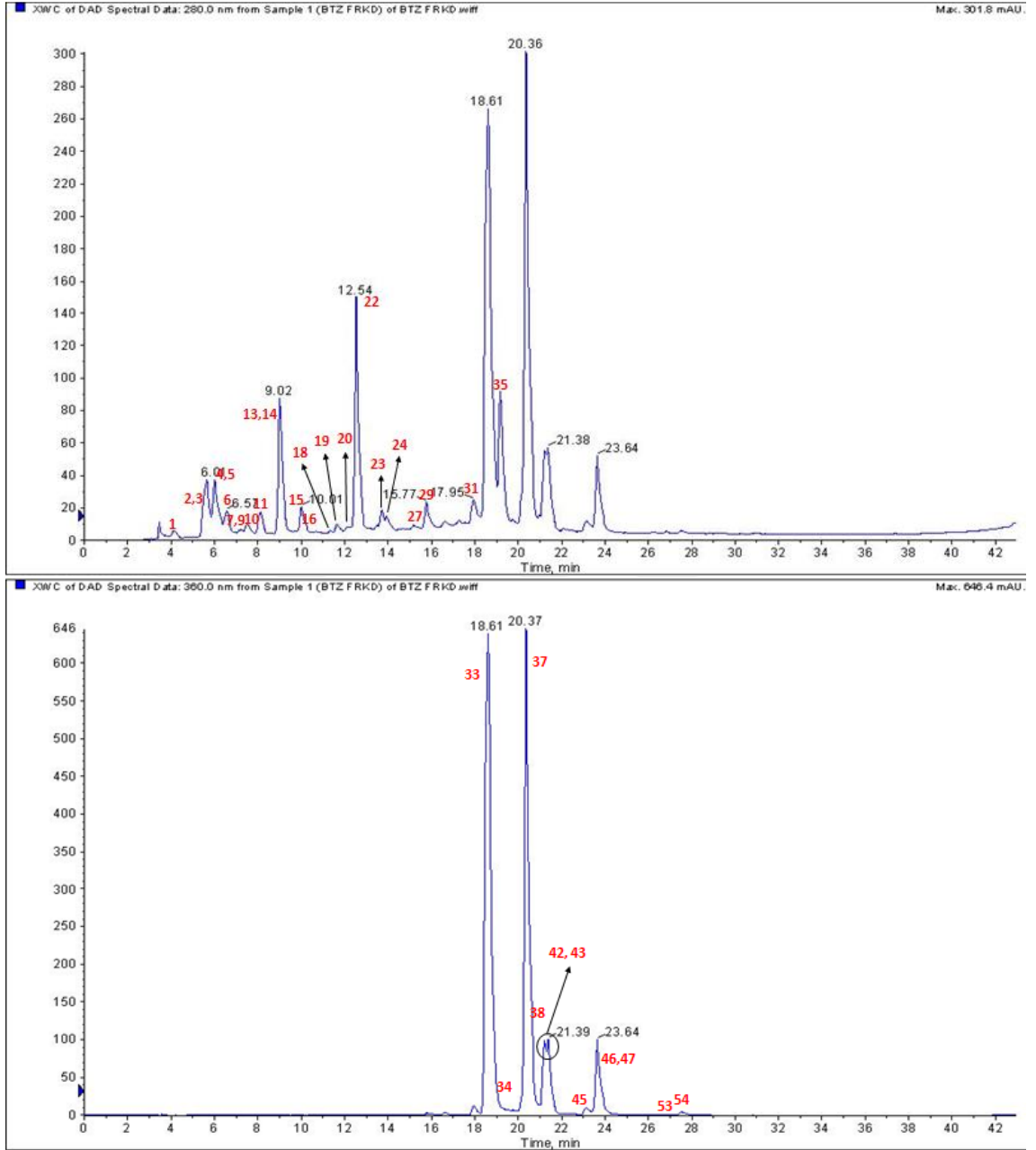
Görsel 4.60

C kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm)



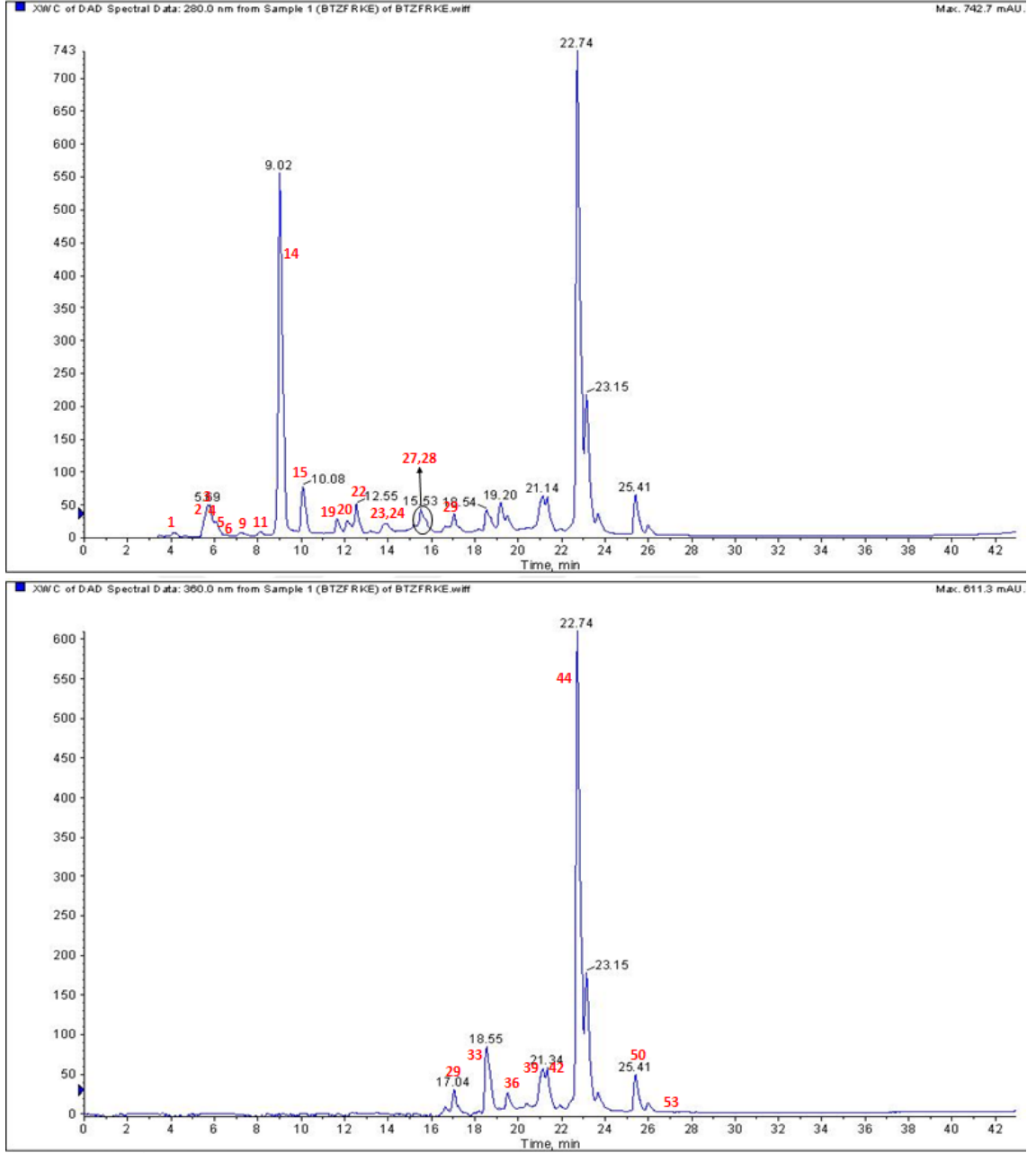
Görsel 4.61

D kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm)



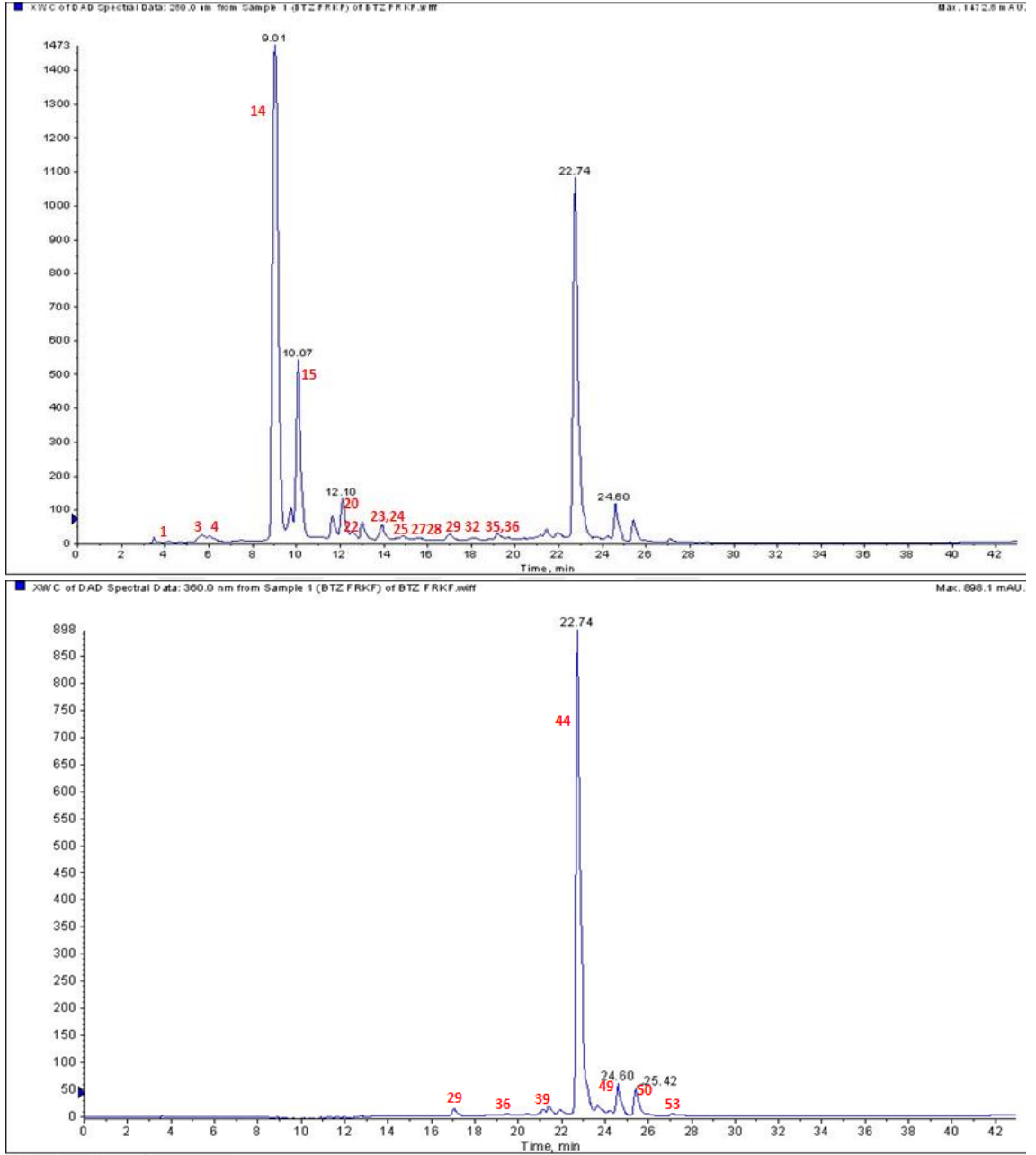
Görsel 4.62

E kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm)



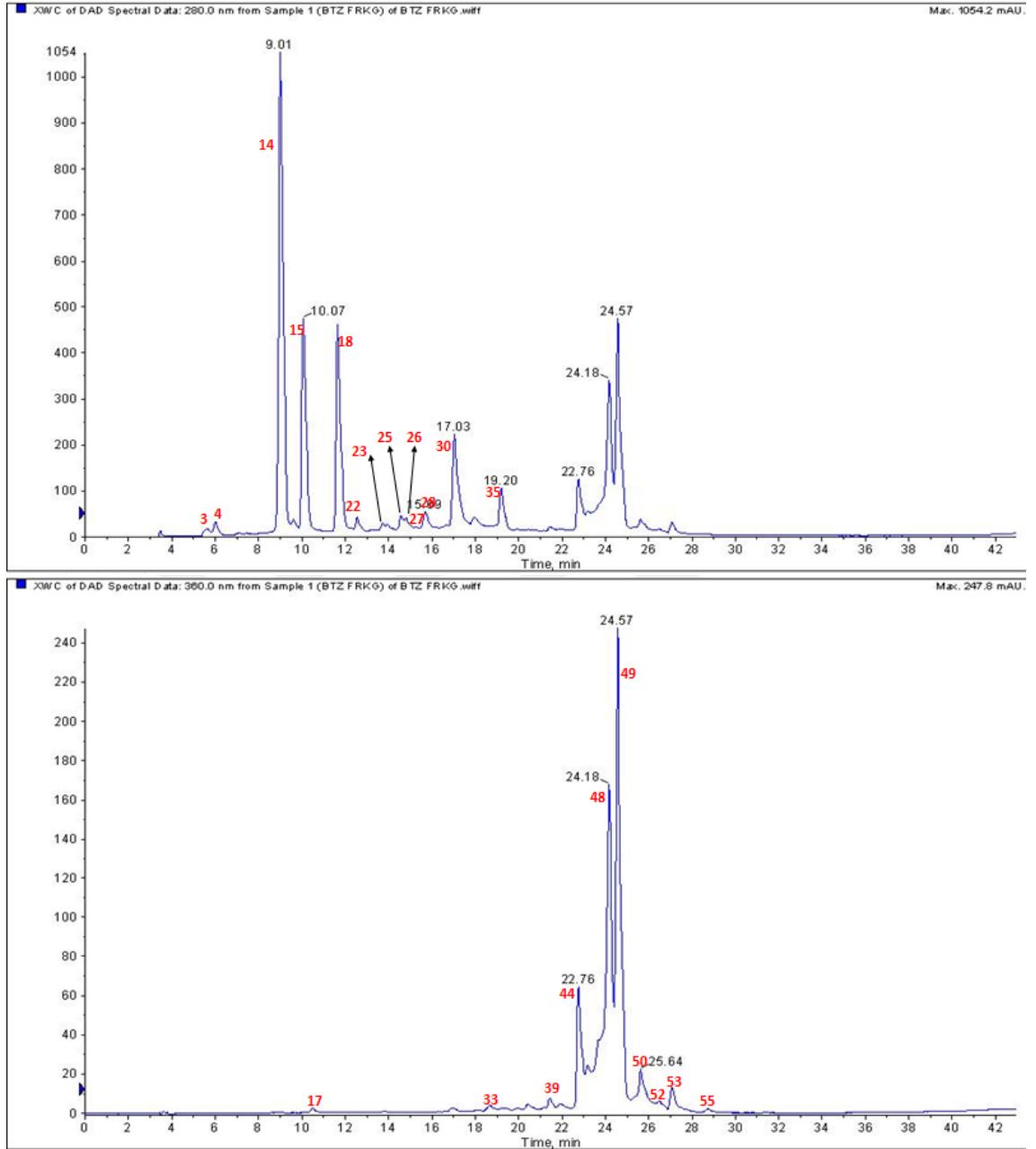
Görsel 4.63

F kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm)



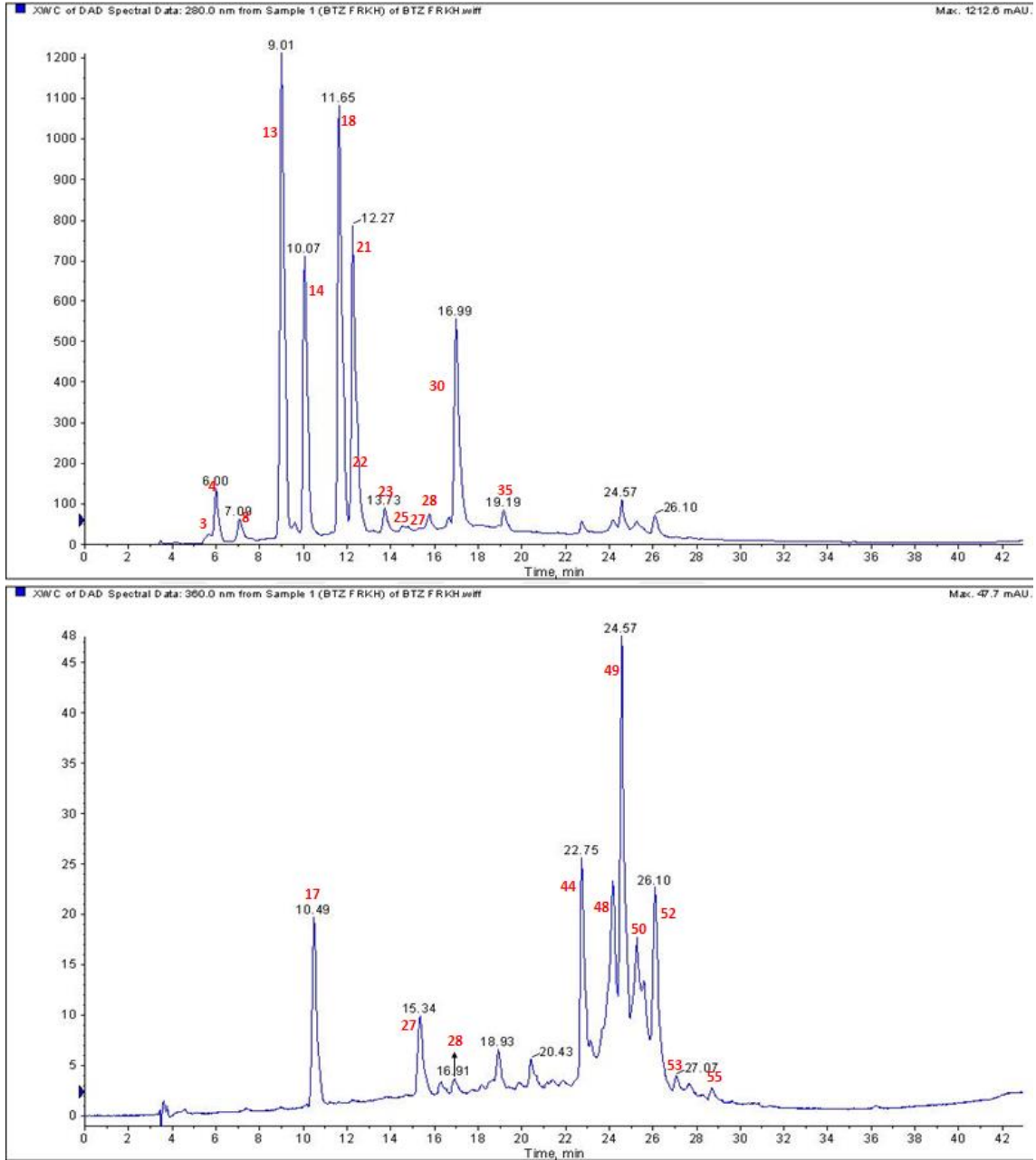
Görsel 4.64

G kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm)



Görsel 4.65

H kodlu fraksiyona ait DAD kromatogramı (280 nm ve 360 nm)



Tablo 4.7*P. terebinthus* fraksiyonlarında tanımlanan bileşikler ve kütle parçalanmaları

No	Rt	M-H ⁻	Ms ⁿ	Tanımlama	Fraksiyon
1	3.48	343	191, 173, 169, 125	Galloilkinik asit izomer 1	C, D, E, F
2	5.60	343	191, 173, 127	Galloilkinik asit izomer 2	D, E
3	5.80	343	191, 169, 173, 137, 125, 111	Galloilkinik asit izomer 3	D, E, F, G, H
4	5.99	169	125	Gallik asit st	C, D, E, F, G, H
5	6.01	357	169, 140, 125	Metilgalloil kinik asit izomer 1	D, E
6	6.57	305	261, 237, 219, 203, 179, 171, 139, 125, 109	Epigallokateşin	D, E
7	7.05	325	169, 125, 139	Galloilşikimik asit	C, D
8	7.09	495	343, 325, 245, 201, 191, 169, 173, 125, 107	4,5-Digalloil kinik asit	H
9	7.27	299	225, 169, 163, 147, 125	Gallik asit türevi	D, E
10	7.58	331	169, 125	Gallik asit-O-hekzosit	C, D
11	8.05	357	191, 169, 140, 125, 107	Metilgalloil kinik asit izomer 2	D, E
12	8.79	315	153	Gentisik asit-O-hekzosit	C
13	9.01	357	191, 169, 140, 125, 107	Metilgalloil kinik asit izomer 3	C, D
14	9.03	495	343, 325, 191, 169, 173, 125, 107	3,5-Digalloil kinik asit	D, E, F, G, H
15	10.07	495	343, 325, 191, 169, 173, 125, 107	3,4-Digalloil kinik asit	D, E, F, G, H
16	10.10	289	245, 205	Kateşin st	C, D
17	10.49	366	204, 160, 116	Bilinmeyen madde	G, H
18	11.65	183	125, 111	Metil gallat	C, D, G, H
19	11.85	285	153, 108	Gentisik asit-O-pentozit	D, E
20	12.10	457	331, 305, 261, 219, 193, 169, 125, 109	(Epi)gallokteşin gallat st	D, E, F
21	12.27	647	495, 343, 325, 191, 169, 125	Trigalloil kinik asit	H
22	12.62	509	357, 339, 191, 169, 125	O-galloil-O-metilgalloil kinik asit izomer 1	C, D, E, F, G, H

Tablo 4.7*(Devam) P. terebinthus fraksiyonlarında tanımlanan bileşikler ve kütle parçalanmaları*

No	Rt	M-H ⁻	Ms ⁿ	Tanımlama	Fraksiyon
23	13.73	509	357, 339, 297, 219, 191, 169, 125	O-galloil-O-metilgalloil kinik asit izomer 1	C, D, E, F, G, H
24	13.83	457	305, 261, 219, 179, 167, 139, 125, 109	Gallokateşin gallat	D, E, F
25	14.58	787	635, 617, 483, 465, 169	Tetragalloil glukoz	F, G, H
26	14.72	609	457, 305	Epigallokateşin digallat	G
27	15.34	661	509, 357, 339, 169, 125	O-digalloil-O-metilgalloil kinik asit	D, E, F, G, H
28	15.69	441	289, 245, 205, 203, 169, 137, 109	(Epi)kateşin monogallat	E, F, G, H
29	17.01	631	479, 316, 169, 287, 271, 179	Mirsetin-O-galloil heksosit izomer	D, E, F
30	17.03	938	769, 616, 601, 555, 483, 469, 465, 447, 393, 321, 317, 308, 295, 241, 211, 169, 125	Pentagalloil glukoz	G, H
31	17.95	463	301, 271, 255, 191, 149	Kersetin heksosit	D
32	18.11	441	289, 245, 205, 203, 169	(Epi)kateşin monogallat	F
33	18.61	479	316, 287, 271, 242	Mirsetin-O-heksosit	C, D, E
34	18.69	625	479, 316, 287, 271, 242	Mirsetin-O-rutinozit	C, D
35	19.20	335	183, 169, 139, 124	Metildigallat ester	D, E, F, G, H
36	19.53	615	463, 316, 300, 169	Kersetin-O-galloil-O-heksosit	E, F
37	20.36	463	316, 287, 271, 259, 242, 179, 151, 137	Mirsetin-O-ramnozit	C, D
38	20.87	447	285, 267, 256, 199, 175	Luteolin heksosit	D
39	21.14	631	479, 316	Mirsetin-O-galloil heksosit izomer	E, F, G
40	21.17	593	447, 285, 256, 149	Kemferol-O-ramnozit-O-heksosit	C
41	21.30	609	301	Rutin st	C
42	21.34	615	463, 316, 301, 273, 179, 151, 169	Kersetin-O-galloil-O-heksosit	D, E

Tablo 4.7*(Devam) P. terebinthus fraksiyonlarında tanımlanan bileşikler ve kütle parçalanmaları*

No	Rt	M-H ⁻	Ms ⁿ	Tanımlama	Fraksiyon
43	21.39	761	615, 463, 316, 301, 273, 179, 151, 169	Kersetin-O-galloil-O-hekzosit-O-ramnozid	D
44	22.74	615	463, 445, 671, 316, 297, 271, 227, 179, 169, 137, 111	Mirsetin-O-galloil-ramnozid	E, F, G, H
45	23.29	447	284, 255, 227, 211, 163	Kemferol hekzosit	C, D
46	23.63	447	301	Kersetin-O-ramnozid st	C, D
47	23.64	317	271, 217, 179, 165, 151, 137, 109	Mirsetin st	C, D
48	24.18	767	615, 463, 317, 297, 279, 179, 169, 125	Mirsetin-O-digalloil-ramnozid izomer 1	G, H
49	24.60	767	615, 449, 317, 297, 279, 179, 169, 125	Mirsetin-O-(galloil-O-metilgalloil)-O-pentozit	F, G, H
50	25.41	599	447, 301, 273, 255, 179, 169, 151	Kersetin-O-galloil-ramnozid	E, F, G, H
51	25.84	836		Bilinmeyen madde	C
52	26.11	751	599, 301	Kersetin-O-digalloil ramnozid	G, H
53	27.05	949	903, 887, 565, 451, 338, 225	Bilinmeyen madde	C, D, E, F, G, H
54	27.57	301	271, 243, 203, 187, 151, 121, 107	Kersetin st	C, D
55	28.72	285	199, 175, 149, 133	Luteolin	G, H

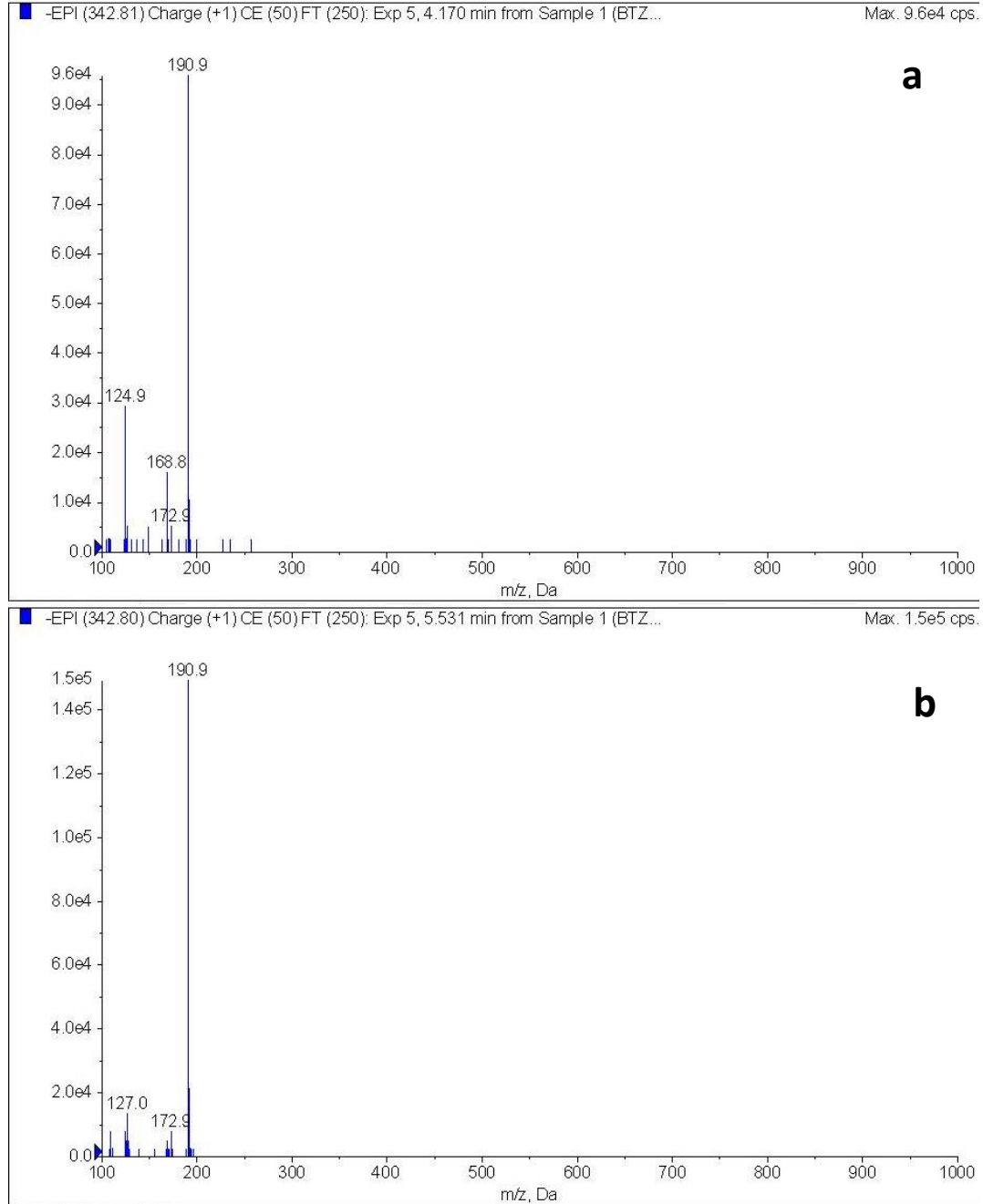
Not*:stanalitik standart ile karşılaştırılarak tanımlana yapıldığını ifade etmektedir. MA:molekül ağırlığı, Rt:Alıkonma zamanı.

1 ve 2 numaraları maddeler sırasıyla 3.48 ve 5.60 dk'da kolondan elüe olmuş ve m/z 343 [M-H]⁻ moleküler iyon pikini göstermiştir. Ekstrelerde yalnızca bir adet tanımlanan galloilkinik asit'in iki farklı izomeri olduğu düşünülen bu bileşiklerden kolonu erken terk eden madde kinik asit'e ait m/z 191 ve gallik asit'e ait m/z 169 ile m/z 125 fragmentlerini vermiştir (Görsel 4.66a). 2 numaralı maddenin fragmentasyonunda ise m/z 191, m/z 173 ve m/z 127 kütleleri belirlenmiştir (Görsel 4.66b). Daha önce de açıklandığı üzere gallik asit (m/z 169) ve kinik asit'e (m/z 191) ait kütlelerin bağıl bolluğu gallik asitin kinik asit'e bağlanma pozisyonundaki farklılıklara bağlıdır. Fragment farklılıklarından dolayı bu iki

bileşiğin sonuç olarak farklı galloilkinik asit izomerleri olabileceği düşünülmüştür (Clifford vd., 2007).

Görsel 4.66

1(a) ve 2 (b) numaralı maddelere ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

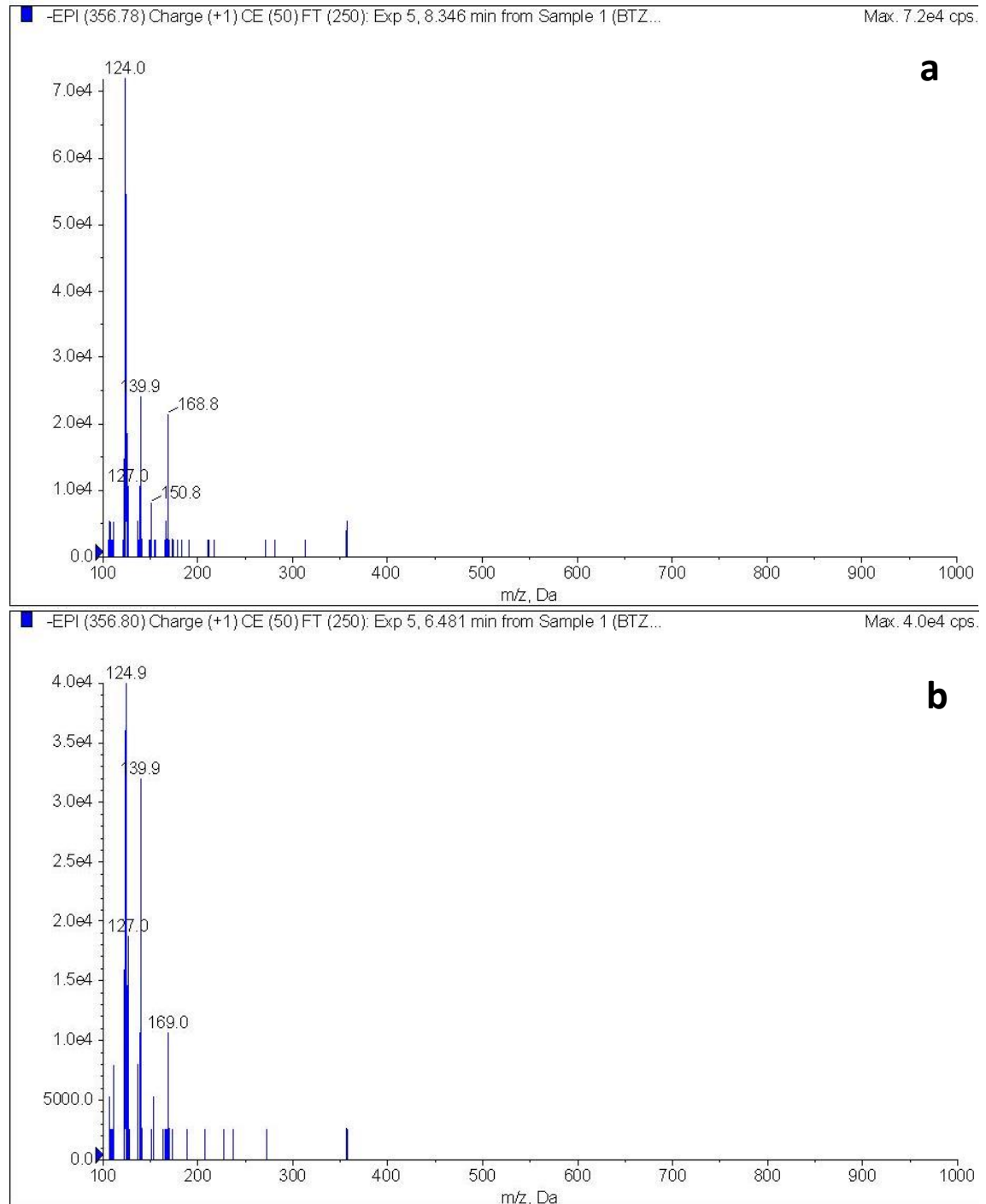


5 ve 11 numaralı maddeler sırasıyla 6.01 ve 8.05 dk'da kolondan elüe olmuş ve m/z 357 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki vermiştir. 5 numaralı molekül CO_2 çıkışı ile (-44 Da) m/z 313 fragmenti göstermiştir. Daha yüksek enerjilerde ise m/z 169, m/z 151, m/z 140 ve m/z 125 kütleleri gözlemlenmiştir (Görsel 4.67a). Ekstrelerde metilgalloil kinik asit olarak daha önce tanımlanan bir bileşiğin izomeri olabileceği düşünülen bu molekülde -166 amu

kaybı ile oluşması beklenen m/z 191 kinik asit'e ait pik görülememiştir. 11 numaralı madde ise 5 numaralı madde ile aynı fragmentasyona ek olarak m/z 191 kinik asit pikini de göstermiştir (Görsel 4.67b). Pozisyonel farklılıklardan oluştuğu düşünülen bu fragmentasyon dolayısıyla bu iki bileşik metilgalloil kinik asit izomerleri olarak yorumlanmıştır (Sannomia vd., 2022).

Görsel 4.67

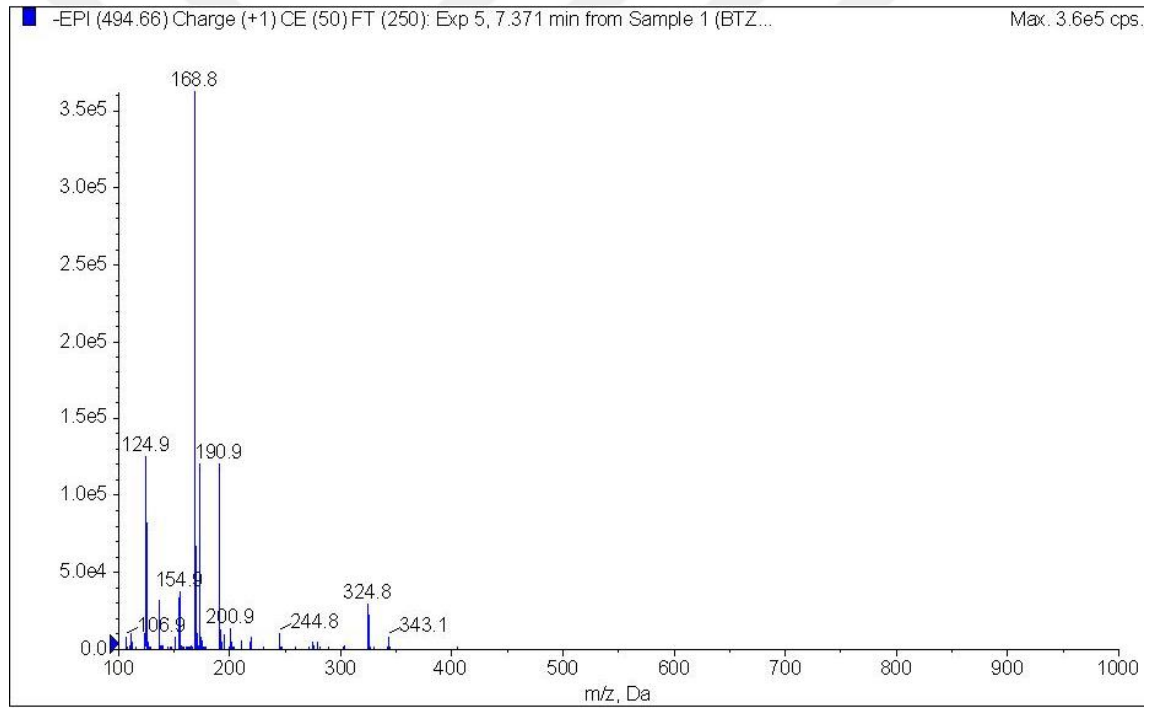
5(a) ve 11(b) numaralı maddelere ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



8 numaralı madde m/z 495 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip molekül kolonu 7.09 dk'da terk etmiş ve m/z 343 temel iyon pikini vermiştir. m/z 191, m/z 169, m/z 125 ve m/z 107 pikleri kinik asit ve gallik asit varlığını göstermiştir ve ekstrelerde daha önce tanımlanan digalloilkinik asit'in bir izomeri olduğu anlaşılmıştır (El Bishbishy vd., 2020; Rodríguez-Pérez vd., 2013) (Görsel 4.68). Buna ek olarak m/z 245 ve m/z 201 dekarboksilasyon pikleri dikkat çekici bulunmuştur. Gallik asit kütlesi kinik asit'e göre daha baskınken m/z 325 kütlesinin m/z 343'e göre daha bol bulunması literatürde dekarboksilasyon piklerinin varlığını da göz önünde bulundurarak 4,5- pozisyonuna işaret etmiş ve muhtemelen yapının 4,5-digalloilkinik asit olabileceği düşünülmüştür (Clifford vd., 2007).

Görsel 4.68

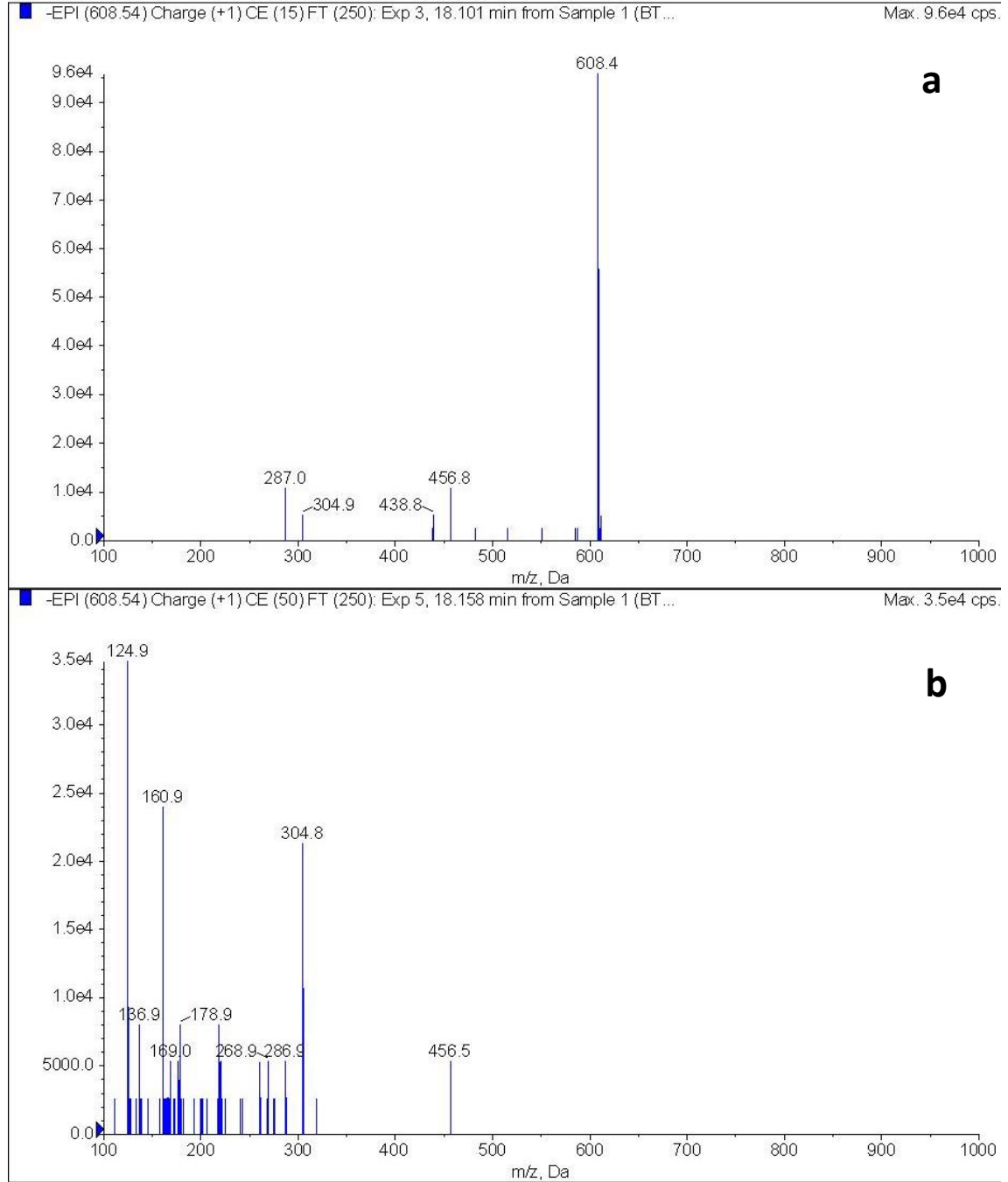
8 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



26 numaralı madde Moleküler iyon piki m/z 609 $[M-H]^-$ olan maddeden iki galloil ünitesinin kopması ile m/z 457 $[M-H-152]^-$ ve m/z 305 $[M-H-152-152]^-$ fragmentleri oluşmuştur. Ayrıca m/z 457'den su çıkışı sonucu m/z 439 $[M-H-152-18]^-$ ve m/z 305'den su çıkışı sonrasında da m/z 287 $[M-H-152-152-18]^-$ fragmentleri 15 CE'de gözlemlenmiştir (Görsel 4.69a). 50 CE'de görülen m/z 179 ve m/z 161 kütleleri flavan-3-ol RDA kırılmalarını; m/z 169 ve m/z 125 fragmentleri ise gallik asit varlığını doğrulamıştır (Görsel 4.69b). Daha önce tanımlanan gallokateşin gallat bileşiğine (m/z 457 $[M-H]^-$) bir gallik asit daha bağlandığı anlaşılmış ve molekül (epi)gallokateşin digallat olarak yorumlanmıştır.

Görsel 4.69

26 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

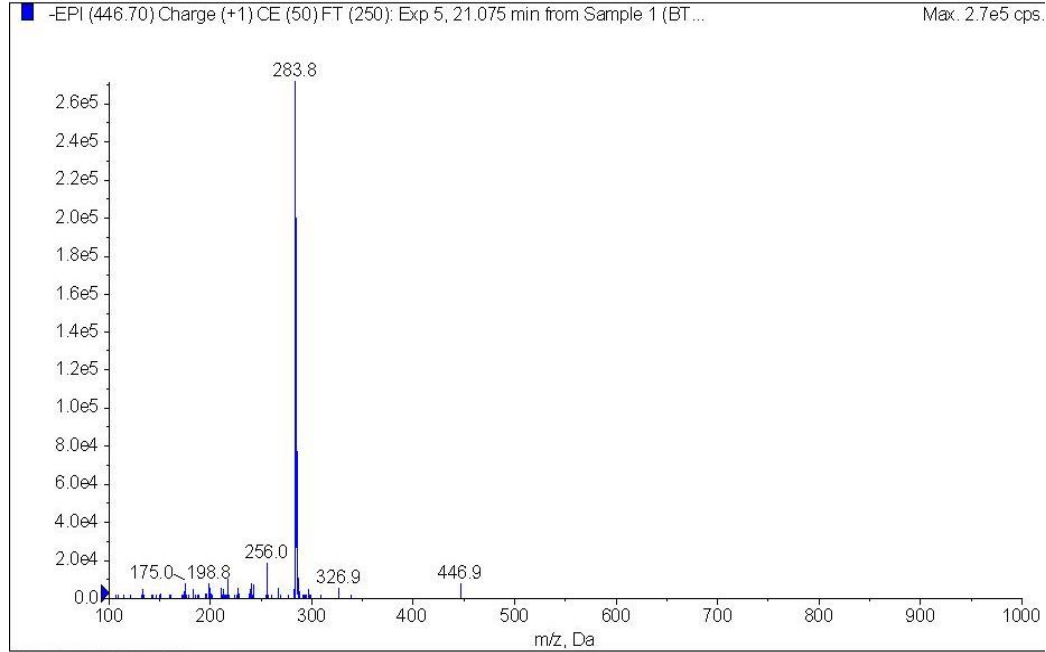


38 numaralı madde Moleküler iyon piki m/z 447 $[M-H]^-$ olan bileşiğin temel iyon piki m/z 285 $[M-H-162]^-$ olarak gözlemlenmiştir. Bir hekzos çıkışı ile bağdaştırılan bu kütle kaybindan sonra temel iyon pikinin bir aglikon olduğu düşünülmüş ve aynı kütleyle sahip kemferol veya luteolin olabileceği değerlendirilmiştir. Ancak kemferolde beklenen sıralı $-CH_2O$ (-30 Da) ve $-CO$ (-28 Da) kayıpları ile karakterize m/z 255 (yoğun) ve m/z 227 fragmentleri ile m/z 179-151 RDA fragmentlerine rastlanmamıştır. Ayrıca sıralı $-CO$ kaybı ile oluşan m/z 199 kütlelerinin luteolin için tanısal olduğu literatürde bildirilirken

RDA sonrası oluşan m/z 175 iyonu da luteolini kemferolden ayıran bir özelliktir (Görsel 4.70). Bu bilgiler doğrultusunda bileşik bir luteolin hekzositi olarak tanımlanmıştır.

Görsel 4.70

38 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

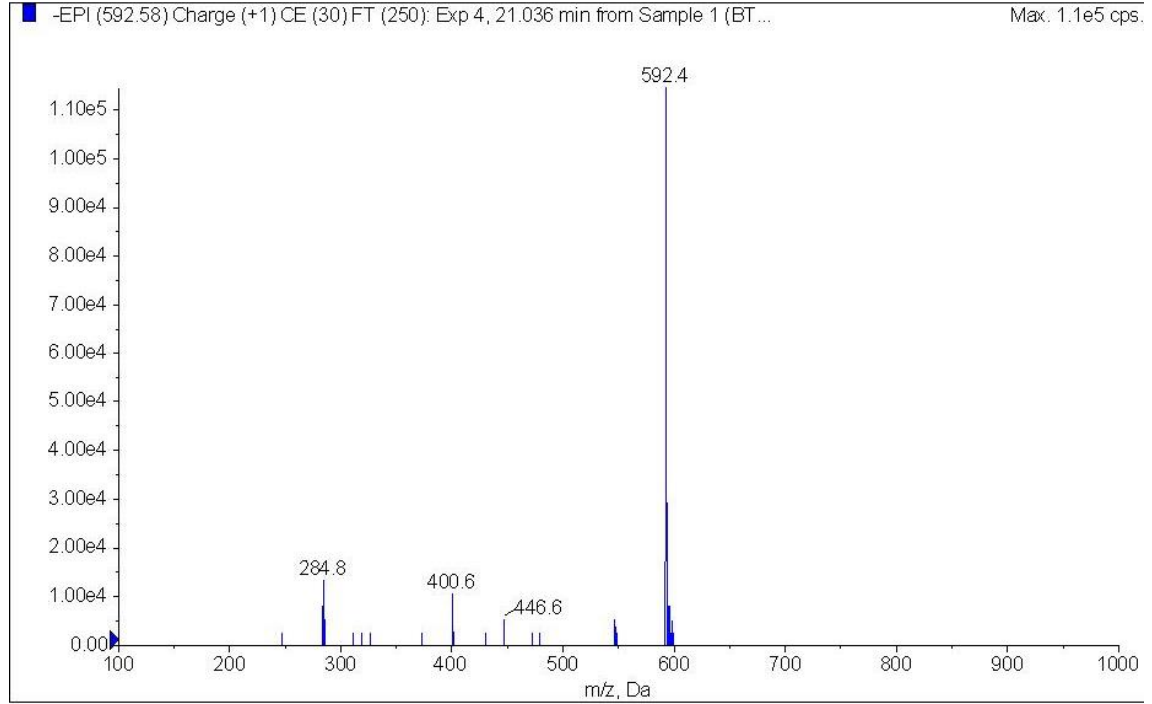


40 numaralı madde m/z 593 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki veren ve kolonu 21.17 dk.'da terk eden bileşik m/z 447 $[M-H-146]^-$ ve m/z 285 $[M-H-146-162]^-$ fragmentlerini vermiştir. Bu esnada gözlemlenen -146 amu'luk kayıp bir ramnoz şekeri, -162 amu'luk kayıp ise bir hekzos şekeri ile ilişkilendirilmiştir. m/z 285 kütesinden oluşan m/z 256 kütesinin bolluğu ile m/z 199 kütesinin gözlemlenememesi sebebi ile aglikon yapının kemferol olduğuna karar verilmiştir (Görsel 4.71). Bu bilgiler doğrultusunda bileşik bir kemferol-O-rutinozit olarak tanımlanmıştır.

43 numaralı madde m/z 761 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki veren ve kolonu 21.39 dk.'da terk eden madde m/z 615 $[M-H-146]^-$, m/z 463 $[M-H-146-152]^-$ ve m/z 301 $[M-H-146-152-162]^-$ fragmentleri göstermiştir (Görsel 4.72). 146 amu'luk kayıp ramnoz şekeri, 152 amuluk kayıp galloil birimi ve 162 amu'luk kayıp ise hekzos şekeri ile ilişkilendirilmiştir. m/z 301 kütesi devamında gözlemlenen m/z 283, m/z 271, m/z 255 ve m/z 243 kütleleri ve RDA sonrası oluşan m/z 179 ile m/z 151 fragmentleri yapıda bir kersetin aglikonu olduğunu doğrulamıştır. Bu bilgiler ışığında bileşiğin kersetin aglikonuna hekzos+ ramnoz (rutinoz) ve galloil birimlerinin bağlanması ile oluştuğu düşünülmüştür (Hwang vd., 2001).

Görsel 4.71

40 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



45 numaralı madde m/z 447 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki veren molekül -162 amu'luk (muhtemel şeker kopması) kütle kaybı ile 285 m/z temel iyon piki göstermiştir. Bu kütlede oluşan sıralı m/z 255 (-29 Da) ve m/z 227 (-98-28 Da) fragmentleri kemferol aglikonun karakteristik -COH ve -CO kaybı ile ilişkilendirilmiştir. Literatür ile de desteklenerek bileşik kemferol-O-hekzosit olarak tanımlanmıştır (Görsel 4.73).

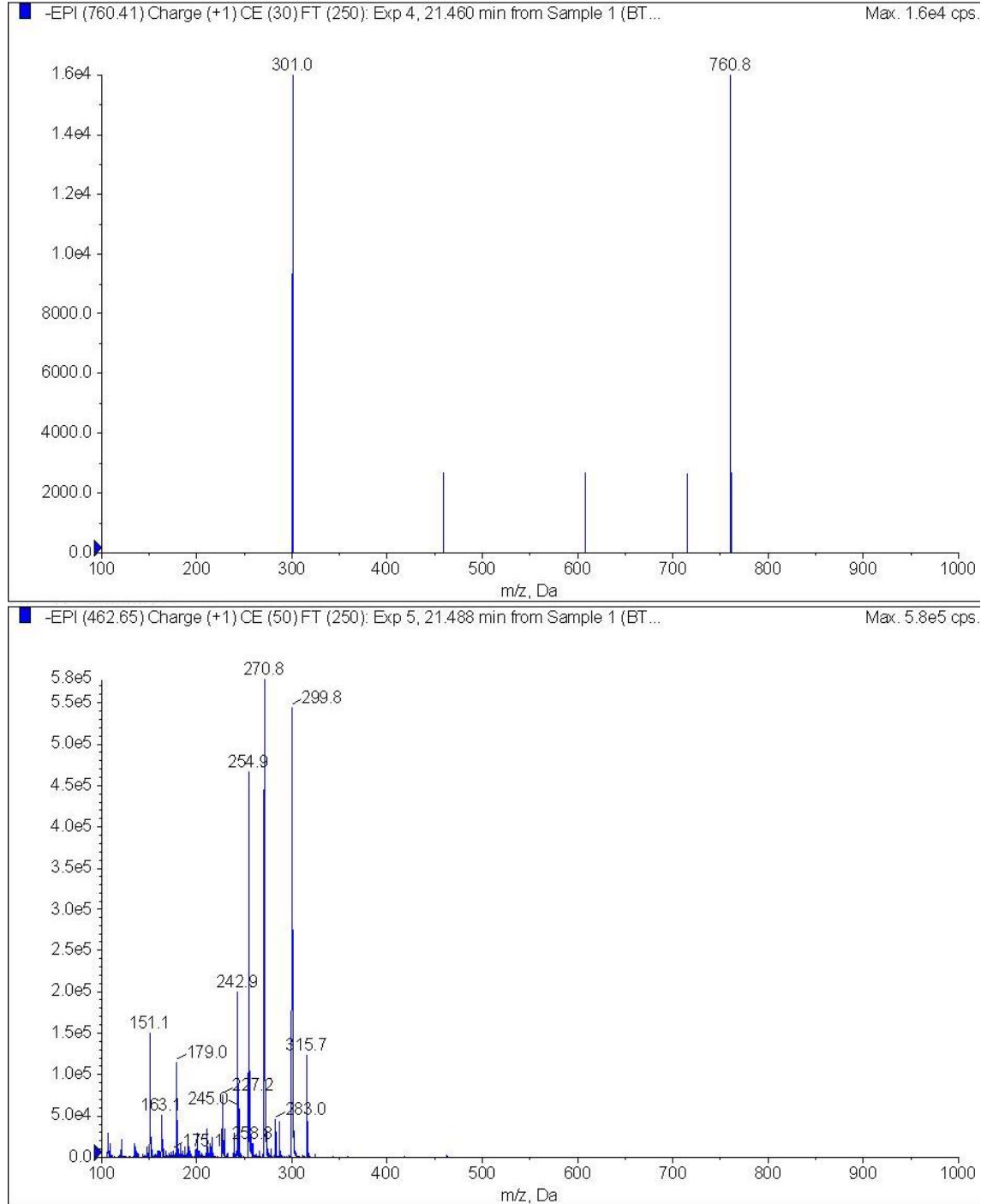
48 numaralı madde Moleküler iyon piki m/z 767 $[M-H]^-$ olarak gözlemlenen maddeden m/z 615 $[M-H-152]^-$, m/z 463 $[M-H-152-152]^-$ ve m/z 317 $[M-H-152-152-146]^-$ fragmentleri oluşmuştur. 152 Da ile oluşan kütle farkları galloil, 146 Da kütlelerinin ise ramnoz şekeri kopmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca m/z 615 $[M-H]^-$ kütlesi daha önce mirsetin-O-galloil ramnozid olarak tanımlanırken bu maddeye bir adet galloil biriminin daha bağlandığı anlaşılmış ve bu bilgiler doğrultusunda mirsetin-O-(digalloil) ramnozid olarak tanımlanmıştır (Görsel 4.74).

49 numaralı madde m/z 767 $[M-H]^-$ moleküler iyon pikine sahip maddenin fragmentasyonu esnasında m/z 767 $\rightarrow$ m/z 615 $[M-H-152]^-$ kopması bir galloil ünitesi, m/z 615 $\rightarrow$ m/z 449 $[M-H-152-166]^-$ oluşumu metilgalloil yapısı ve m/z 449 $\rightarrow$ m/z 317 $[M-H-152-166-132]^-$ kaybı yapıdaki pentoz şekeri ile ilişkilendirilmiştir. m/z 169 ve m/z 125 kütleleri gallik asit, m/z 317 ve bununla ilişkili 179 (RDA, $A^{1,2-}$) ve m/z 151 (RDA, $A^{1,3-}$) fragmentleri ise mirsetin yapısı ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca m/z 615 kütlelerinin

[M-H-152] önce galloil (-152 Da) kaybı ile m/z 463 ve ardından metilgalloil kaybı ile (-166 Da) m/z 297 kütlesi oluşturduğu da gözlemlenmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda mirsetin-*O*-(galloil)-*O*-pentozit yapısına bir *O*-metilgalloil biriminin bağlanmış olabileceği düşünülmüştür (Görsel 4.75).

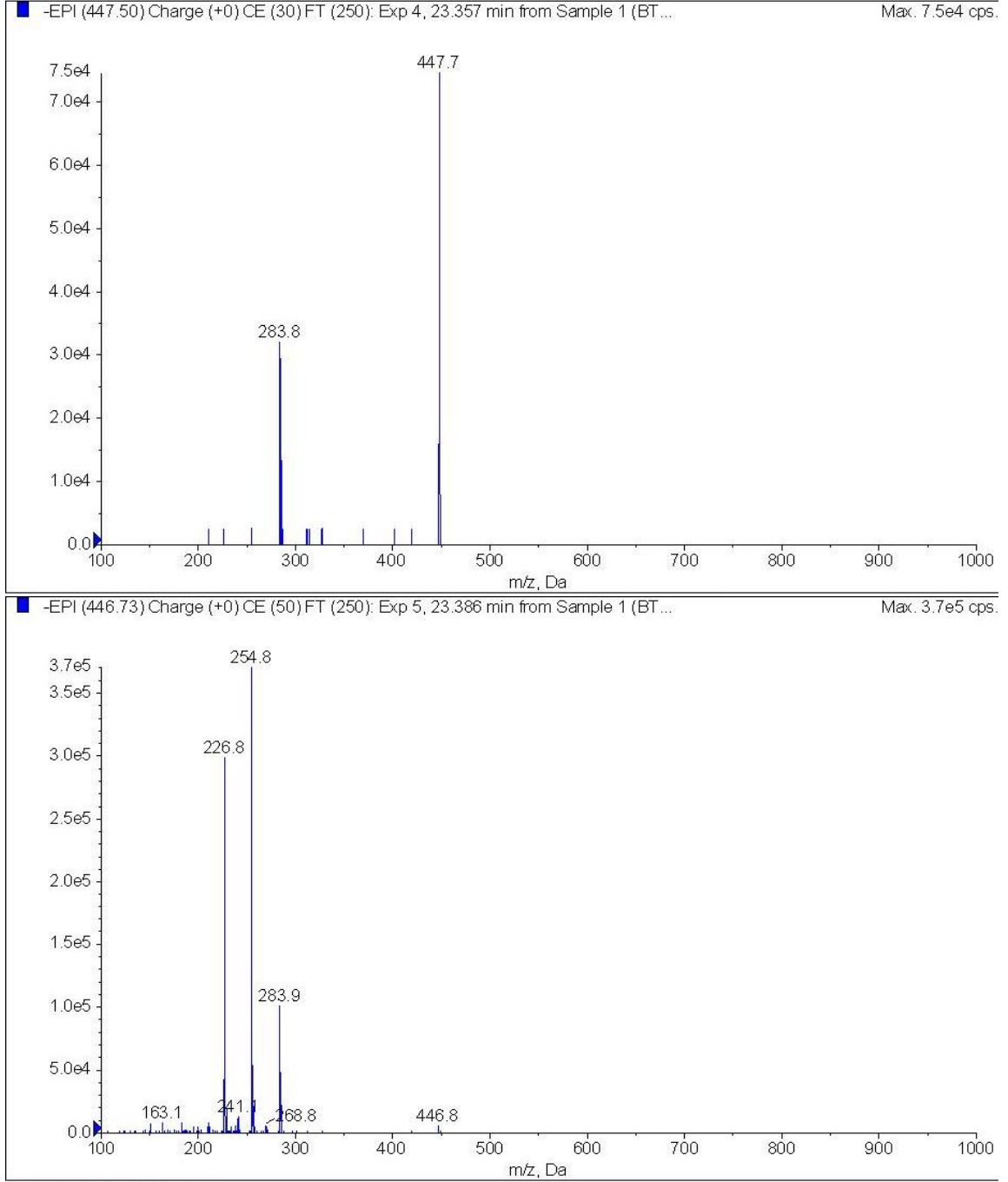
Görsel 4.72

43 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



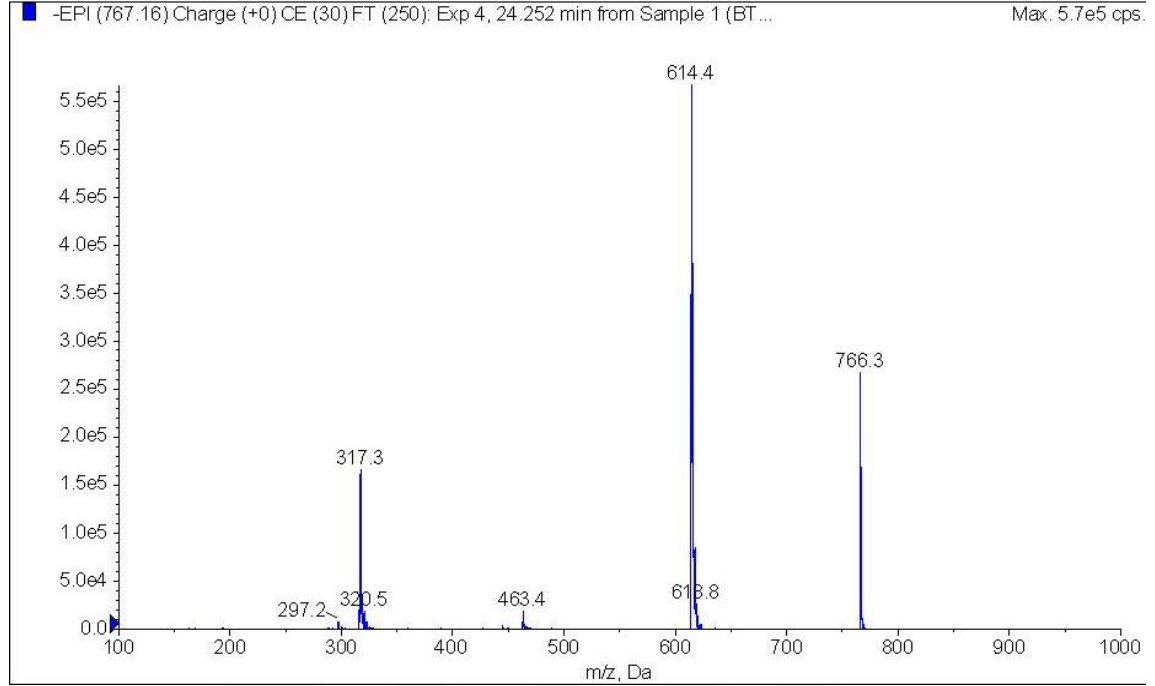
Görsel 4.73

45 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



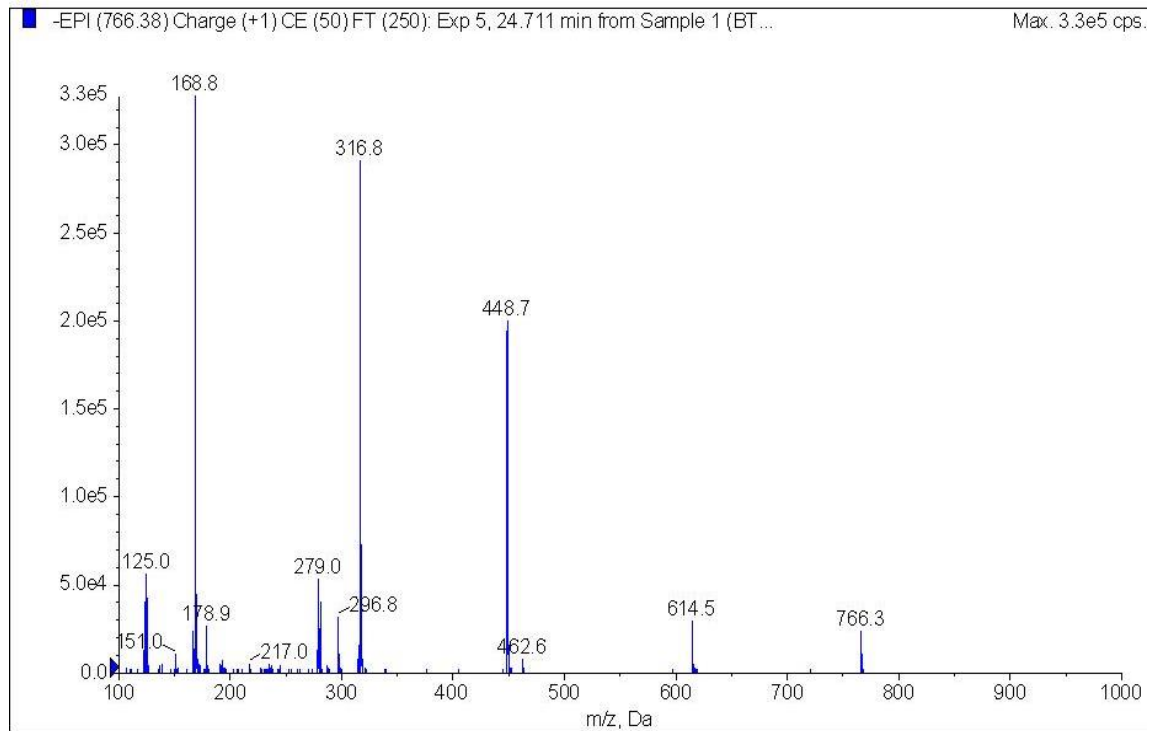
Görsel 4.74

48 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



Görsel 4.75

49 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri

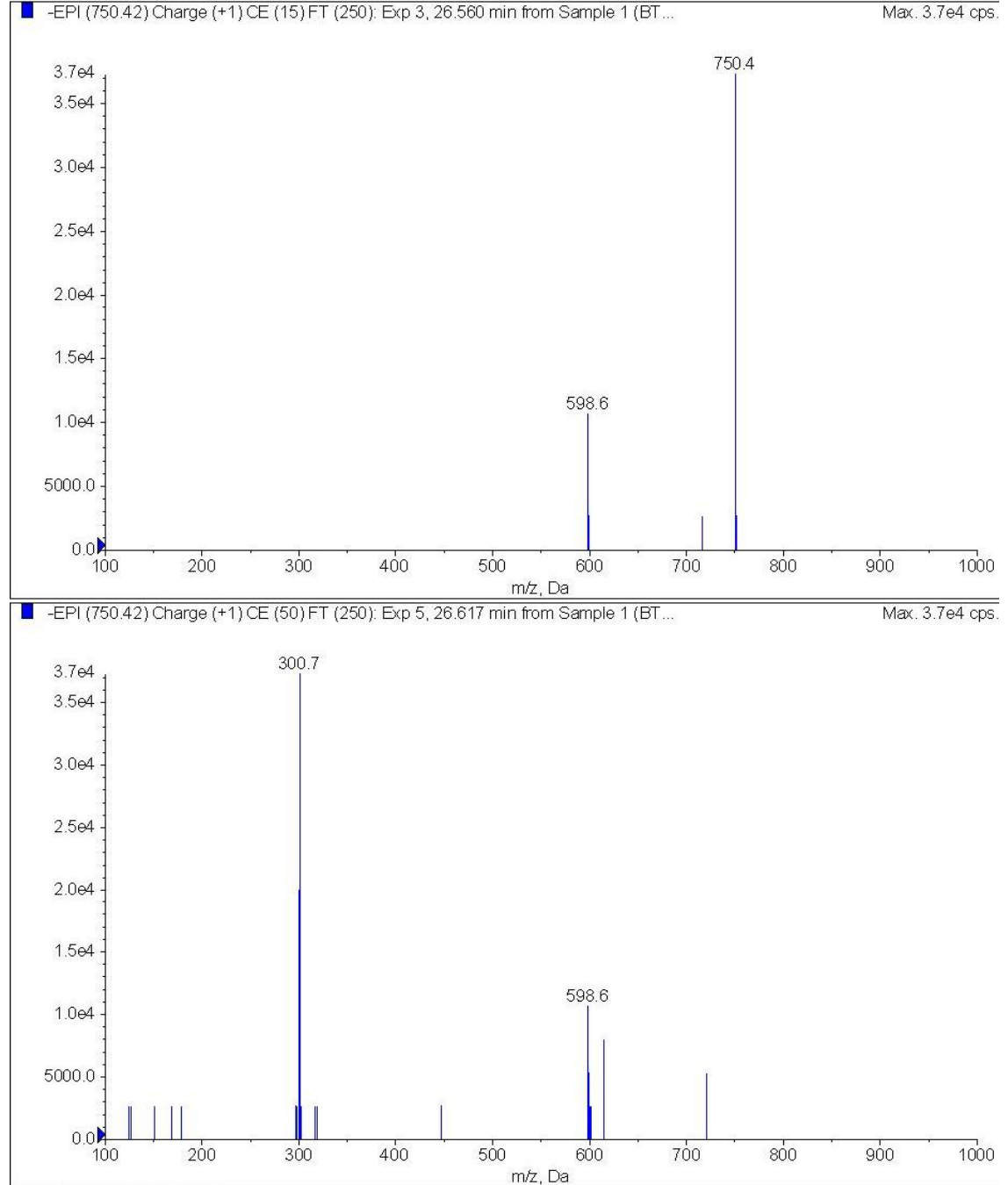


52 numaralı madde Moleküler iyon piki m/z 751 $[M-H]^-$ olarak gözlemlenen maddeden m/z 599 $[M-H-152]^-$ ve m/z 301 $[M-H-152-152-146]^-$ fragmentleri oluşmuştur. Daha önce kersetin ramnoziti ile gallik asit esterleşmesi sonucu oluşan m/z 599 kütleline +152 Da

ile bir galloil yapısının daha bağlanmış olabileceği üzerinde durulmuştur. Düşük miktar sebebiyle kersetin olabileceği düşünülen aglikonun parçalanmaları gözlemlenememiştir. Ancak bileşiğin kersetin-*O*-digalloil ramnozit'i olabileceği düşünülmüştür (Görsel 4.76).

Görsel 4.76

52 numaralı maddeye ait kütle spektrumu ve parçalanma ürünleri



4.2.2 Fraksiyonların *in vitro* enzim inhibisyonlarına ait bulgular

Poliamit dolgulu kolon kromatografisi ile elde edilen 8 adet fraksiyonda etkiden sorumlu bileşiklerin belirlenebilmesi amacıyla tirozinaz ve elastaz deneyleri *in vitro* ortamda tekrarlanmıştır. Fraksiyonlar, ana ekstre (*P. terebinthus* metanol ekstresi) ve pozitif kontroller ile karşılaştırılmıştır.

4.2.2.1 Elastaz inhibisyonuna ait bulgular

Etkili bulunan fraksiyonların IC₅₀ değerleri Tablo 4.8’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bazı fraksiyonlar belirli düzeyde inhibisyon gösterse de bu etkiler metanol ekstresinin yanında zayıf kalmıştır. Fraksiyonlar arasında B kodlu fraksiyon en etkili elastaz inhibitörü olarak belirlenmiş, bu etkiyi sırasıyla H, G, E ve F kodlu fraksiyonlar takip etmiştir. A, C ve D kodlu fraksiyonlarda ise etki, en yüksek konsantrasyon olan 1 mg/mL’de dahi oldukça zayıf olduğu için IC₅₀ hesaplaması gerçekleştirilememiştir.

Tablo 4.8

P. terebinthus fraksiyonlarının elastaz inhibisyonu

Fraksiyonlar	IC ₅₀ (µg/mL)
A	-
B	150.55 ± 3.04
C	-
D	-
E	509.09 ± 0.99
F	726.83 ± 27.37
G	486.37 ± 8.89
H	335.99 ± 3.36
Ana Ekstre	38.25 ± 3.22

4.2.2.2 Tirozinaz inhibisyonuna ait bulgular

Tirozinaz inhibisyonunun belirlenmesinde *P. terebinthus* metanol ekstresi ve kojik asit fraksiyonlar ile paralel şekilde tekrar çalışılmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.10’da gösterilmiştir. En etkili fraksiyonlar F, G ve H şeklinde değerlendirilirken IC₅₀ değerleri sırasıyla 137.82 ± 6.73 µg/mL, 102.85 ± 5.62 µg/mL ve 224.23 ± 5.81 µg/mL olarak

bulunmuştur. A kodlu fraksiyonda en yüksek konsantrasyon seviyesinde dahi (1000 µg/mL) bir etki gözlemlenmemiştir. B, C, D ve E kodlu fraksiyonlar ise 500 µg/mL konsantrasyonda %54-66 arasında değişen inhibisyon oranları gösterse de konsantrasyonun düşmesi ile bu etki oldukça azalmış ve IC₅₀ hesaplaması gerçekleştirilmemiştir. Tirozinaz inhibitörü olarak değerlendirilen fraksiyonlar olan F, G, H kodlu fraksiyonlar ise hem kojik asit hem de ana ekstreden daha düşük aktivite göstermiştir.

Tablo 4.9

P. terebinthus fraksiyonlarının tirozinaz inhibisyonu

Fraksiyon	IC ₅₀ (µg/mL)
A	-
B	>250
C	>500
D	>500
E	>250
F	137.82 ± 6.73
G	102.85 ± 5.62
H	224.23 ± 5.81
Ana Ekstre	8.69 ± 0.59
Kojik asit	12.02 ± 0.41

4.2.2.3 Etkili fraksiyonlarda gerçekleştirilen kombinasyon çalışmalarına ait bulgular

Ana ekstrenin en yüksek elastaz inhibisyonuna sahip olması ve fraksiyonlarda bu etkinin zayıflaması nedeniyle fraksiyonlar arasında sinerjik etkinin varlığının araştırılması yoluna gidilmiştir. IC₅₀ değeri hesaplanan fraksiyonlar 1:1 oranda karıştırılacak şekilde her kuyucukta 2 x IC₅₀, IC₅₀, IC₅₀/2, IC₅₀/4 ve IC₅₀/8 konsantrasyonları ayarlanarak sinerji çalışmaları için bu 5 farklı konsantrasyon noktasında gerçekleştirilmiştir. Compusyn programı yardımı ile Chou-Talalay KI'leri hesaplanıp DRİ değerleri ile birlikte sonuçlar Tablo 4.9'da verilmiştir.

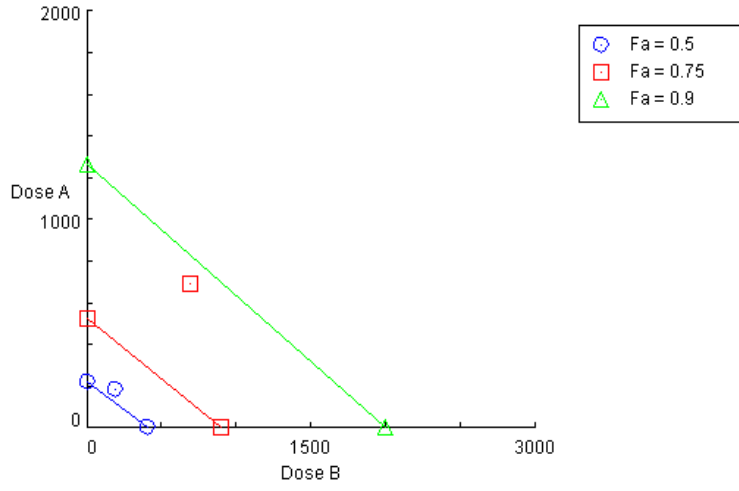
Tablo 4.10*P. terebinthus* fraksiyonlarının elastaz üzerindeki sinerjik aktivite sonuçları

Kombinasyon (1:1)	Kİ IC₅₀	Kİ IC₇₅	Kİ IC₉₀	DRİ IC₅₀	DRİ IC₇₅	DRİ IC₉₀
B + E	1.45	1.68	1.99	0.97/2.38	0.92/1.68	0.87/1.19
B + F	1.70	1.36	1.11	0.81/2.11	1.10/2.20	1.49/2.29
B + G	1.25	1.21	1.17	1.09/2.99	1.18/2.76	1.28/2.55
B + H	0.66	1.32	3.28	1.17/2.15	0.76/1.30	0.50/0.79
E + F	1.00	0.96	0.91	1.94/2.04	2.01/2.18	2.07/2.33
E + G	0.82	1.06	1.39	2.32/2.58	1.68/2.14	2.10/2.32
E + H	0.78	0.66	0.56	2.99/2.23	3.15/2.93	3.3/3.9
F + G	1.32	1.16	1.02	1.47/1.55	1.60/1.87	1.73/2.25
F + H	2.08	1.57	1.20	1.16/0.82	1.38/1.18	1.64/1.68
G + H	1.46	1.27	1.11	1.70/1.14	1.86/1.36	2.04/1.61

E + H kombinasyonu artan konsantrasyonlara karşılık düzenli azalan bir Kİ göstermiş ve tutarlı sinerjik aktiviteyi doğrulamıştır. E + F kombinasyonu 0.91-1.00 Kİ değerleri ile konsantrasyon yükseldikçe additiften zayıf sinerjiye geçiş göstermiştir. E + G IC₅₀ noktasında 0.82 Kİ değeri ile sinerjik etkiyi doğrulamış ancak konsantrasyon yükseldikçe sinerjik aktivite kaybolmuş ve additif etkiden zayıf antagonizmaya geçiş olmuştur. B + H kombinasyonu IC₅₀ noktasında 0.66 Kİ değeri ile sinerjik aktivite göstermişken konsantrasyon yükseldikçe additiften antagonizmaya geçiş gözlemlenmiştir. B + F kombinasyonunda ise IC₅₀ noktasında antagonistik etki varken konsantrasyon arttıkça bu etki additiflik sınırına gelmiştir. Geriye kalan F + G, G + H, B + E, B + G ve F + H kombinasyonlarının Kİ eğrileri 0.90-3.5 aralığında antagonistik veya additif etki göstermiştir. Sinerjik etki gözlemlenen kombinasyonlara ait izobologram grafikleri Şekil 4.8- Şekil 4.11’de verilmiştir.

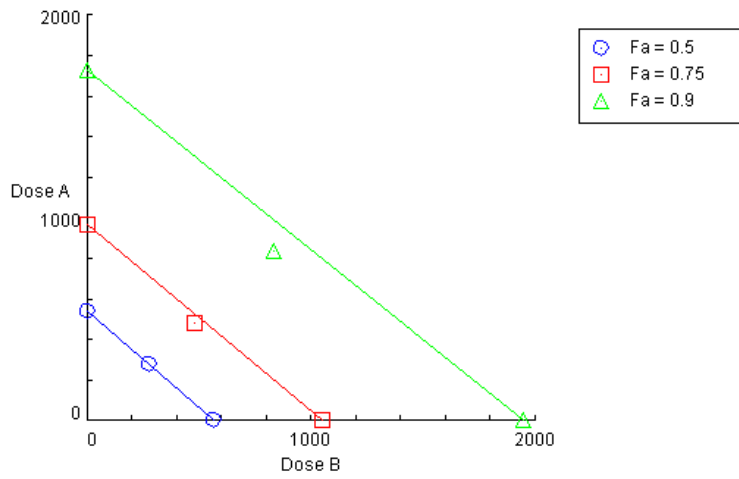
Şekil 4.8

B + H kombinasyonuna ait izobologram grafiği



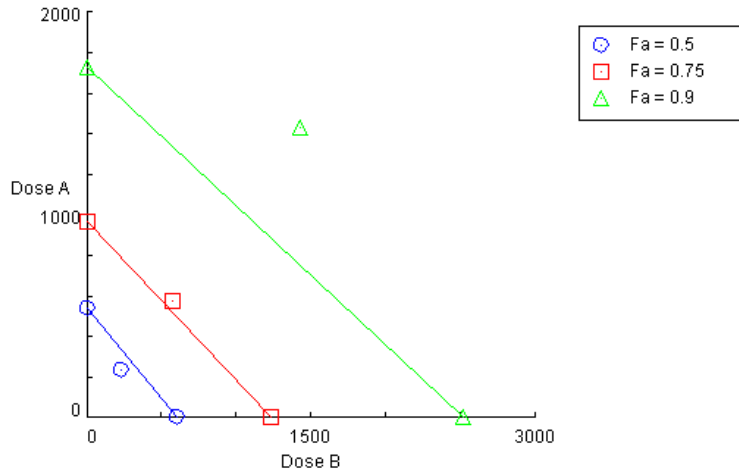
Şekil 4.9

E + F kombinasyonuna ait izobologram grafiği



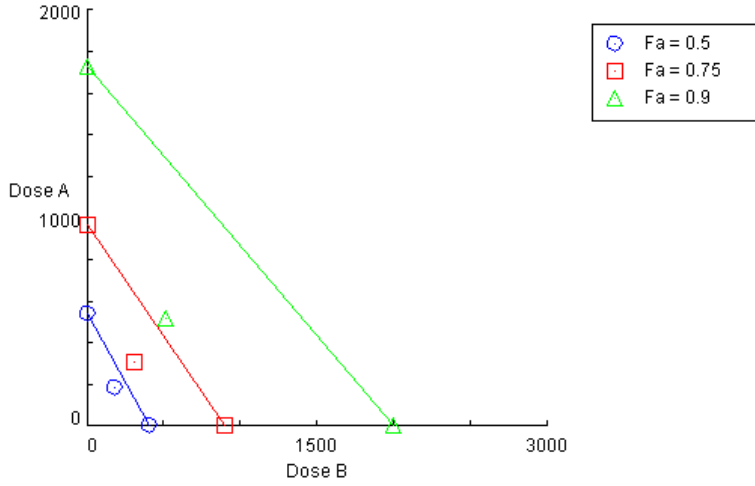
Şekil 4.10

E + G kombinasyonuna ait izobologram grafiği



Şekil 4.11

E + H kombinasyonuna ait izobologram grafiği



Tirozinaz enzimi üzerine yapılan sinerji çalışmalarında F, G ve H kodlu fraksiyonlar birbirleriyle 1:1 oran ve 5 farklı konsantrasyon noktasında ($2 \times IC_{50}$, IC_{50} , $IC_{50}/2$, $IC_{50}/4$ ve $IC_{50}/8$) kombine edilmiştir. IC_{50} , IC_{75} ve IC_{90} değerlerindeki Kİ ve DRİ Tablo 4.11’de verilmiştir. F + H kombinasyonu için IC_{50} , IC_{75} ve IC_{90} konsantrasyonlarında Kİ 0.34, 0.28 ve 0.23 olarak hesaplanırken her düzeyde kuvvetli sinerji gözlemlenmiştir. Test edilen 5 konsantrasyon noktasında Kİ 0.25-0.62 arasında değişirken $Fa = 0.99$ noktasında dahi Kİ = 0.07 olarak bulunmuştur. Buna ek olarak DRİ, F için 18.5 kat, H için ise 79.7 kat artmış olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.11

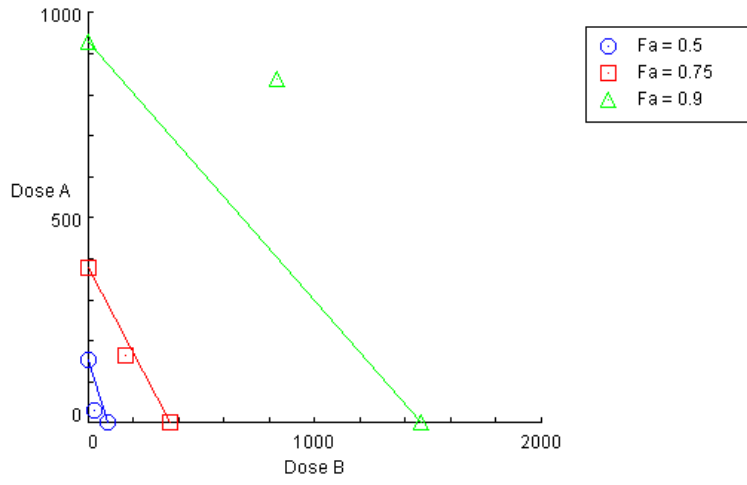
P. terebinthus fraksiyonlarının tirozinaz üzerindeki sinerjik aktivite sonuçları

Kombinasyon (1:1)	Kİ IC_{50}	Kİ IC_{75}	Kİ IC_{90}	DRİ IC_{50}	DRİ IC_{75}	DRİ IC_{90}
F + H	0.34	0.28	0.23	4.42/8.82	5.13/12.3	5.97/17.2
F + G	0.58	0.90	1.47	5.59/3.43	2.28/2.19	1.9/2.1
G + H	0.79	0.48	0.30	1.62/5.59	2.89/7.24	5.15/9.39

IC_{50} konsantrasyon noktasında G + H ve F + G kombinasyonları için Kİ sırasıyla 0.79 (zayıf) ve 0.58 (orta) olarak hesaplanmış ve sinerjik aktivitenin varlığı saptanmıştır. G + H kombinasyonunda konsantrasyon arttıkça $\geq IC_{75}$ ’te 0.48-0.30 Kİ ile orta-kuvvetli sinerjik etki görülmüştür. F + G kombinasyonunda ise konsantrasyon arttıkça $\geq IC_{75}$ ’te Kİ 0.90-1.47 arası değerlere ulaşarak additiften zayıf antagonistik etkiye ulaşmıştır. Kombinasyonlara ait izobologram grafikleri ise Şekil 4.11-4.13.’de verilmiştir.

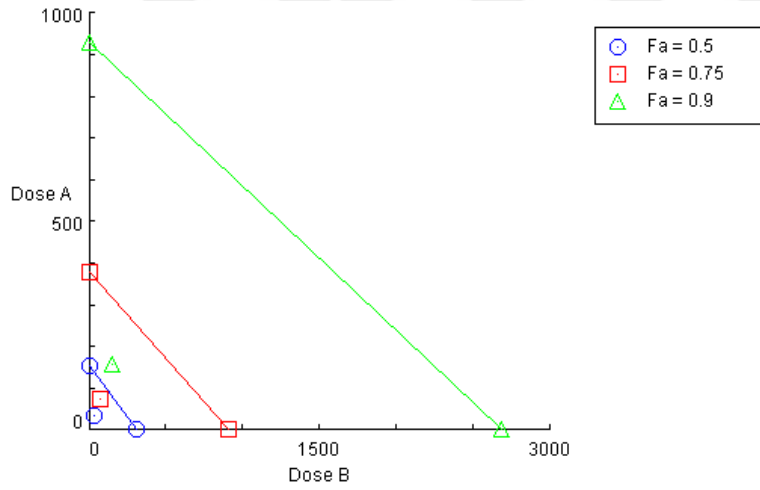
Şekil 4.12

F + G kombinasyonuna ait izobologram grafiği



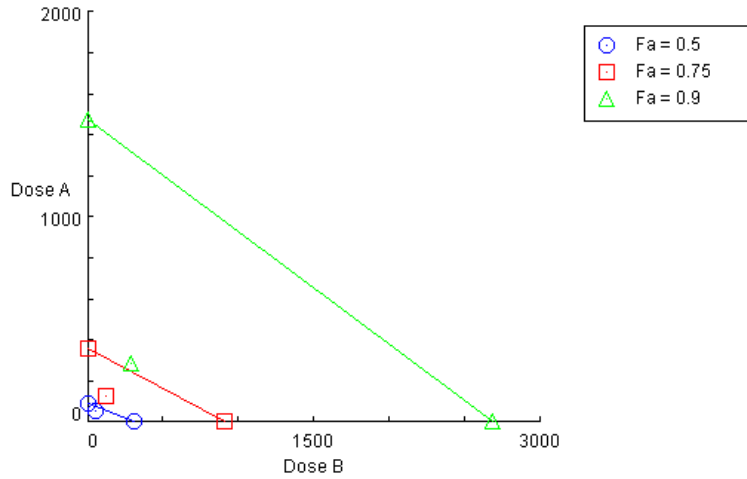
Şekil 4.13

F + H kombinasyonuna ait izobologram grafiği



Şekil 4.14

G + H kombinasyonuna ait izobologram grafiği



Fraksiyonlarla ilgili bulgular değerlendirildiğinde; tirozinaz üzerine en kuvvetli etki gösteren fraksiyonların F, G ve H olduğu sonucuna varılmış ve aralarındaki sinerjik aktivite ortaya konmuştur. Bu doğrultuda etkiden sorumlu bileşiklerin belirlenmesi amacıyla YPİTK-EYA çalışmalarının tirozinaz inhibisyonu kapsamında sürdürülmesine karar verilmiştir.

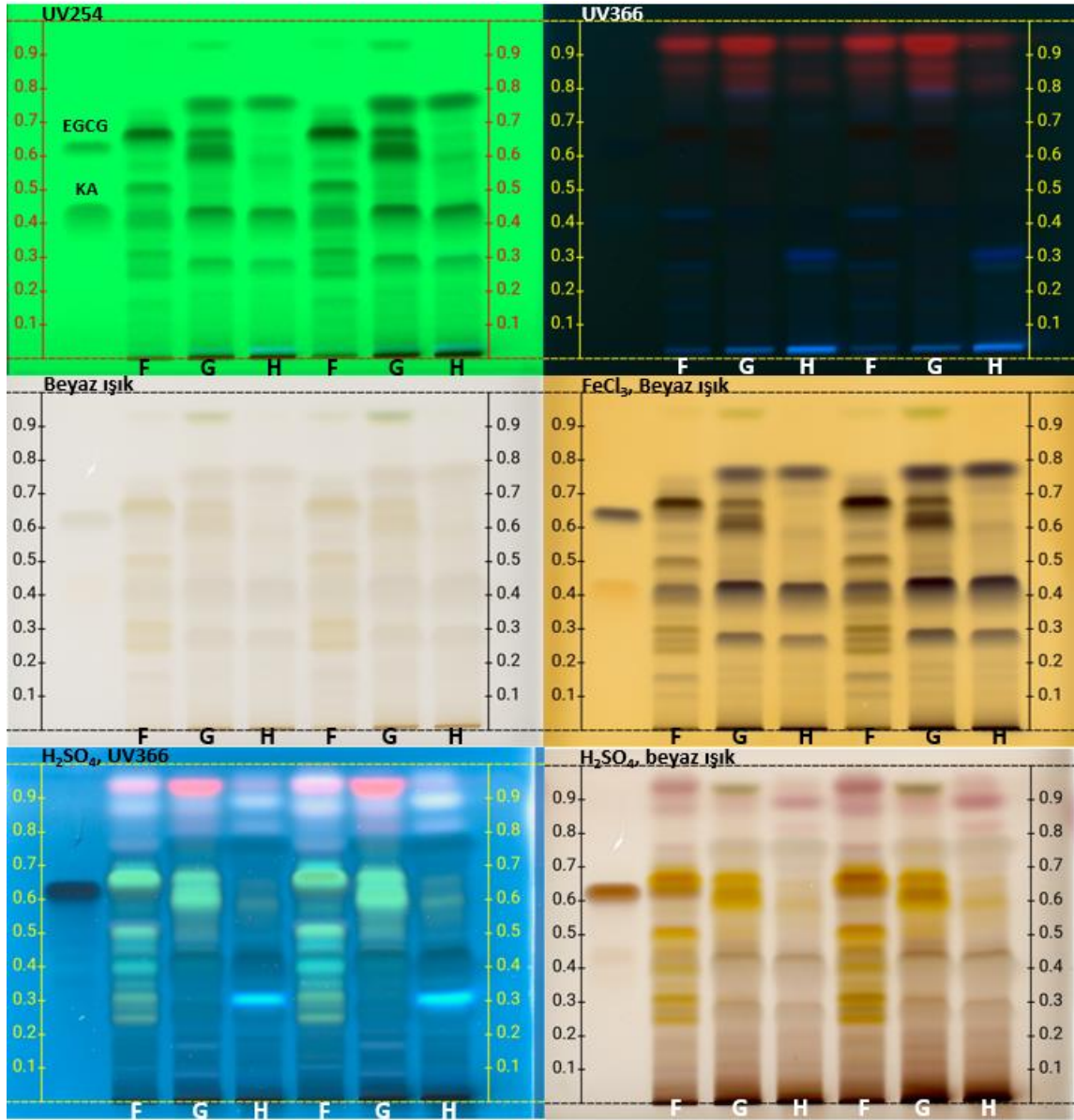
4.3 YPİTK-EYA Yöntemi İle Etkiden Sorumlu Bileşiklerin İzolasyonu ve Yapı Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.1 YPİTK-EYA sonuçlarına ait bulgular

En yüksek tirozinaz inhibisyonu gösteren F, G ve H kodlu fraksiyonlarda etkiden doğrudan sorumlu bileşikleri hızlı bir şekilde tespit edebilmek amacıyla YPİTK-EYA analiz çalışmaları yapılmıştır. İlk olarak, fraksiyonlarda tirozinaz enzim inhibisyonundan sorumlu bileşiklerin preparatif-YPİTK ile izole edilebilmesi adına daha yüksek hR_F değerindeki bileşiklerin kromatografik ayrımlarını iyileştirmek için hareketli faz sisteminin polaritesi azaltılmıştır. Etil asetat: asetik asit: formik asit: su (100:11:11:26, $h:h:h:h$) karışımından oluşan solvan sistemi yerine toluen: etil asetat: formik asit: su (5:100:10:10, $h:h:h:h$) karışımı hareketli faz olarak kullanılmıştır. F, G ve H fraksiyonları iki farklı konsantrasyonda (50 μ g ve 100 μ g) plak üzerine uygulanmıştır. Kojik asit ve epigallokateşin gallat ise kontrol olarak seçilmiştir. EYA öncesi YPİTK kromatogramlarının 254 nm, 366 nm, beyaz ışık ve türevlendirme sonrası ($FeCl_3$ ve H_2SO_4) görüntüleri Görsel 4.77’de verilmiştir. YPİTK-EYA çalışması için aynı şartlarda kromatografik ayrımı gerçekleştirilen plak üzerinde enzim reaksiyonu biyootografik olarak gerçekleştirilmiş ve üç fraksiyonda farklı hR_F zonlarında tirozinaz inhibitör özelliği gösteren bantlar gözlemlenmiştir (Görsel 4.78).

Görsel 4.77

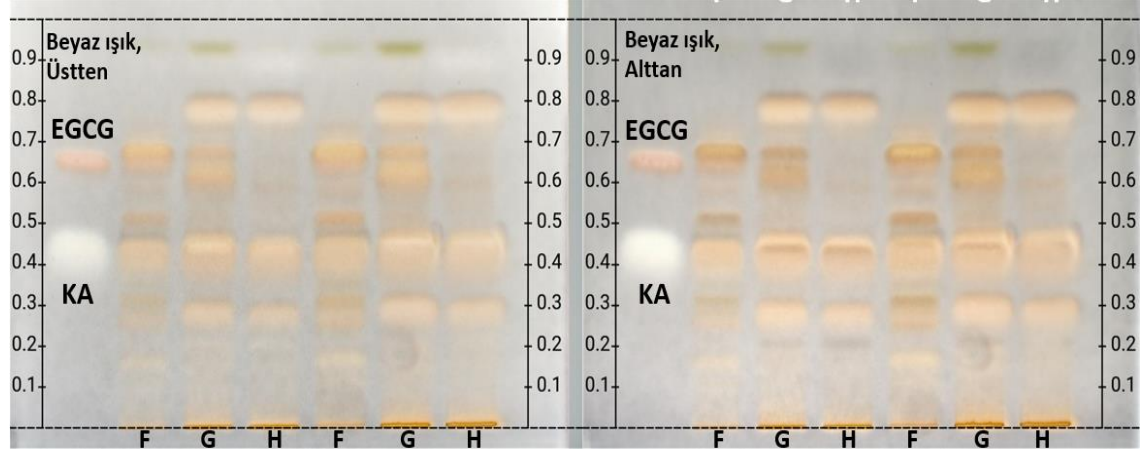
F, G ve H fraksiyonlarına ait YPİTK görüntüleri (UV254, UV366, beyaz ışık, H₂SO₄ ve FeCl₃ türevlendirmesi)



Not:EGCG, epigallocateşin gallat; KA, kojik asit, soldan sağa F, G, H miktarları 50 µg ve 100 µg.*

Görsel 4.78

F, G ve H fraksiyonlarına ait YPİTK – EYA görüntüleri



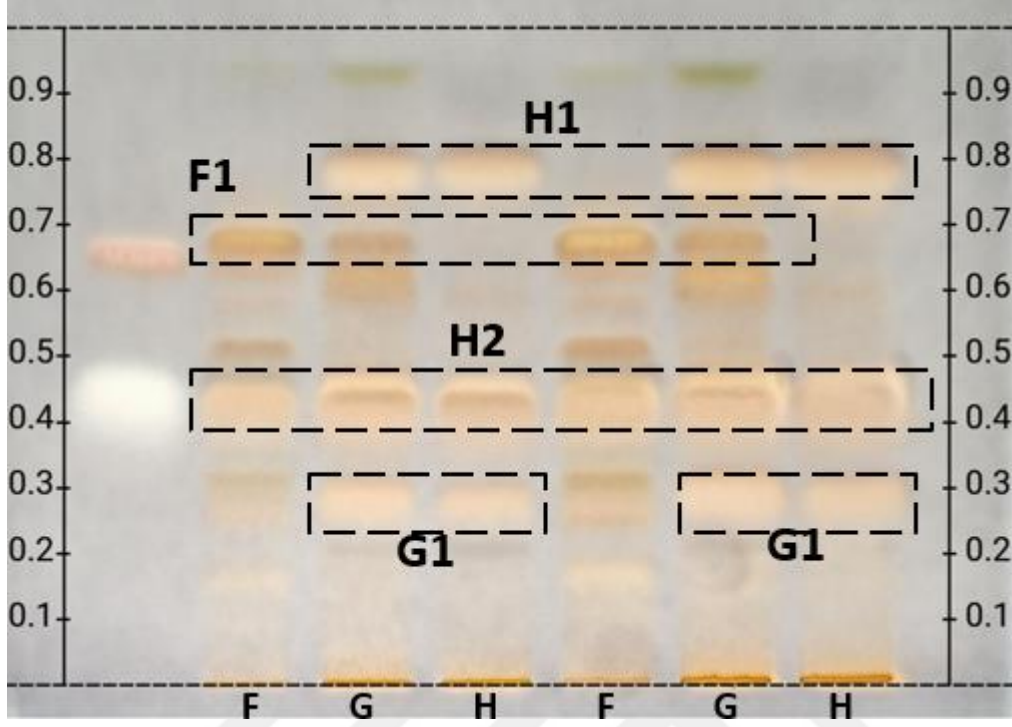
Not*:EGCG, epigallocateşin gallat; KA, kojik asit, soldan sağa F, G, H miktarları 50 µg ve 100 µg.

4.3.2 Preparatif İTK ile bileşiklerin izolasyonu

YPİTK-EYA ile toplamda 4 adet bant belirgin tirozinaz inhibisyonu göstermiş ve bu zonlar sırasıyla F1, G1, H1 ve H2 olarak isimlendirilmiştir (Görsel 4.79). Preparatif İTK yöntemi ile ilgili fraksiyonlar 20 x 10 cm ebatlarında alüminyum Si60 F₂₅₄ plaklara 50 mm’lik bantlar halinde uygulanarak toluen:etil asetat:formik asit:su (5:100:10:10; h:h:h:h) hareketli fazı ile developpe edilmiştir. YPİTK-EYA değerlendirmelerinde belirlenen tirozinaz inhibitörü bantlar plaktan kazınarak izole edilmiş ve metanolde çözülmüştür. Preparatif çalışma sonucunda etkiden sorumlu bileşik + silikajel + metanol karışımı bir gün boyunca bekletilerek üstte kalan berrak kısım alınmış ve 10 dk 5000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Daha sonra 0.45 µm PTFE filtreden süzölmüş ve azot gazı altında metanolden uzaklaştırılmıştır. Elde edilen maddelerin saflığını kontrol etmek ve kütle spektrumları ile yapı tayinlerinin gerçekleştirilmesi amacı ile YPSK-KS/KS analizleri gerçekleştirilmiştir.

Görsel 4.79

Tirozinaz inhibitörü bantların isimlendirilmesi



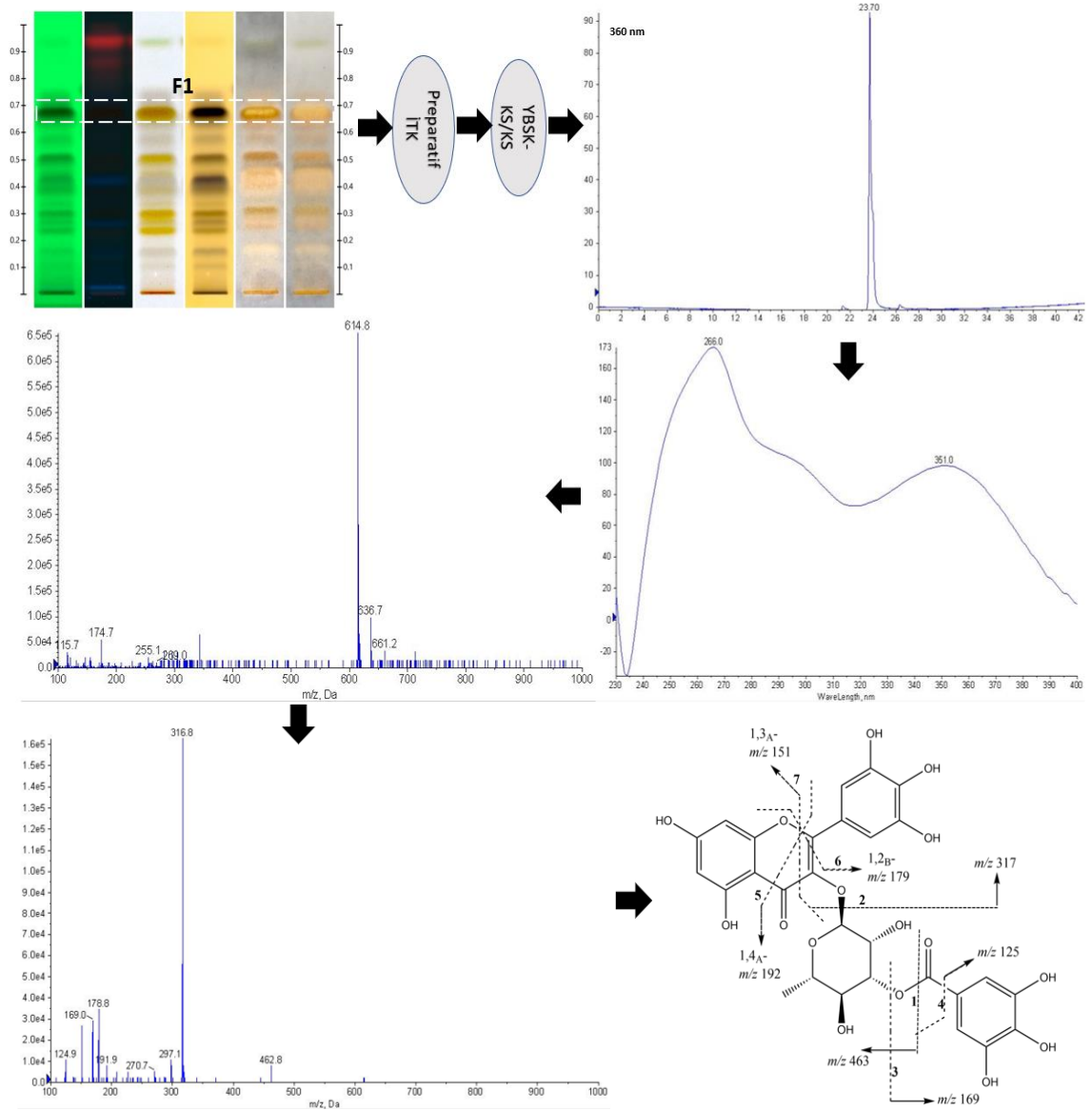
4.3.3 Etkili bileşiklere ait spektrometrik analizler

4.3.3.1 F1 kodlu maddeye ait yapı tayini bulguları

hR_F 68 noktasında F ve G fraksiyonlarında bulunan madde F fraksiyonunda daha yoğun görülmekle birlikte miktara bağlı olduğu düşünülen bir inhibisyon göstermiştir. Preparatif olarak elde edildikten sonra YPSK-KS/KS analizleri ile birlikte DAD kromatogramında bileşiğin saflığı kontrol edilmiştir. DAD spektrumunda 266 ve 351 nm’de maksimum UV absorpsiyonu göstermiştir. m/z 615 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki vermiş ve galloil kopması ile m/z 463 $[M-H-152]^-$, ardından ramnoz kopması ile m/z 317 $[M-H-152-146]^-$ fragmenti gözlemlenmiştir. m/z 297 $[M-H-152-146-20]^-$, m/z 271 $[M-H-152-146-20-26]^-$ fragmentleri ile RDA kırılmaları ile oluşan karakteristik m/z 192, m/z 179 ve m/z 151 kütleleri aglikon yapının mirsetin olduğunu kuvvetlendirmiştir. m/z 169 ve m/z 125 kütlelerinin görülmesi ise gallik asit varlığını doğrulamıştır. (Şekil 4.15).

Şekil 4.15

F1 kodlu maddenin YPSK-KS/KS analizine ait bulgular



F1 kodlu bileşiğe ait ^1H NMR, ^{13}C NMR değerleri ve HMBC korelasyonları Tablo 4.12’de verilmiştir. ^1H NMR spektrumu incelendiğinde δ_{H} 6.03 ve δ_{H} 6.22 sinyalleri aglikon yapının 5,7-disüstitüe A halkasını ile ilişkilendirilmiştir. HSQC spektrumunda ise bu protonların sırasıyla δ_{C} 99.86 (C-6) ve δ_{C} 99.24 (C-8) ppm’de olduğu anlaşılmıştır. δ_{H} 6.63 ppm singlet sinyali ise B halkasının trisüstitüe olduğunu düşündürmüştür. HSQC spektrumunda ise bu protonun δ_{C} 123.48 ve 126.97 δ_{C} ppm olmak üzere iki farklı karbon üzerinde olduğu anlaşılmış ve bu karbonlar da B halkasındaki 2’ ve 6’ konumları ile ilişkilendirilmiştir. Bu bilgiler ışığında aglikon yapının mirsetin olduğu anlaşılmıştır. Yapıda bulunan şekere ait anomerik oz sinyali δ_{H} 4.97 olarak saptanırken bu sinyalin HMBC spektrumunda C-3’e ait δ_{C} 133.19 ile uzak bağ etkileşimi göstermesi şekerin

aglikon yapıya C-3 konumundan bağlandığını düşündürmüştür. HSQC ile anomerik oz protonuna benzer bölgede δ_H 4.96 sinyali veren ve δ_C 74.39 karbonu üzerinde bulunan protonun da oz'a ait olduğu COSY spektrumu ile anlaşılmıştır. COSY spektrumunda anomerik karbondan yola çıkılarak C-2''ye ait proton sinyali δ_H 4.25 ve C-3''e ait proton sinyali de δ_H 4.96 ppm olarak belirlenmiştir. Ayrıca oz'a ait δ_H 0.85 ppm sinyali metil grubuna işaret etmiş ve ramnozit yapısını doğrulamıştır. COSY spektrumu ile ramnoza ait diğer H-4 ve H-5 proton sinyalleri ise sırasıyla δ_H 3.48 ve δ_H 3.69 ppm olarak bulunmuştur. δ_H 6.81 ve δ_H 6.96 ppm'de gözlemlenen singlet sinyalleri ve HMBC ile bulunan δ_C 166.73 ppm uzak mesafe etkileşimleri karbonil grubunu ve trisüstitüe aromatik halkayı göstermiştir. Ramnozda C-3'e ait δ_H 4.96 sinyalinin diğer protonlara göre daha aşağı alanda gözlemlenmesi sebebiyle trisüstitüe aromatik halkanın şekere C-3'' konumundan bağlandığını düşündürmüştür. Tüm bu veriler ışığında ve literatür bilgileri ile de kıyaslanarak F1 kodlu bileşik mirsetin 3-O-(3''-O-galloil)-ramnozit olarak tanımlanmıştır (Nguyen vd., 2017).

Bileşiğe ait ^1H NMR, ^{13}C NMR, COSY, HSQC ve HMBC spekturumları ile uzak bağ etkileşimleri Şekil 4.16 ile Şekil 4.21 aralığında verilmiştir.

Tablo 4.12

F1 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri ve önemli HMBC etkileşimleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6)

	C/H	δ_H , ppm	δ_C , ppm	HMBC (H→C)
2	C		156.21	
3	C		133.19	
4	C		177.8#	
5	C		161.85	
6	CH	6.03	99.86	5, 8, 10
7	C		167.93	
8	CH	6.22	94.24	6, 9
9	C		157.14	
10	C		103.63	

Tablo 4.12

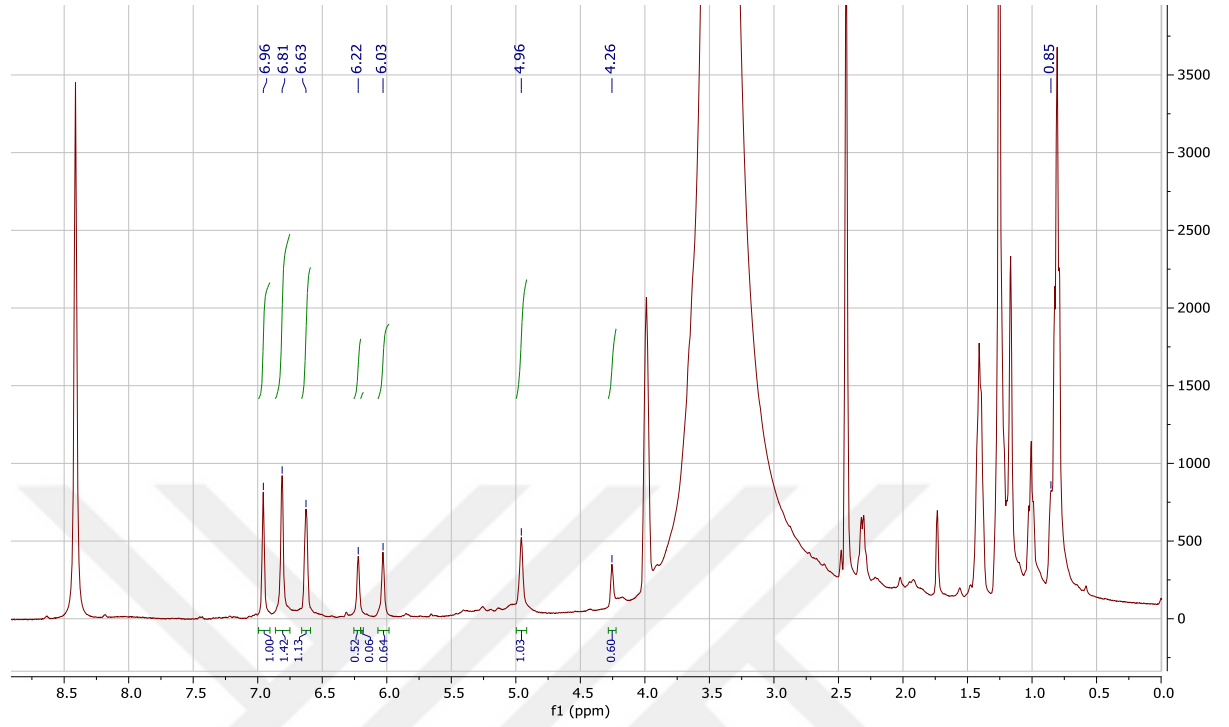
(Devam) F1 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri ve önemli HMBC etkileşimleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6)

1'	C		119.17	
2'	CH	6.63	126.97	2, 6'
3'	C		145.8#	
4'	C		136.27	
5'	C		145.8#	
6'	CH	6.63	123.48	2, 2'
Ramnoz				
1"	CH	4.97	103.13	2"
2"	CH	4.25	68.26	3"
3"	CH	4.96	74.39	4"
4"	CH	3.48	70.12	5"
5"	CH	3.69	71.29	
6"	CH ₃	0.85	16.75	5"
Galloil				
7'''	COO-		166.73	
1'''	C		146.67	
2'''	CH	6.81	108.74	1'', 3'', 4''
3'''	C		138.80	
4'''	C		159.15	
5'''	C		139.78	
6'''	CH	6.96	110.83	1'', 4'', 5'', 7''

Not*: #:sinyal girişimi veya düşük miktar sebebiyle saptanamamıştır.

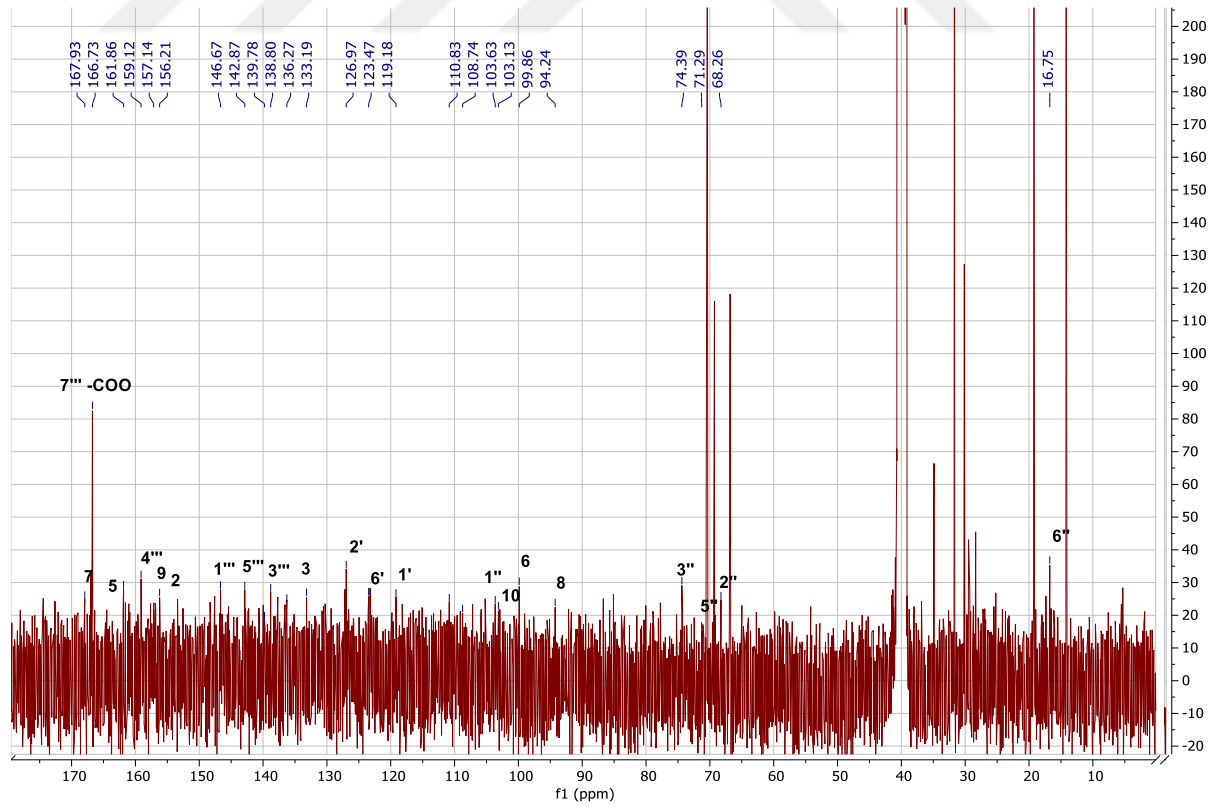
Şekil 4.16

F1 kodlu maddeye ait ^1H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)



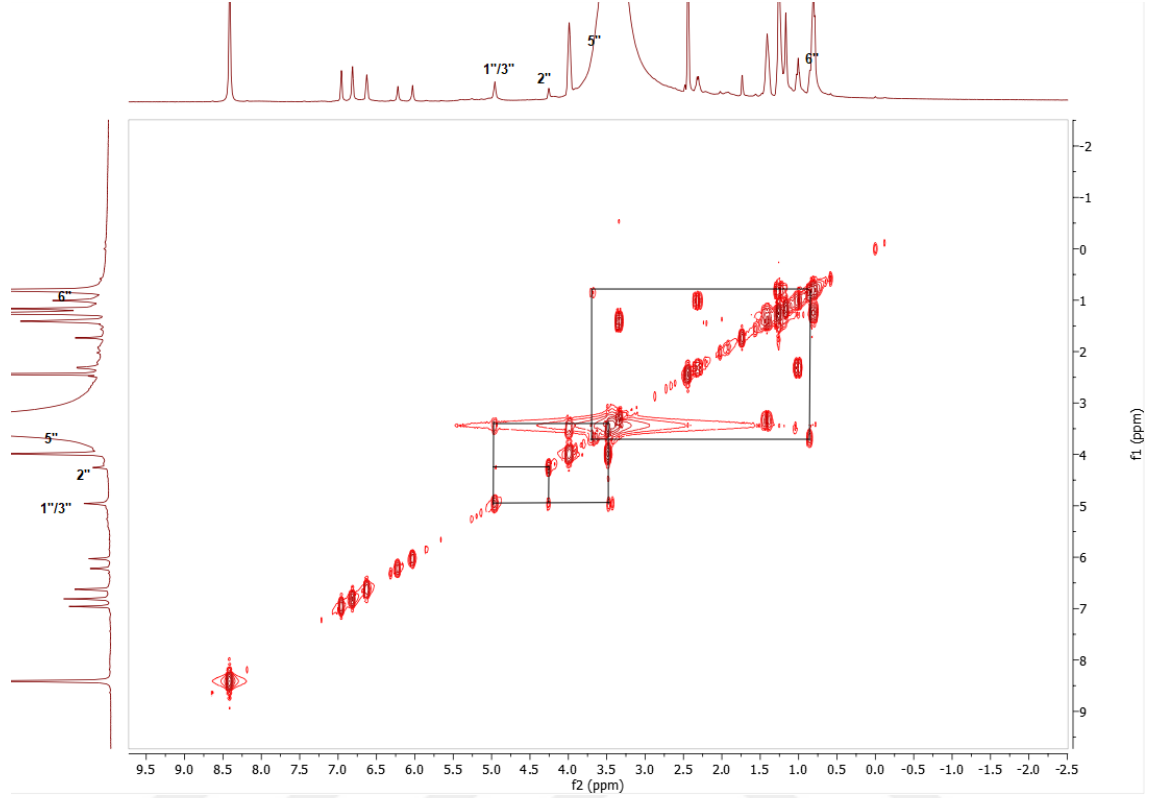
Şekil 4.17

F1 kodlu maddeye ait ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)



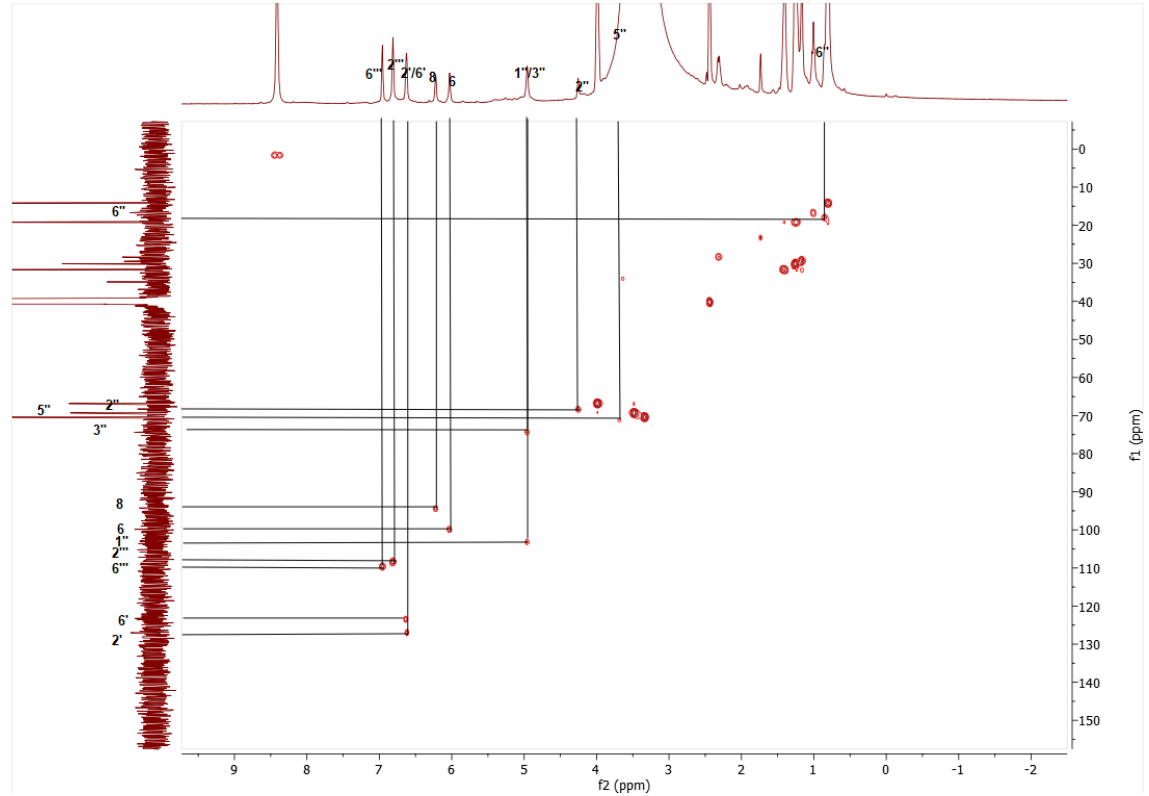
Şekil 4.18

F1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^1H korelasyon (COSY) spektrumu



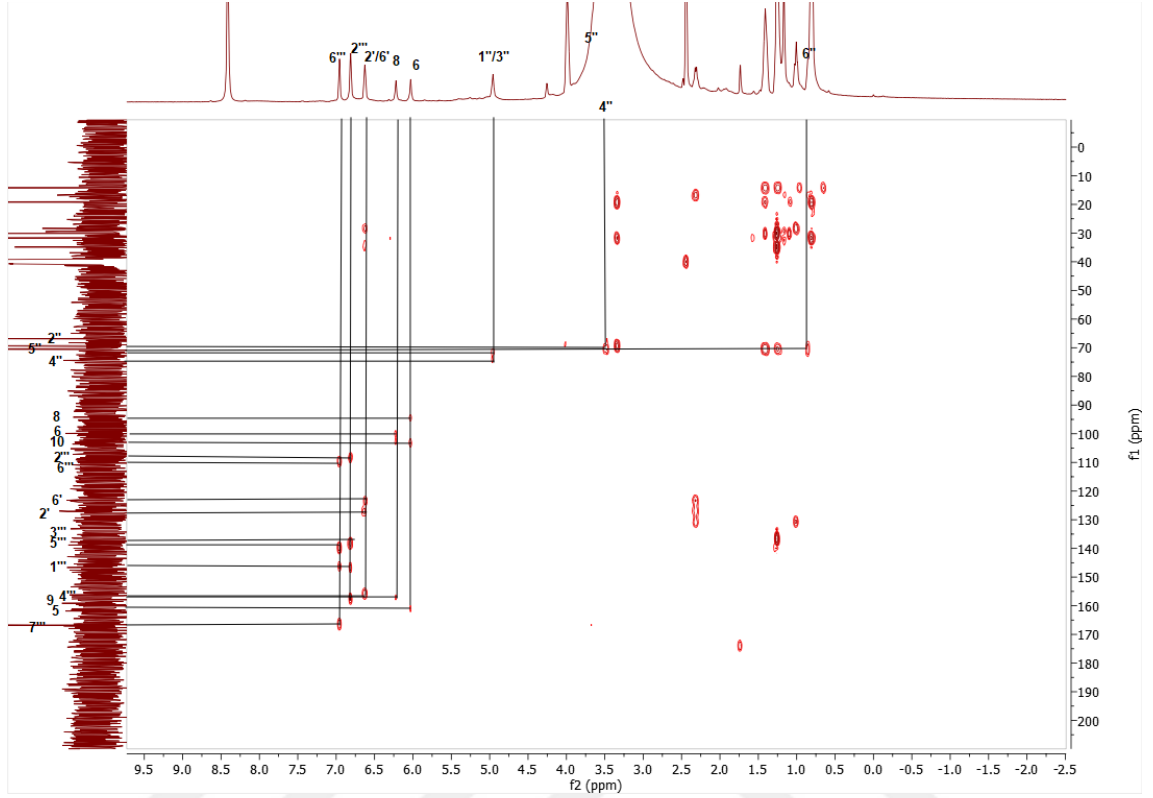
Şekil 4.19

F1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C yakın mesafe korelasyon (HSQC) spektrumu



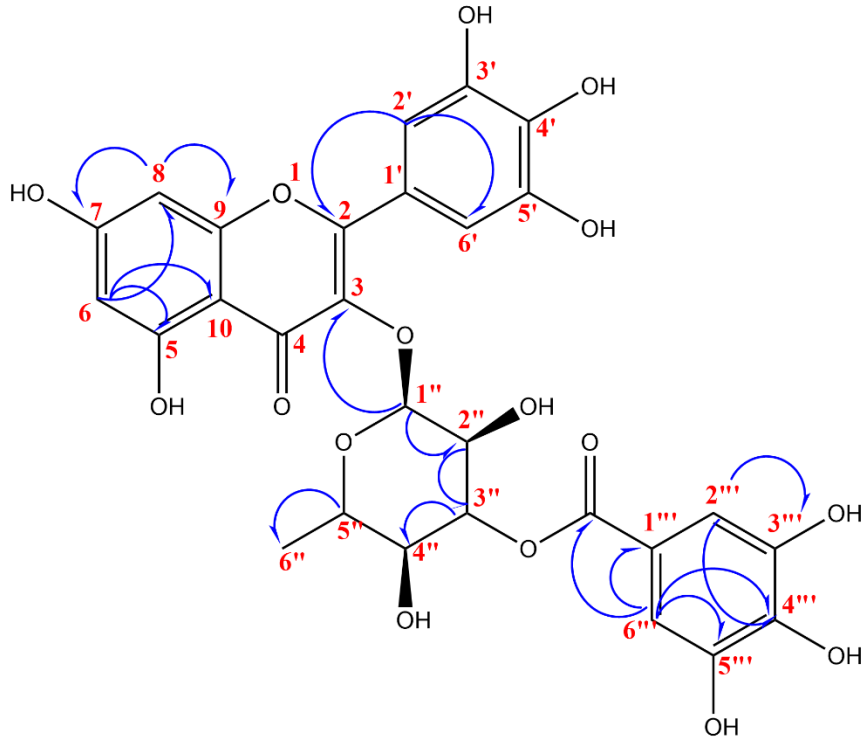
Şekil 4.20

F1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C uzak mesafe korelasyon (HMBC) spektrumu



Şekil 4.21

F1 kodlu maddeye ait uzak bağ etkileşimleri

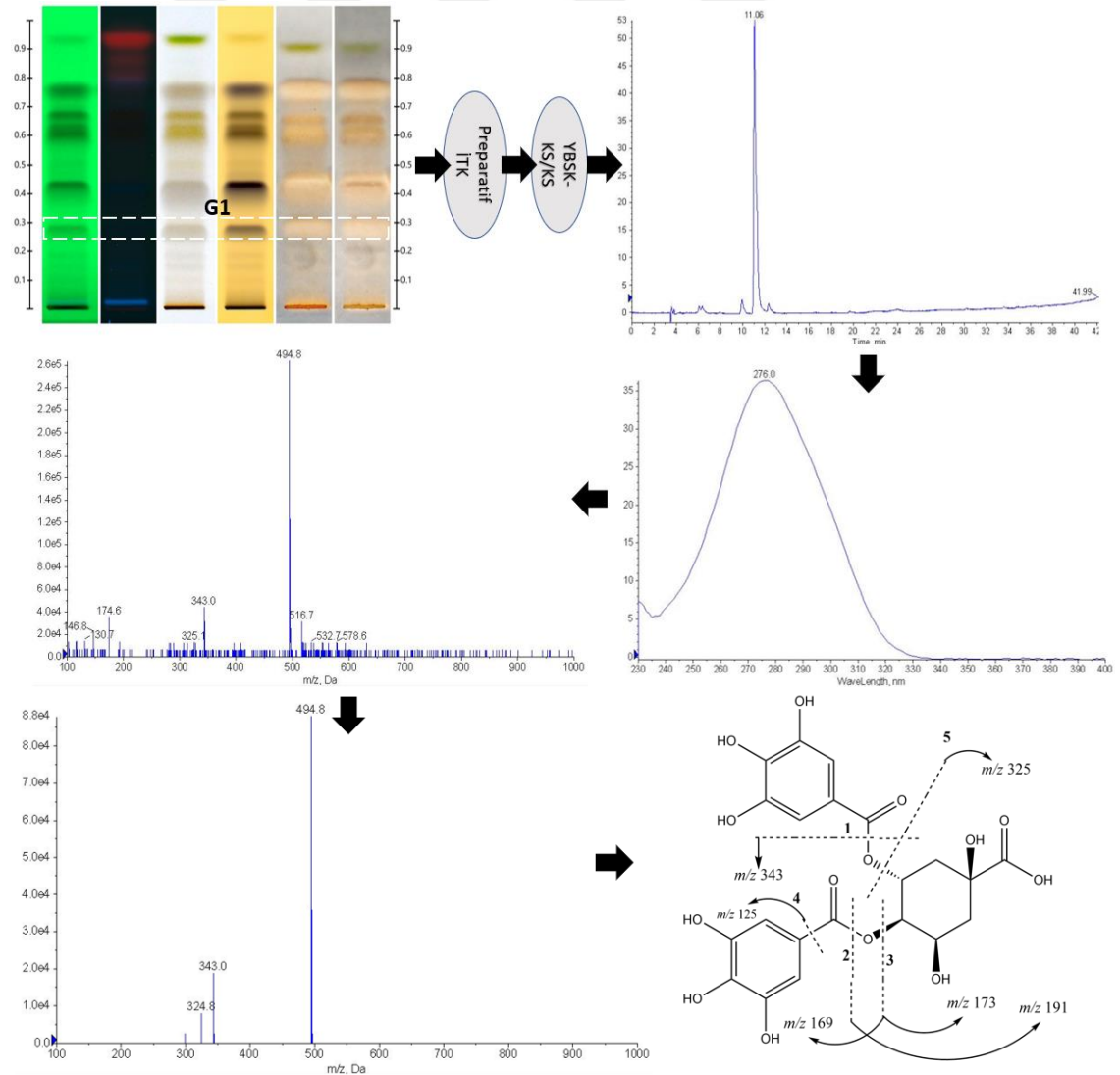


4.3.3.2 G1 kodlu maddeye ait yapı tayini bulguları

hR_F 29 noktasında G ve H kodlu fraksiyonda F'e kıyasla daha yoğun bir zon şeklinde gözlemlenen madde konsantrasyona bağlı olduğu düşünülen bir inhibisyon göstermiştir. Preparatif İTK ile izole edildikten sonra YPSK analizi ile DAD kromatogramında keskin bir pik göstermiş ve DAD spektrumu incelendiğinde UV maksimumu 276 nm olarak gözlemlenmiştir. KS/KS analizinde ise m/z 495 $[M-H]^-$ moleküler iyon piki ile karakterize edilmiştir. m/z 343 $[M-H-152]^-$ ve m/z 325 $[M-H-152-18]^-$ fragmentleri gözlemlenirken m/z 169 gallik asit pikinin bağlı yoğunluğunun m/z 191 kinik asit kütesinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Daha önce yapılan analizlerde de karşılaştırılarak di-*O*-galloilkinik asit olduğu anlaşılan G1 kodlu maddenin pozisyonel bağlanma noktalarının 3,4-olabileceği düşünülmüştür (Şekil 4.22).

Şekil 4.22

G1 kodlu maddenin YPSK-KS/KS analizine ait bulgular



G1 kodlu bileşiğe ait ^1H NMR, ^{13}C NMR değerleri ve HMBC korelasyonları Tablo 4.13’de verilmiştir. ^1H NMR spektrumu incelendiğinde δ_{H} 6.61 (s, 2H) ve δ_{H} 6.68 (s, 2H) singlet sinyalleri ana iskelete bağlı trisüstitüe aromatik halkaya işaret etmiştir. Kinik asit çekirdeğine ait olduğu düşünülen δ_{H} 2.03 ve δ_{H} 2.74 sinyallerinin HSQC ile δ_{C} 36.09 ppm’deki karbon üzerinde olduğu belirlenmiştir. Kinik asit’in C-3, C-4 ve C-5 karbonlarına ait proton sinyalleri ise δ_{H} 5.33, δ_{H} 5.06 ve δ_{H} 4.22 ppm’de gözlemlenmiştir. H-2a ve H-2b’ye ait olduğu düşünülen δ_{H} 2.03 ve δ_{H} 2.74 sinyallerinin COSY spektrumunda δ_{H} 5.33 sinyali ile gösterdiği kuvvetli korelasyon sonucunda δ_{H} 5.33 ppm’e ait protonun C-3’e ait olduğu düşünülmüştür. C-6’ya ait δ_{H} 2.28 sinyali dışında muhtemel sinyal çakışması sebebiyle ikinci protona ait sinyal belirlenememiştir. İlerleyen kısımlarda bahsedileceği üzere digalloilkinik asit izomeri olduğu anlaşılan bu molekülün farklı bir izomerinde 3,5- pozisyonunun tanımlanması sebebiyle, δ_{H} 5.06 protonunun C-4 konumunda ve δ_{H} 4.22 protonunun ise C-5 konuma ait olabileceği düşünülmüştür. H-3 ve H-4 protonlarının aşağı alana kayması sebebiyle galloil birimlerinin bu pozisyonlarda bağlı olduğu ve molekülün muhtemelen 3,4-di-O-galloilkinik asit olduğu sonucuna varılmıştır (Motta vd., 2017; Cardullo vd., 2020) .

Bileşiğe ait ^1H NMR, ^{13}C NMR, COSY, HSQC ve HMBC spekturumları ile uzak bağ etkileşimleri Şekil 4.23 ile Şekil 4.28 aralığında verilmiştir.

Tablo 4.13

G1 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6)

	C/H	δ_{H} , ppm, J (Hz)	δ_{C} , ppm	HMBC (H→C)
1	C		77.80	
2	CH _A , CH _B	2.03, 2.74	36.09	
3	CH	5.33	70.28#	
4	CH	5.06	76.45#	
5	CH	4.22	66.07#	
6	CH _A , CH _B	2.28, #	41.97#	
7	COO-		175.65	
Galloyl A (3-O-)				
1'	C		121.67#	

Tablo 4.13

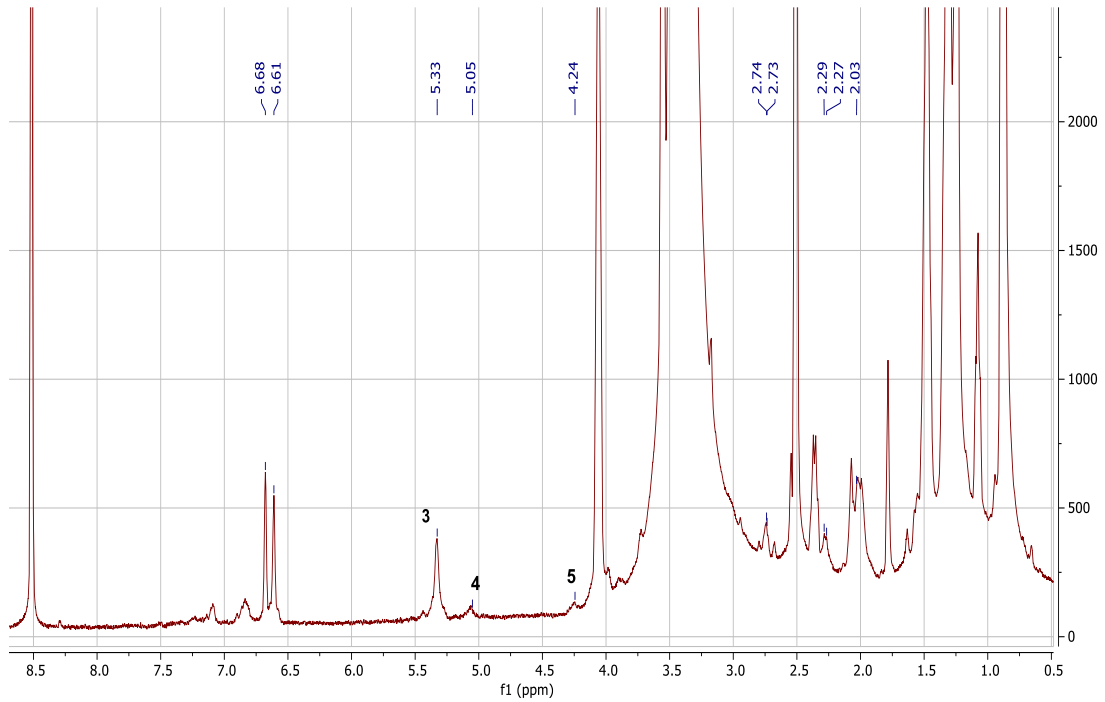
(Devam) G1 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6)

2'	CH	6.61	122.82	6', 7'
3'	C		159.73	
4'	C		139.80#	
5'	C		159.73	
6'	CH	6.68	128.77	2', 7'
7'	COO-		166.35	
Galloyl B (4-O-)				
1'	C		121.35#	
2'	CH	6.61	122.82	3', 6'
3'	C		158.64	
4'	C		139.80#	
5'	C		158.64	
6'	CH	6.68	128.77	2', 5'
7'	COO-		166.32	

Not*: #:sinyal girişimi veya düşük miktar sebebiyle saptanamamıştır.

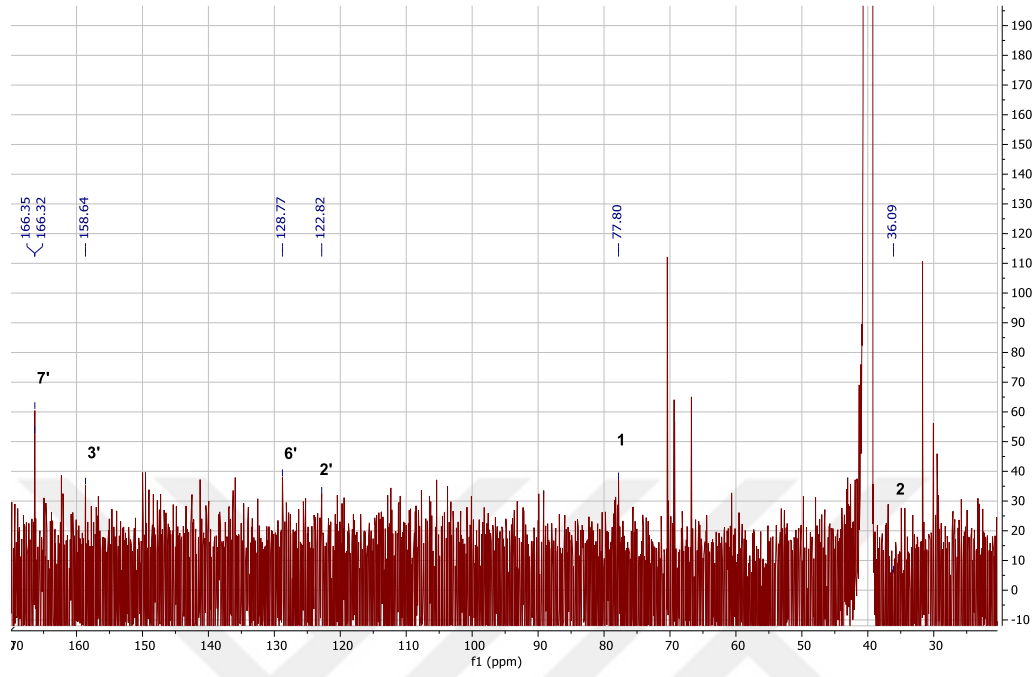
Şekil 4.23

G1 kodlu maddeye ait ^1H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)



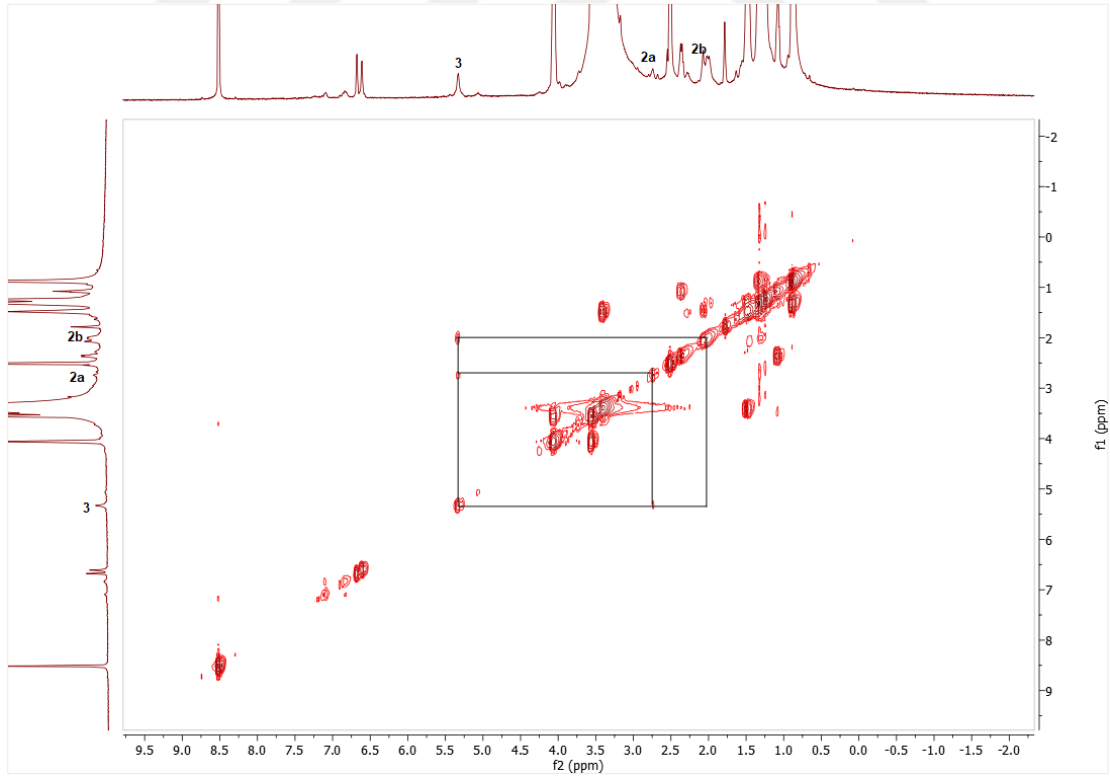
Şekil 4.24

G1 kodlu maddeye ait ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)



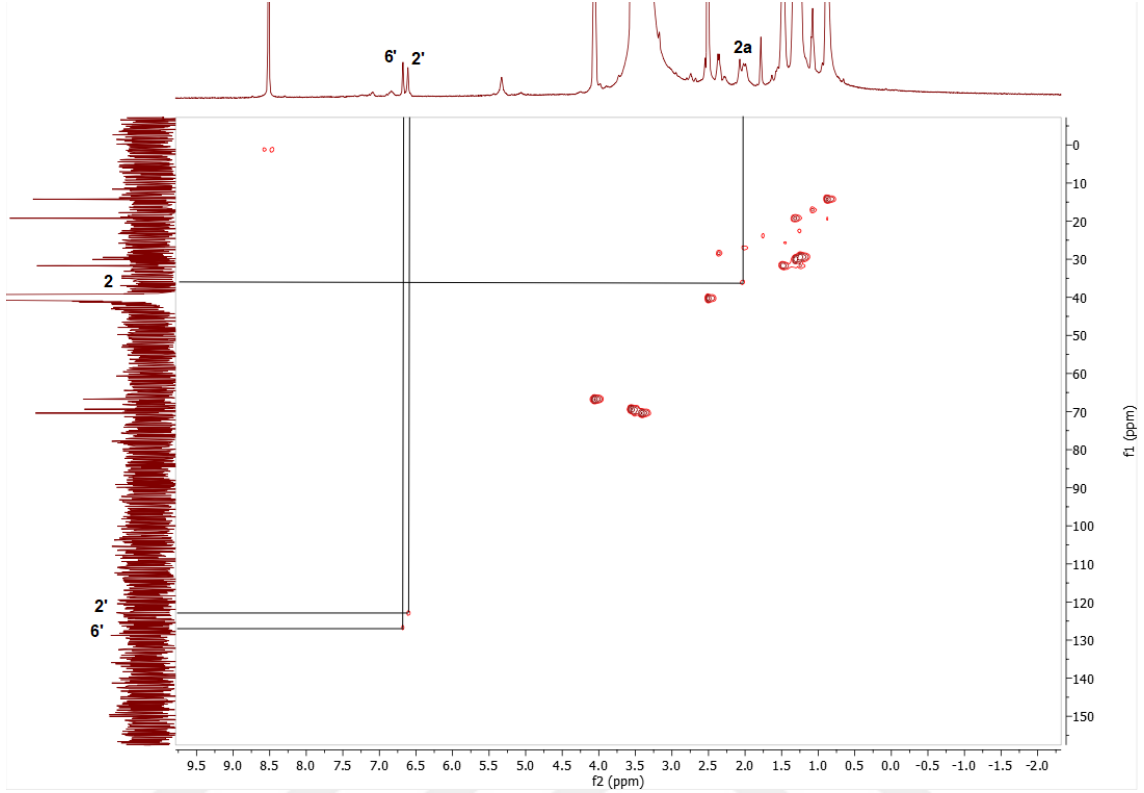
Şekil 4.25

G1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^1H korelasyon (COSY) spektrumu



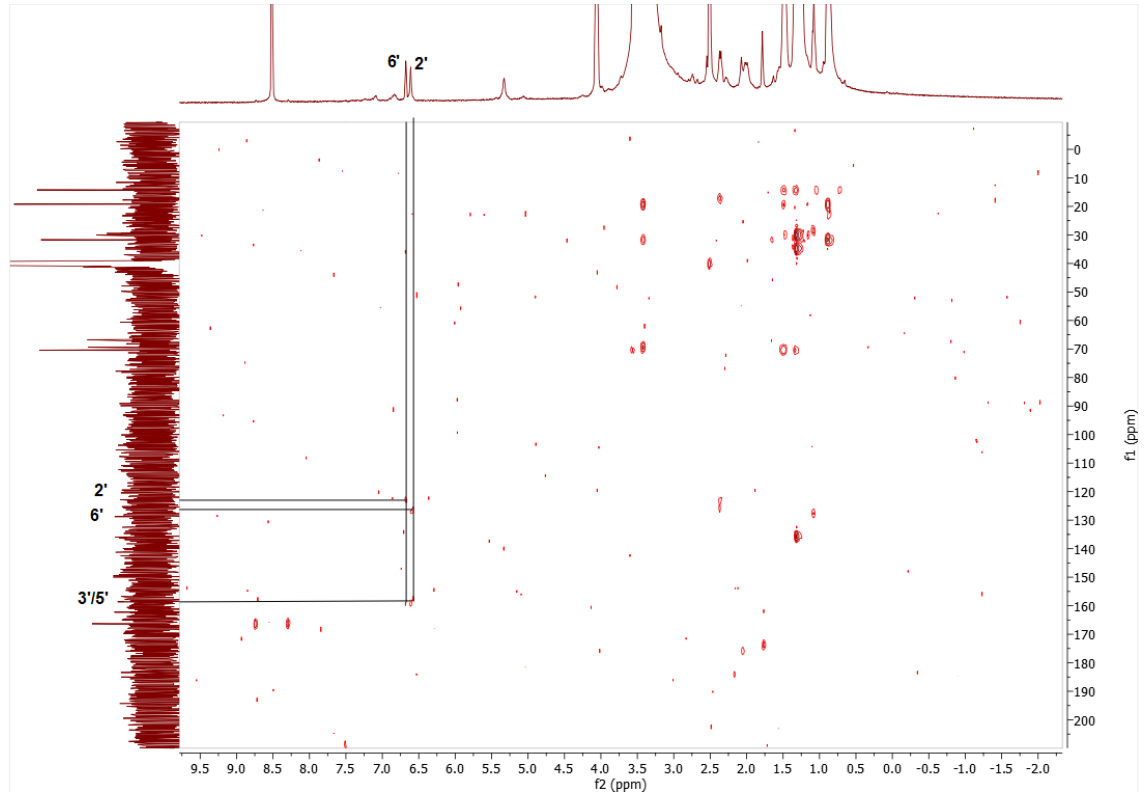
Şekil 4.26

G1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C yakın mesafe korelasyon (HSQC) spektrumu



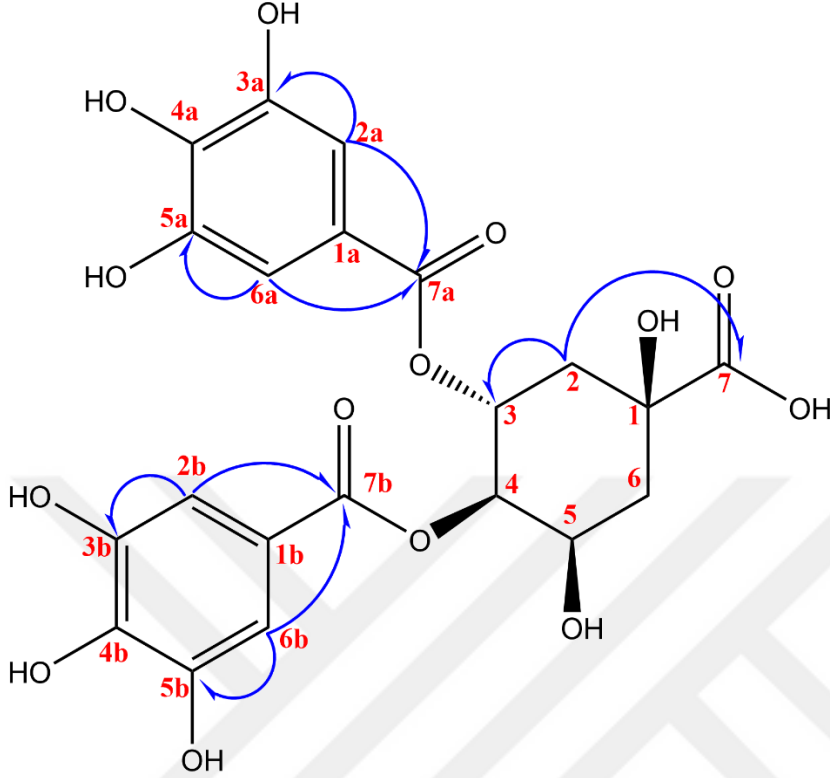
Şekil 4.27

G1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C uzak mesafe korelasyon (HMBC) spektrumu



Şekil 4.28

G1 kodlu maddeye ait önemli uzak bağ etkileşimleri

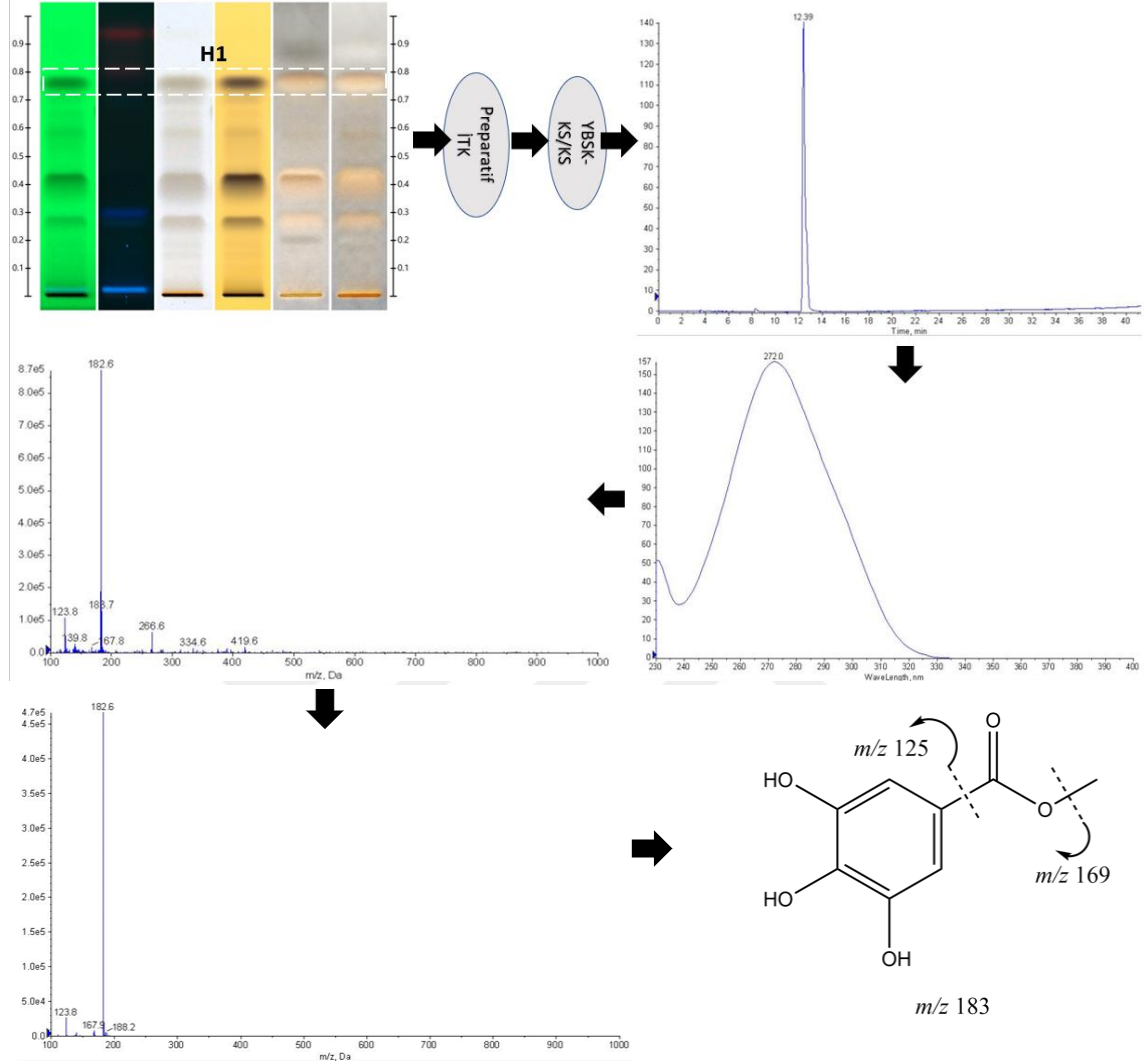


4.3.3.3 H1 kodlu maddeye ait yapı tayini bulguları

hR_F 77 noktasında G ve H fraksiyonlarında bulunan madde güçlü bir tirozinaz inhibisyonu göstermiştir. Preparatif olarak elde edildikten sonra YPSK-KS/KS analizleri ile birlikte DAD kromatogramında bileşiğin saflığı kontrol edilmiştir. DAD spektrumunda 272 nm’de maksimum UV absorpsiyonu göstermiştir. Yapıdan 14 amu’luk fark ile kopan metil grubu sonucu oluşan m/z 168 $[M-2H-14]^-$ ve bu yapıdan 44 amu’luk kopma ($-CO_2$ çıkışı) ile oluşan m/z 124 $[M-2H-14-44]^-$ fragmenti gallik asit’in bir metil esteri olduğunu düşündürmüştür (Şekil 4.29).

Şekil 4.29

H1 kodlu maddenin YPSK-KS/KS analizine ait bulgular



H1 kodlu bileşiğe ait ^1H NMR, ^{13}C NMR değerleri ve HMBC korelasyonları Tablo 4.14’de verilmiştir. ^1H NMR spektrumunda biri aromatik bölgede toplam iki adet sinyal gözlemlenmiştir. δ_{H} 6.88 s (s, 2H) sinyalinin trisüstitüe aromatik halkanın iki eş protonuna, δ_{H} 3.73 sinyalinin ise metoksi grubuna ait olabileceği düşünülmüştür. ^{13}C NMR spektrumunda ise δ_{C} 166.80, 146.61, 141.57, 118.48, 108.95 ve 51.84 ppm’de toplamda 6 adet sinyal gözlemlenmiştir. HMBC spektrumunda δ_{H} 3.73 sinyalinin 167.34 ppm’deki karbonil grubu ile arasındaki korelasyon esterleşmenin bu konumda olduğuna işaret etmiştir. Yapılan spektroskopik analizler sonucunda literatür verileri ile de desteklenerek H1 kodlu bileşiğin metil gallat olduğu sonucuna varılmıştır (Cardullo vd., 2020).

Bileşiğe ait ^1H NMR, ^{13}C NMR, HSQC ve HMBC spekturumları ile uzak bağ etkileşimleri Şekil 4.30 ile Şekil 4.34 aralığında verilmiştir.

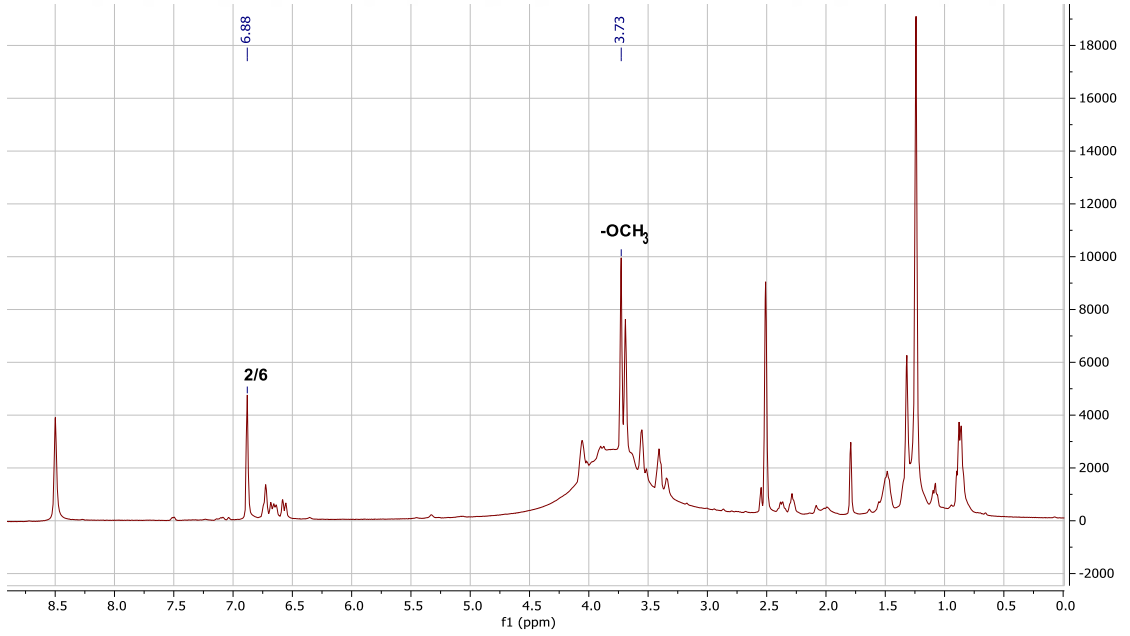
Tablo 4.14

H1 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6)

	C/H	δ_H , ppm, J (Hz)	δ_C , ppm	HMBC (H→C)
1	C		118.48	
2	CH	6.88	108.95	1, 3, 4, 7
3	C		146.61	
4	C		141.57	
5	C		146.61	
6	CH	6.88	108.95	1, 4, 5, 7
7	CO-		166.80	
8	-OCH ₃	3.73	51.84	7

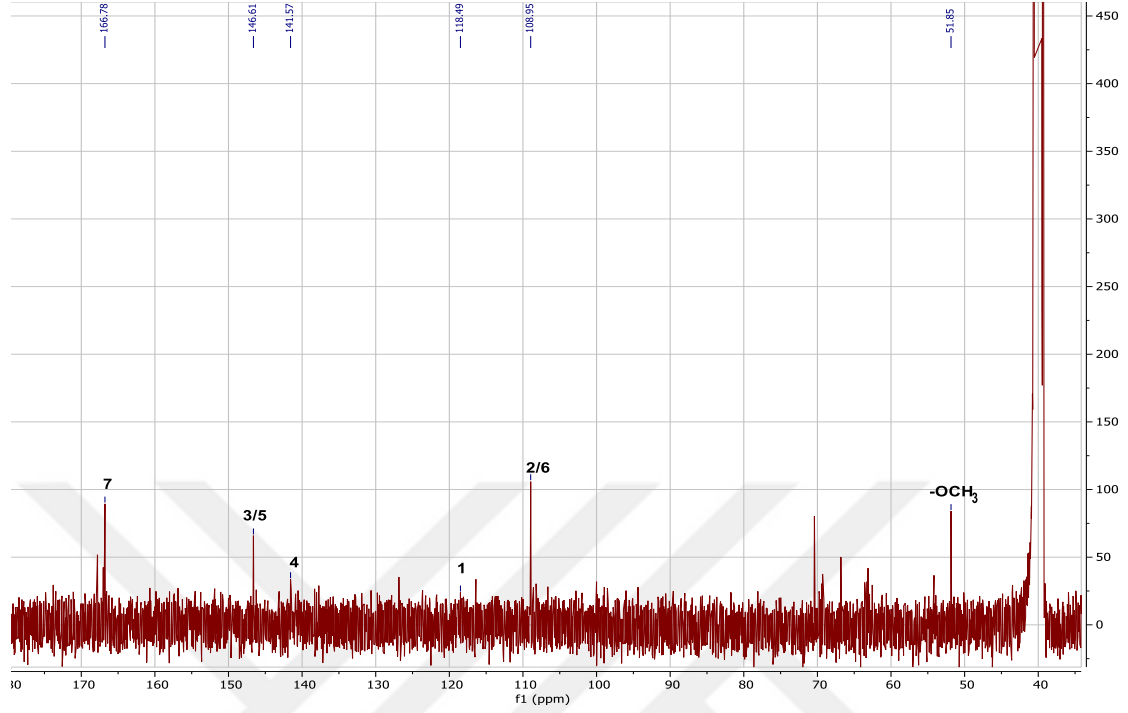
Şekil 4.30

H1 kodlu maddeye ait ^1H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)



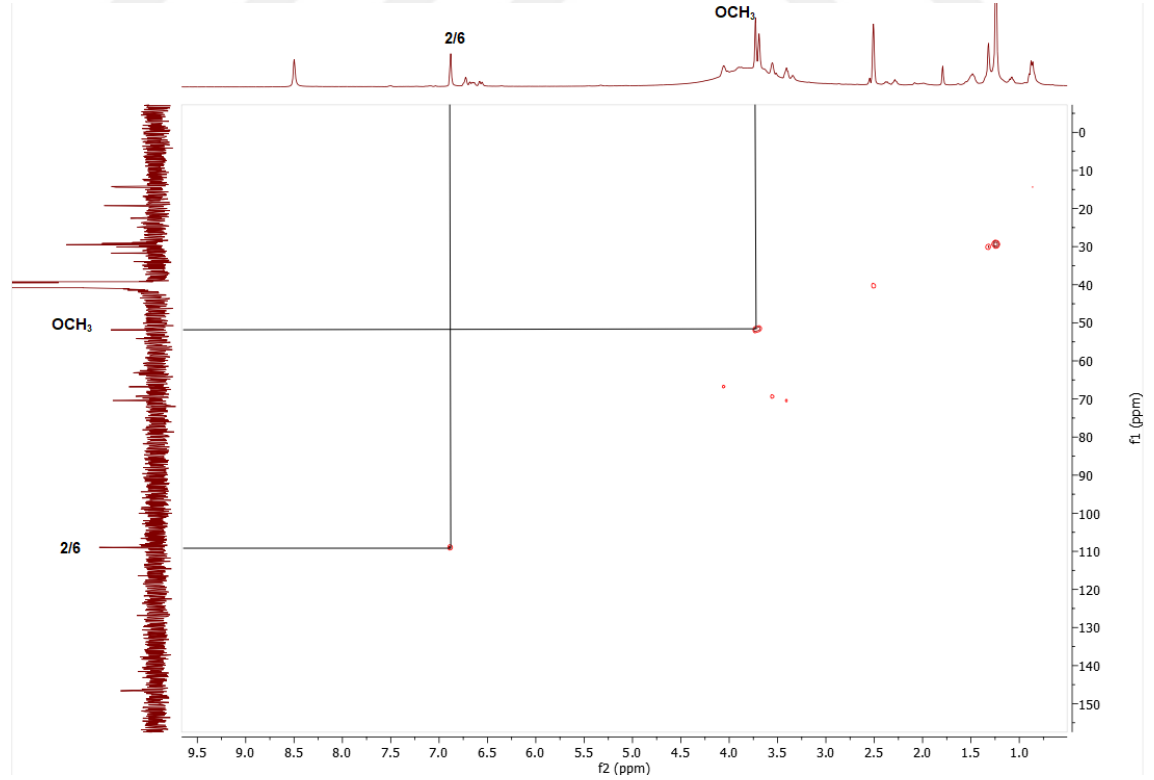
Şekil 4.31

H1 kodlu maddeye ait ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)



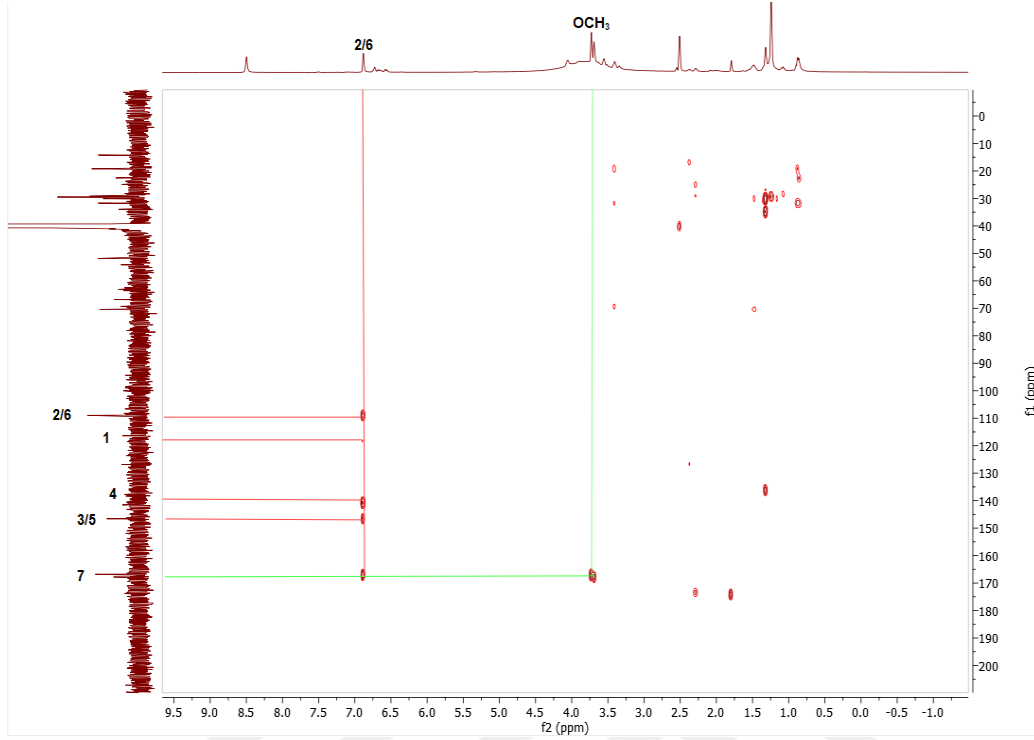
Şekil 4.32

H1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C yakın mesafe korelasyon (HSQC) spektrumu



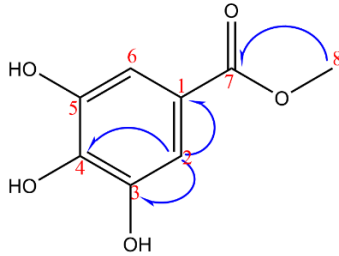
Şekil 4.33

H1 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C uzak mesafe korelasyon (HMBC) spektrumu



Şekil 4.34

H1 kodlu maddeye ait önemli uzak bağ etkileşimleri

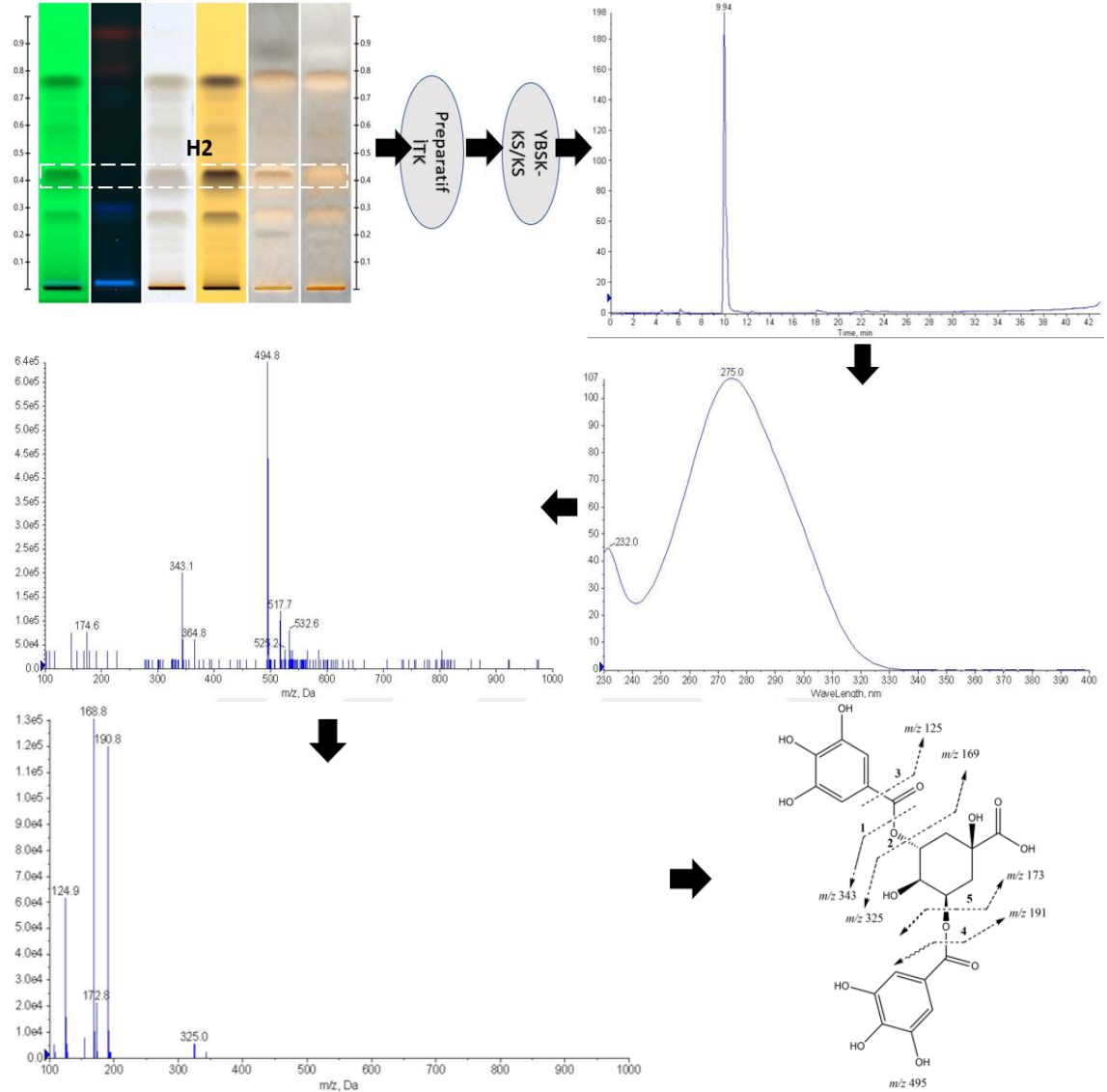


4.3.3.4 H2 kodlu maddeye ait yapı tayini bulguları

hR_F 44 noktasında F, G ve H kodlu fraksiyonlarda tirozinaz inhibitör özelliği gösteren madde preparatif İTK ile izole edildikten sonra YPSK ile analiz edilmiş ve DAD spektrumu incelendiğinde UV maksimumu 275 ve 232 nm olarak gözlemlenmiştir. KS/KS analizinde ise m/z 495 $[\text{M}-\text{H}]^-$ moleküler iyon piki ile karakterize edilmiştir. m/z 343 $[\text{M}-\text{H}-152]^-$ ve m/z 325 $[\text{M}-\text{H}-152-18]^-$ fragmentleri gözlemlenirken m/z 169 gallik asit piki ile m/z 191 kinik asit kütlelerinin bağlı yoğunluğu kuvvetli bulunmuştur. Daha önce yapılan analizlerle de karşılaştırılarak di-*O*-galloilkinik asit olduğu anlaşılan H2 kodlu maddenin pozisyonel bağlanma noktalarının 3,5- konumunda olabileceği düşünülmüştür (Şekil 4.17).

Şekil 4.35

H2 kodlu maddenin YPSK-KS/KS analizine ait bulgular



H2 kodlu bileşiğe ait ^1H NMR, ^{13}C NMR değerleri ve HMBC korelasyonları Tablo 4.15’de verilmiştir. H2 kodlu bileşiğe ait ^1H NMR spektrumu incelendiğinde dokuz adet proton gözlemlenmiştir. δ_{H} 6.89 ve δ_{H} 6.95 singlet sinyalleri ana iskelete bağlı trisüstitüe aromatik halkaya işaret etmiştir. Geriye kalan yedi adet protonun ise (δ_{H} 1.64 – 5.34) kinik asit çekirdeğine ait olduğu düşünülmüştür. δ_{H} 2.08 (dd , $J = 14.8$ Hz 1H, H2a) ve δ_{H} 1.64 (dd , $J = 14.8$ Hz, 1H, H2b) sinyallerinin δ_{C} 37.11’deki aynı karbon üzerinde olduğu HSQC spektrumu ile belirlenmiş ve COSY ile de kuvvetli korelasyon bunu doğrulamıştır. δ_{H} 1.74 (H6a) ve δ_{H} 1.83 (H6b) sinyallerinin de δ_{C} 40.91’deki aynı karbon üzerinde olduğu düşünülmüştür. 2. ve 6. Karbona ait olan bu dört proton belirlendikten sonra kinik asit çekirdeğindeki kalan üç proton sinyali δ_{H} 5.18, δ_{H} 3.71 ve δ_{H} 5.34 olarak

gözlemlenmiştir. C2 ve C6 protonlarının COSY spektrumunda sırasıyla δ_H 5.18 ve δ_H 5.34 sinyalleri ile gösterdiği kuvvetli korelasyon bu protonların C3 ve C5'te olduğunu düşündürmüştür. H6 proton sinyallerinin HMBC korelasyonlarında C5 ile komşuluğu doğrulanmıştır. Ayrıca δ_H 3.71 sinyalinin δ_H 5.18 ile COSY'de gösterdiği kuvvetli korelasyon bu sinyalin de C4 karbonunda bulunduğunu düşündürmüştür. Literatür ile de karşılaştırılan veriler ışığında galloil birimlerinin H3 ve H5 sinyallerini aşağı alana kaydıracağı ve dolayısıyla bu noktalardan yapıya bağlandığı anlaşılmıştır (Motta vd., 2017; Cardullo vd., 2020; Romani vd., 2002). Sonuç olarak H2 kodlu madde 3,5-di-O-galloilkinik asit olarak tanımlanmıştır.

Bileşiğe ait ^1H NMR, ^{13}C NMR, COSY, HSQC ve HMBC spektrumları ile uzak bağ etkileşimleri Şekil 4.36 ile Şekil 4.41 aralığında verilmiştir.

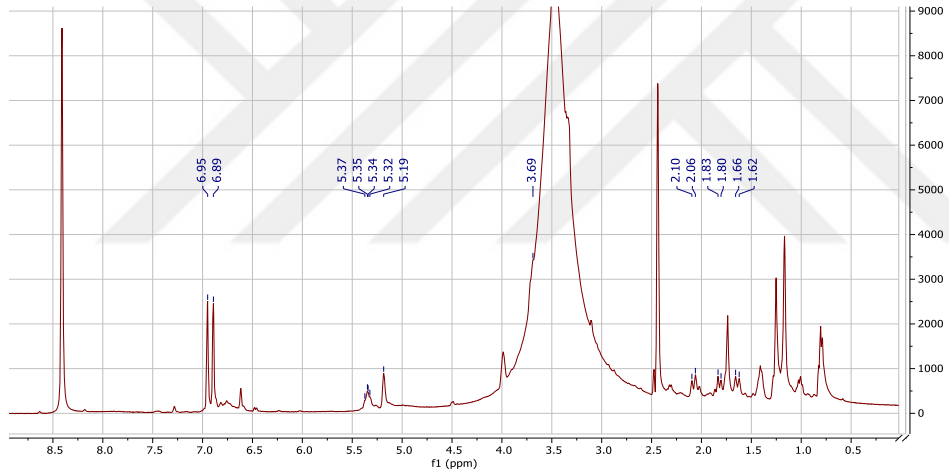
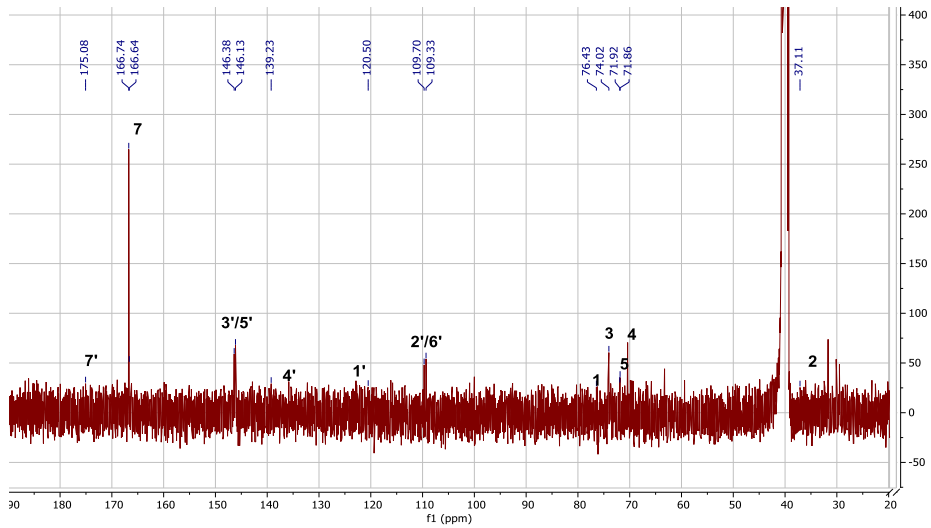
Tablo 4.15

H2 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6)

	C/H	δ_H , ppm, J (Hz)	δ_C , ppm	HMBC (H→C)
1	C		76.34	
2	CH _A , CH _B	1.64, 2.08	37.11	3
3	CH	5.18	74.02	
4	CH	3.71	71.86	5
5	CH	5.34	71.92	
6	CH _A , CH _B	1.74, 1.83	40.91	7
7	CO-		175.08	
Galloyl A (3-O-)				
1'	C		120.51	
2'	CH	6.89	109.33	1', 3', 4', 7'
3'	C		146.38	
4'	C		139.52	
5'	C		146.48	
6'	CH	6.95	109.70	1', 4', 5', 7'
7'	COO-		166.74	

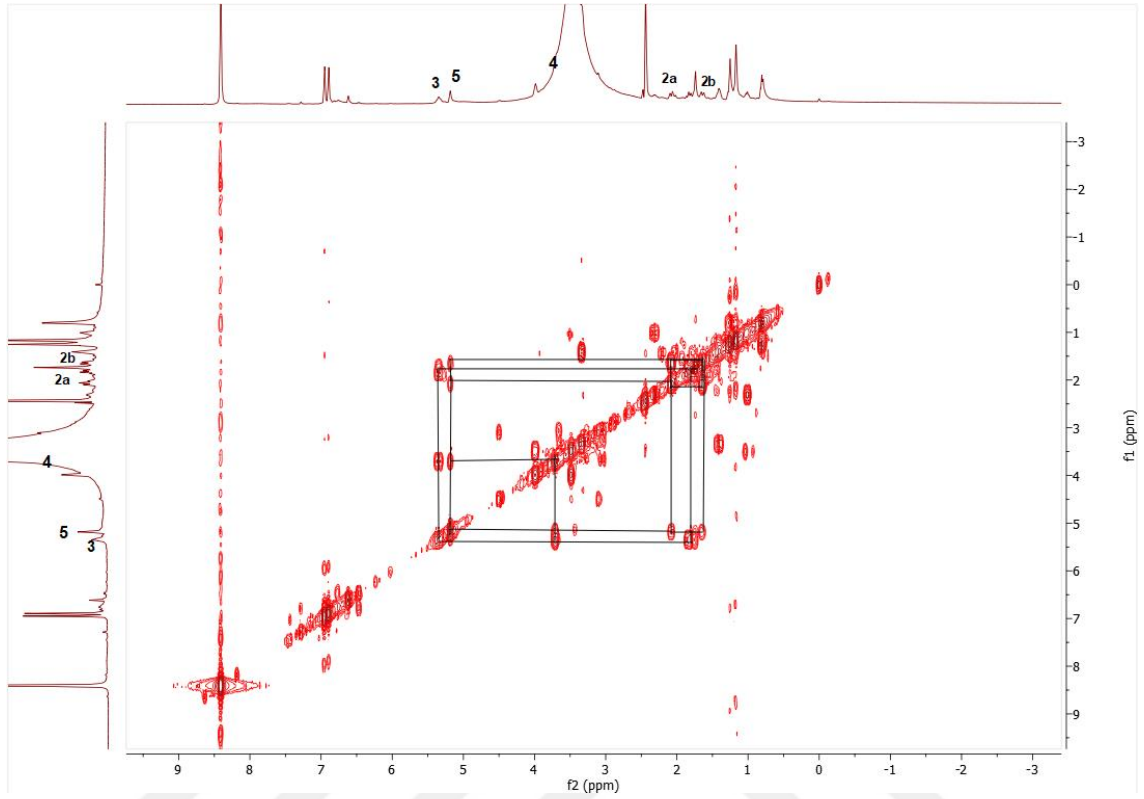
Tablo 4.15*(Devam) H2 kodlu maddeye ait ^1H ve ^{13}C NMR değerleri (^1H :400 MHz, ^{13}C NMR:100 MHz, DMSO- d_6)*

Galloil B (5-O-)				
1'	C		120.50	
2'	CH	6.89	109.33	1', 3', 4', 7'
3'	C		146.13	
4'	C		139.53	
5'	C		146.48	
6'	CH	6.95	109.70	1', 4', 5', 7'
7'	COO-		166.74	

Şekil 4.36*H2 kodlu maddeye ait ^1H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)***Şekil 4.37***H2 kodlu maddeye ait ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)*

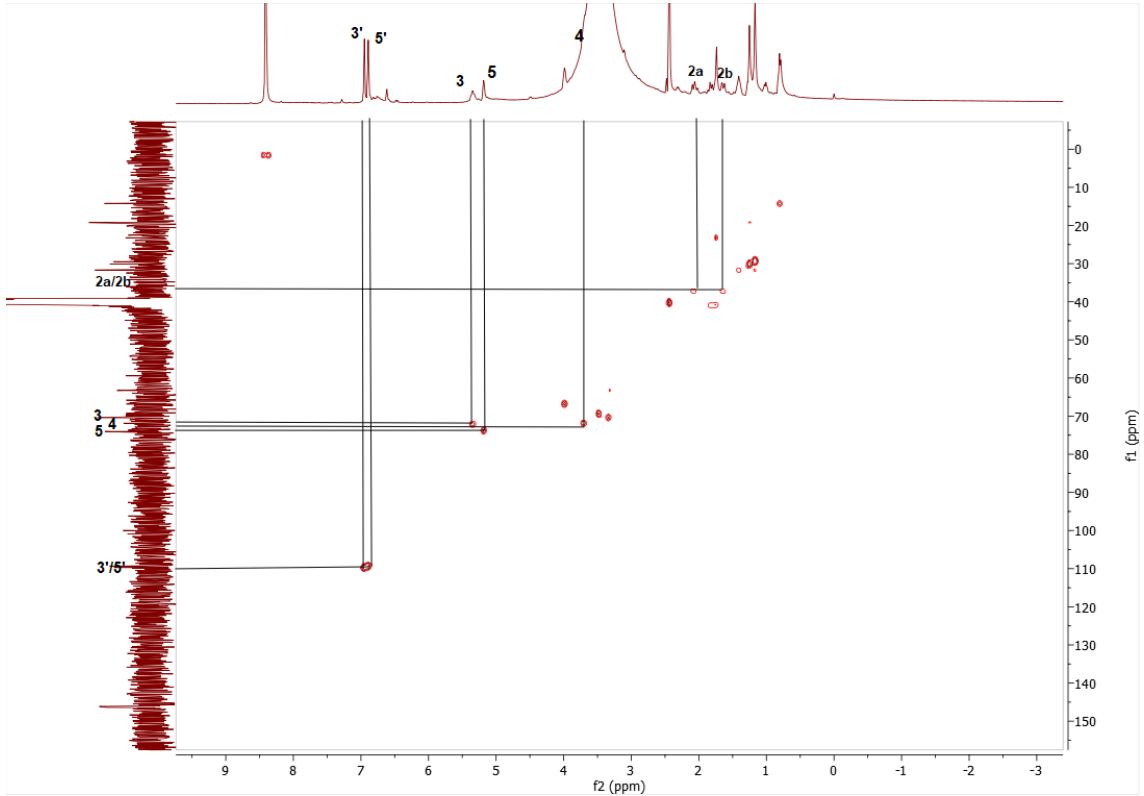
Şekil 4.38

H2 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^1H korelasyon (COSY) spektrumu



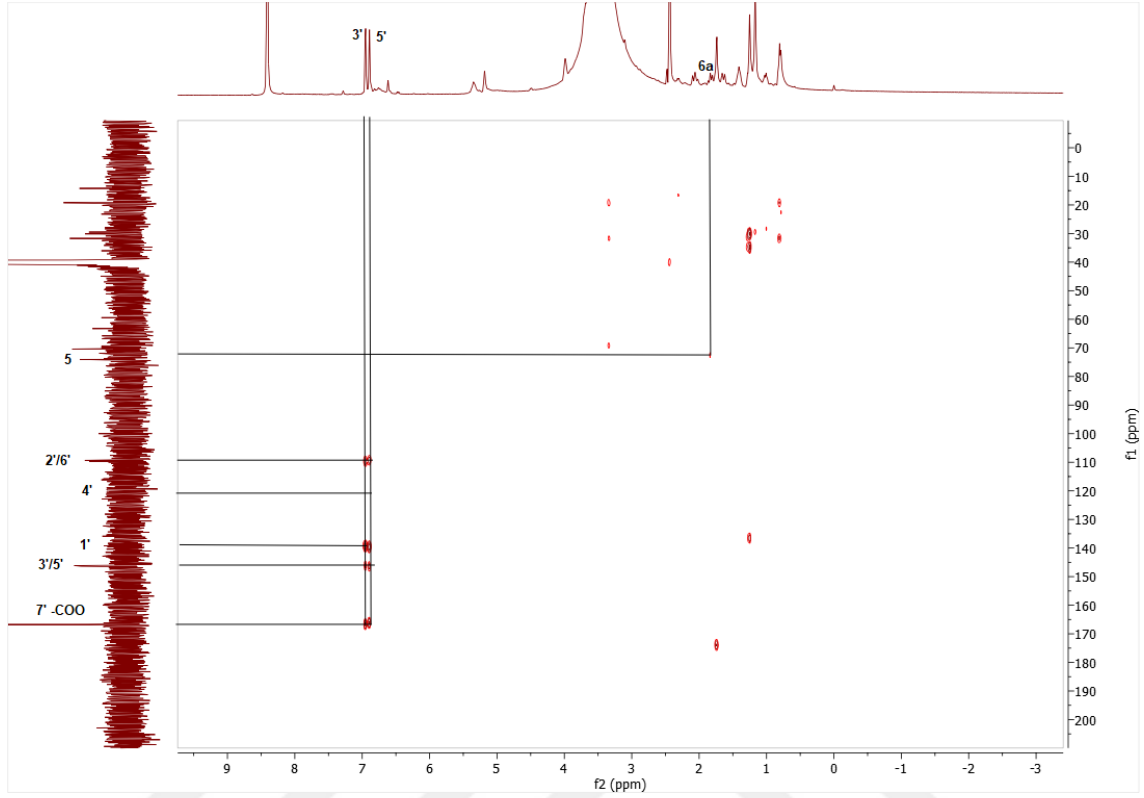
Şekil 4.39

H2 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C yakın mesafe korelasyon (HSQC) spektrumu



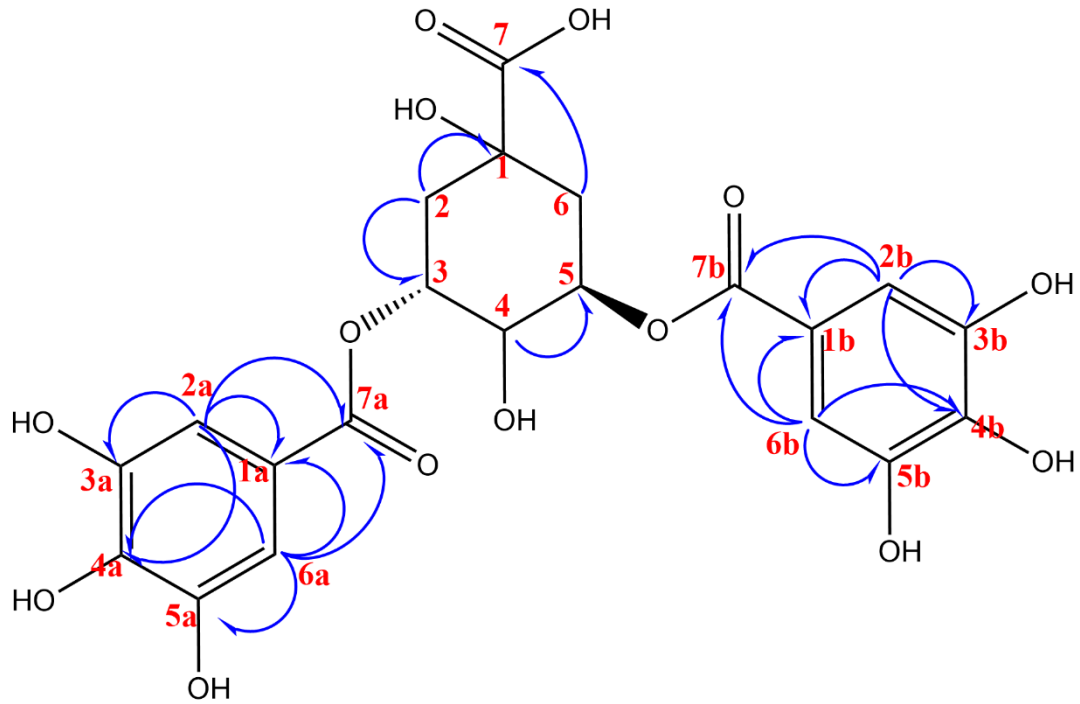
Şekil 4.40

H2 kodlu maddeye ait 2D ^1H - ^{13}C uzak mesafe korelasyon (HMBC) spektrumu



Şekil 4.41

H2 kodlu maddeye ait önemli uzak bağ etkileşimleri



5 SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Pistacia L. cinsi ülkemizde geniş bir doğal yayılım alanına sahip olmakla birlikte meyveleri, reçinesi, yaprakları ve toprak üstü kısımları geleneksel olarak uzun yıllardır halk arasında kullanılmaktadır. Tez kapsamında ise *P. atlantica*, *P. lentiscus*, *P. terebinthus* ve *P. vera* türlerinin yaprakları araştırma materyali olarak seçilmiştir. Yapraklar ağrı tedavisinde, soğuk algınlıklarında, yaralarda ve sindirim bozuklukları gibi çeşitli rahatsızlıklarda uzun yıllardır kullanılmaktadır. Araştırmacılar, yapraklardan hazırlanan çeşitli ekstrelerin antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuvar, antiproliferatif, antidiyabetik, antikanser, antikolinesteraz etkiler gibi farklı farmakolojik aktivitelerine odaklanmıştır. Özellikle ülkemizde yetişen türler üzerine yaprak kimyasal bileşenleri ve biyolojik aktiviteleri ile alakalı çalışmalar sınırlı sayıdadır. *Pistacia* cinsine ait türler gıda olarak kullanımlarının yanı sıra endüstriyel alanda farklı kullanım potansiyeline sahiptirler. Bu türlerin fitokozmetik alanda kullanımlarını kapsamlı değerlendiren araştırmaların kısıtlı olduğu ve bu çalışmaların bir ön bulgu niteliği taşıdığı söylenebilir. Ayrıca meyveler ve reçineler araştırmacıların odak noktası iken yapraklar daha çok atık olarak değerlendirilmektedir. Bu kapsamda doktora tezinde, *Pistacia* cinsine ait dört türün yapraklarının fitokozmetik bileşen olarak değerlendirilmesi farmakognozik açıdan ele alınmıştır.

Günümüzde kozmetik sektöründe sentetik maddelerden doğal kaynaklı ürünlere dönüş yaşanmaktadır. Fitokozmetik alanda, doğal ürünlerin aktif bileşen olarak formülasyonlarının geliştirilmesinin yanı sıra kombinasyon preparatlarda etkiyi destekleyecek yardımcı bileşen olarak kullanımları da giderek yaygınlaşmaktadır. Sentetik türevlerin toksik ve istenmeyen etkileri hem üretici hem de tüketicilerde doğal ürün arayışını sürdürmektedir. Tez araştırmasında hedef enzimler olarak tirozinaz, elastaz ve kolajenaz enzimleri seçilmiştir. Bu hedef enzimlerin vücutta farklı fizyolojik rolleri bulunmakla birlikte bu enzimlerin inhibisyonları kozmetik alanda sırasıyla leke açıcı (tirozinaz yolağı üzerinde), kırışıklık giderici (elastaz yolağı üzerinden) ve dolgunlaştırıcı (kolajenaz yolağı üzerinden) etkilere ulaştırmaktadır. Tirozinaz, melanin pigmentinin biyosentez sürecinde rol oynayan önemli bir enzimdir. Melanin, ciltte UV fotonlarının emiliminde rol oynar, fotonların serbest radikal formlara dönüşmesini engeller ve cilt renginden sorumludur. Tirozinazın aşırı ekspresyonu, hiperpigmentasyonla ilişkili melanoz ve yaşlılık lekeleri gibi çeşitli dermatolojik bozukluklara yol açar. Ayrıca,

tirozinazdaki mutasyonlar malign melanom oluşumu ile ilişkilidir ve tirozinazın yokluğu veya hasarı, tip I okulokutanöz albinizm ile ilişkilidir. Elastazlar, deriye esneklik kazandıran ‘elastin’ isimli proteinin yıkımından sorumlu serin proteaz enzimleridir ve yaşlılığa bağlı olarak aktivitesi artmaktadır. Kolajenaz, normal gelişim, yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonu için gerekli bir süreç olan kolajen liflerinin parçalanmasını ve yeniden sentezlenmesini destekler. Görüldüğü üzere, elastaz ve kolajenaz ise derinin esnekliği ve dayanıklılığında sorumlu iki ana enzimdir. Aşırı aktiviteleri ile elastin ve kolajen yıkılımı hızlanır ve deri elastisitesini ve dayanıklılığını kaybeder. Bu sebeple bu enzimlerin inhibisyonu önemli bir hedef haline gelmiştir.

Tezin araştırma yönteminde, bu hedef enzimlerin inhibisyonlarının *in vitro* “etki yönlendirmeli analiz” ile araştırılması odak noktadır. Ayrıca seçilen bitki türlerinin antioksidan kapasiteleri de değerlendirilmiştir. Yapraklar sıralı bir şekilde *n*-hekzan, etil asetat, metanol ve su ile masere edilmiştir. Yapılan bu ön çalışmada, dört türün yaprak metanol ve su ekstraktlarının hem hedef enzim inhibisyonları hem de antioksidan kapasite açısından etil asetat ve *n*-hekzan ekstraktlarına göre oldukça kuvvetli oldukları belirlenmiştir. Antioksidan kapasiteler, radikal süpürücü ve bakır şelatlayıcı etkinlikler üzerinden *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Radikal süpürücü etkinlik bakımından *P. terebinthus* dışındaki diğer türlerde su ekstraktları daha kuvvetli bulunmuştur. Bakır şelatlayıcı özellikleri değerlendirildiğinde ise *P. vera* dışındaki diğer türlerin metanol ekstraktları daha etkili olmuştur. Hedef enzim inhibisyonları açısından bulgularda, metanol ekstraktları etkili bulunurken su ekstraktları ise ya daha zayıf etkili bulunmuş ya da hiç etki göstermemiştir. Dört türe ait yaprak metanol ekstraktları YPSK-KS/KS analizleri gerçekleştirilerek kimyasal profilleri değerlendirilmiştir. Bu doğrultuda ekstraktlardaki bileşikler ya standart madde kullanılarak ya da literatür verileri ile her bir bileşiğin karakteristik kütle spektrumları karşılaştırılarak tanımlamalar gerçekleştirilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından yürütülen önceki araştırmalardaki *Pistacia* L. cinsine ait türlerin yapraklarında tespit edilmiş bileşiklerin verileri, tentatif aydınlatmada anahtar rol üstlenmiştir. Buna ek olarak, kinik asit, gallik asit, kateşin, epigallokateşin gallat, kersetin-3-*O*-rutinozit (rutin), kersetin-3-*O*-ramnozit (kersitrin), mirsetin ve kersetin saf standartları YPSK-KS/KS analizlerine tabi tutulmuş, bu standartların bulguları ekstraktlardaki aynı tutunma faktörü ve kütle spektrumlarına sahip bileşiklerle kıyaslanarak ilgili bileşiklerin ekstraktlarda tanımlanmaları sağlanmıştır. *P. atlantica* metanol ekstresinde galloilkinik asit, iki adet digalloil kinik asit izomeri, (epi)gallokteşin, metil

gallat, trigalloilkinik asit izomer 1 ve O-galloil-O-metil galloilkinik asit izomer 1 ile kersetin-O-hekzosit, mirsetin-O-rutinozit ve mirsetin-O-hekzosit ana bileşikler olarak belirlenmiştir. *P. lentiscus* metanol ekstresinde galloilkinik asit, metilgalloilkinik asit, digalloilkinik asit, metil gallat, O-galloil-O-metilgalloilkinik asit izomer 1, (epi)gallokateşin ve gallik asit-O-hekzosit gibi fenolik asit esterleri ile başta mirsetin-O-ramnozit olmak üzere mirsetin-O-rutinozit, mirsetin-O-hekzosit ve kersetin-O-ramnozit gibi flavonoit türevleri major sekonder metabolitleri oluşturmaktadır. *P. terebinthus* metanol ekstresinde ise metilgalloilkinik asit, digalloilkinik asit izomer 1 ve 2, metil gallat, kinik asit, trigalloilkinik asit, mirsetin-O-ramnozit, mirsetin-O-rutinozit, mirsetin-O-hekzosit, mirsetin-O-(galloil)-O-ramnozit ve mirsetin-O-glukuronik asit ana bileşenler olarak belirlenmiştir. *P. vera* ise metil gallat'a ek olarak dihidroksibenzoik asit-O-pentozit (gentisik asit-O-pentozit) ve epigallokateşin gallat (EGCG) bileşiklerine ait majör bileşikler ile karakterize edilmiştir. Ayrıca *P. vera* ekstresinde ise mirsetin-O-rutinozit ana flavonoit glikoziti olarak belirlenmiştir. Kersetin-O-hekzosit, mirsetin-O-glukronik asit, rutin, kersetin-O-glukuronik asit ve kersetin-O-pentozit diğer dikkat çekici flavonoit grubu bileşikler olarak tanımlanmıştır. Bir diğer dikkat çekici bileşik ise pentagalloil glukoz (PGG) olmuştur. YPSK-KS/KS bulgularına göre *P. atlantica*, *P. terebinthus* ve *P. lentiscus* ekstreleri yüksek oranda galloilkinik asit ve bunların türevlerini içerirken *P. vera* ekstresi PGG ve flavan-3-ol türevi bileşiklerce zengin olarak değerlendirilmiştir.

Ekstrelerin radikal süpürücü aktiviteleri farklı araştırmacılar tarafından yapılan önceki çalışmalar ile benzerlik göstermiştir. Pacifio vd. (2014) *P. lentiscus* yaprak kloroform ekstresinin metanol fraksiyonunda DPPH radikal süpürücü etkinliği için IC₅₀ değerini 2.9 µg/mL olarak bildirirken Amesis-Ouchemouk vd. (2014) ham yaprak metanol ekstresinde bu değeri 8 µg/mL olarak rapor etmişlerdir. Pekacar ve Orhan (2022) *P. atlantica* ekstrelerinin antioksidan etkileri ile fitokimyasal profilleri arasındaki korelasyonu değerlendirmiştir. Radikal süpürücü etkinlik bağlamında fenolik asitlerin ve flavonoitlerin kuvvetli etkileri bilinmektedir. Flavonoitler için yapı etki çalışmaları C halkasının C2-C3 doymamışlığı ve 3-OH grubunun varlığı ile B halkasındaki hidroksil grubu sayısının radikal süpürücü etkide kritik önem taşıdığını göstermektedir. Spiegel vd. (2020) flavonoit grubu bileşiklerin antiradikal özellikleri üzerine yapı etki çalışmalar gerçekleştirmiş ve flavonollerin en etkili antiradikal özellikler sergilediğini belirterek bunu sırasıyla flavonlar, flavan-3-oller ve flavanonların takip ettiğini bildirmişlerdir.

Hirano vd. (2001) flavonol aglikonlarının DPPH radikal süpürücü etkinliğini incelemiş ve mirsetinin ($2.3 \mu\text{M}$ IC_{50} değeri) kersetinden ($\text{IC}_{50} 5.5 \mu\text{M}$) ve kemferolden ($\text{IC}_{50} 9-12 \mu\text{M}$) daha kuvvetli olduğunu bildirmişlerdir. Ekstrelerde tanımlanmış bir diğer majör sekonder metabolitler olan galloilkinik asitlerin (mono, di, tri, tetra, penta) radikal süpürücü özelliklerinin araştırıldığı çalışmalar literatürde azdır. Baratto vd. (2009) *P. lentiscus* yapraklarından izole ettikleri gallik asit, 5-O-galloilkinik asit, 3,5-O-digalloil kinik asit ve 3,4,5-O-trigalloil kinik asit'in DPPH radikal süpürücü etkinliklerini değerlendirmişlerdir. En etkili radikal süpürücü bileşiğin trigalloil kinik asit olduğunu bildirmişlerdir ($\text{IC}_{50} 3.9 \pm 0.6 \mu\text{g/mL}$). Bunu sırasıyla digalloil kinik asit ($\text{IC}_{50} 7.1 \pm 0.8 \mu\text{g/mL}$) ve gallik asit ($\text{IC}_{50} 11.2 \pm 0.9 \mu\text{g/mL}$) izlerken galloil kinik asit en zayıf radikal süpürücü özellikteki molekül olarak bulunmuştur ($\text{IC}_{50} 18.7 \pm 2.1 \mu\text{g/mL}$). Galloil sayısının arttıkça radikal süpürücü özelliğin de arttığını bildirmişlerdir. Mono, -di, -tri galloil glukoz molekülleri üzerine yapılan antioksidan etki araştırmalarında galloilkinik asitlerden daha zayıf etkinlik gözlemlenirken tetra ve penta galloil glukoz'un artan galloil birimlerine paralel olarak antiradikal kapasiteyi artırdığı bildirilmiştir. Antioksidan etki mekanizmalarından bir diğeri olan şelatlama kapasitesi CUPRAC metodu ile araştırılmıştır. Uysal vd. (2022) *P. terebinthus* yapraklarından hazırladıkları etil asetat, metanol ve su ekstrelerinden metanol ekstresinin $2.67 \pm 0.01 \text{ mmol TE/g}$ ekstre şelatlama kapasitesi ile en kuvvetli etkiyi gösterdiğini bildirmişlerdir. *Pistacia* yaprakları üzerinde yapılan bakır şelatlama çalışmaları kısıtlı olmakla birlikte tentatif tanımlanan bazı bileşiklerin şelatlayıcı etkilerine dair çalışmalar incelenmiştir. Literatür bilgileri derlendiğinde, radikal süpürücü etkinliğe paralel olarak flavonollerin diğer flavonoidlerden; mirsetin'in kersetin ve kemferolden daha kuvvetli şelatlayıcı ajanlar olduğuna dair bulgular mevcuttur. Jomova vd. (2017) bakır(II) ile indüklenen oksidatif stres karşısında mirsetin ve kersetinin kemferole kıyasla iki kat daha kuvvetli etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Lee ve Heffern (2022) benzer şekilde bakır şelatlama gücünde mirsetin > kersetin > kemferol sıralamasının izlendiğini raporlamıştır. Ekstrelerde tanımlanan flavonoid dışı bileşikler için ise Baratto vd. (2009) galloilkinik asitlerde galloil sayısı ile bakır şelatlayıcı etkinliğin paralel bir şekilde arttığını raporlamıştır.

Tez kapsamında, ekstrelerin tirozinaz enzim inhibisyonu üzerine elde edilen bulgulara göre, *P. atlantica* dışındaki üç türe ait metanol ekstrelerinin pozitif kontrol olan kojik asitten daha kuvvetli bir şekilde inhibisyon yaptığını göstermiştir. Elloumi vd. (2022) su

distilasyonu ile uçucu yağı alınmış *P. lentiscus* yapraklarından ekstraksiyon ve fraksiyonlama aşamaları sonrası elde edilen etil asetat fraksiyonunun tirozinaz enzimi üzerine etkisini incelemiş ve IC₅₀ değerini 123 µg/mL olarak bulmuştur. Bu ekstreden kersetin-3-O-ramnozit, mirsetin-3-O-ramnozit ve kemferol-3-O-ramnozit bileşikleri izole edilmiştir. Kersitrin ile mirsitrin'in IC₅₀ değerleri sırasıyla 49 µg/mL ve 34 µg/mL olarak bulunurken kojik asit için bu değer 20 µg/mL olarak raporlanmıştır. Bir başka tirozinaz üzerine olan çalışmada, *P. atlantica* yaprak ve yaprak tomurcukları değerlendirilmiş ve metanolik yaprak tomurcuğu ekstresinin IC₅₀ değeri 0.098 ± 0.005 mg/mL olarak bulunmuştur (Benmahieddine vd., 2023). Uysal vd. (2022) *P. terebinthus* yapraklarından hazırladıkları etil asetat, metanol ve su ekstrelerinin tirozinaz inhibisyonlarını kojik asit'e eşdeğer olarak vermiş ve sırasıyla 132.60 ± 1.42 mg_{KAE}/g_{ekstre}, 159.23 ± 0.14 mg_{KAE}/g_{ekstre} ve 134.33 ± 0.15 mg_{KAE}/g_{ekstre} aktivite sonuçları ile en kuvvetli inhibisyonun metanol ekstresinde gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Chiocchio vd. (2018), 50 µg/mL konsantrasyonda *P. lentiscus* yaprak etanol ekstresinin %78, *P. terebinthus* yaprak etanol ekstresinin ise %68 oranda tirozinaz inhibisyonu yaptığını belirlemiştir.

Elastaz inhibisyon bulguları değerlendirildiğinde metanol ekstrelerinin (*P. atlantica* hariç) oldukça kuvvetli etkinlik gösterdiği saptanırken *P. terebinthus* *P. lentiscus* ve *P. vera* için IC₅₀ değerleri sırasıyla 27.78 ± 0.99 µg/mL, 37.45 ± 2.97 µg/mL ve 55.88 ± 2.69 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Tez kapsamında seçilen türlerin yaprakları üzerine literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Elloumi vd. (2022) su distilasyonu ile uçucu yağı alınmış *P. lentiscus* yapraklarından ekstraksiyon ve fraksiyonlama aşamaları sonrası elde edilen etil asetat fraksiyonunun elastaz enzimi üzerine etkisini de incelemiştir. Etil asetat fraksiyonunun IC₅₀ değeri 19 µg/mL, pozitif kontrol olarak kullanılan EGCG'nin IC₅₀ değeri ise 12 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bu ekstreden izole edilen kersitrin ve mirsitrin'in ise IC₅₀ değerleri sırasıyla 86 µg/mL ve 45 µg/mL olarak bulunurken saf bileşiklerin ekstre kadar etkinlik göstermediği bildirilmiştir. Chiocchio vd. (2018), 50 µg/mL konsantrasyonda *P. lentiscus* yaprak etanol ekstresinin %74, *P. terebinthus* yaprak etanol ekstresinin ise %58 oranda elastaz inhibisyonu yaptığını belirlemiştir. Mechqoq vd. (2022) *P. lentiscus* yaprak metanol ekstresinin 300 µg/mL konsantrasyonda elastaz enzimini %57.70 ± 5.54 oranında inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Bouriche vd. (2016) ise *P. lentiscus* yapraklarından hazırlanan metanol ve su ekstrelerinin insan nötrofil elastazını 100 µg/mL konsantrasyonda sırasıyla %82 ve %90 oranında

inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Ayaz Tilkat vd. (2021) *P. khinjuk* yaprak etanol ekstralarının 50 µg/mL’de %58.25 oranında elastaz inhibisyonu yaptığını bildirmiş ve aynı konsantrasyonda kullanılan oleanolik asitten (%39.46 ± 0.52) daha etkili olduğunu bulmuşlardır. *P. lentiscus* yaprak metanol ekstresinin 200 µg/mL konsantrasyonda kolajenazı %78.51 ± 2.27 oranında inhibe ettiği bildirilmiştir (Mechqoq vd., 2022). Tez bulgularında, 250 µg/mL konsantrasyonda *P. vera* su (%88.4) ve metanol (%93.4) ekstraları kolajenaz enzimine karşı kuvvetli inhibisyon gösterirken bu etki epigallokateşin gallat kadar kuvvetli değildir.

Ön çalışma bulguları değerlendirildiğinde ana ekstrenin hazırlanması amacıyla *P. terebinthus* türü seçilmiştir. Elde edilen ana ekstreden poliamit kolon kullanılarak sekiz adet fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar üzerine araştırmaların ilerletilmesinde tirozinaz ve elastaz enzimlerine olan potansiyel etkiler belirleyici olmuştur. Hedef enzimler üzerine yapılan araştırmalarda A kodlu fraksiyon etkisiz bulunmuştur. B kodlu fraksiyon elastaz inhibisyonu gösterirken C, D, E, F, G, H fraksiyonları değişen oranlarda her iki enzimi de inhibe etmiştir. Ancak fraksiyonların hedef enzimler üzerine inhibisyon kuvvetleri ana ekstre kadar kuvvetli değildir. Bu sonuç da ekstreyi oluşturan sekonder metabolitlerin birlikte çalışarak sinerjik etki gösterdiklerine işaret etmiştir. Bu düşüncüyü doğrulamak adına, fraksiyonlarda hedef enzimlere karşı kombinasyon çalışmaları da yürütülmüş, fraksiyonlar arası etkileşim sinerjik, additif ve antagonistik şeklinde değerlendirilmiştir. Elastaz enzimi inhibisyonunda, ana ekstrenin IC₅₀ değeri 38.25 ± 3.22 µg/mL olarak bulunurken buna en yakın etki B kodlu fraksiyonda gözlemlenmiştir (IC₅₀ 150.55 ± 3.04 µg/mL). Bunu H kodlu fraksiyon takip ederken (IC₅₀ 335.99 ± 3.36 µg/mL) G (IC₅₀ 486.37 ± 8.89 µg/mL), E (IC₅₀ 509.09 ± 0.99 µg/mL) ve F (IC₅₀ 726.83 ± 27.37 µg/mL) kodlu fraksiyonlar elastaz inhibitörü olarak değerlendirilmiştir. Ana ekstrenin fraksiyonlanması ile anti-elastaz etkinin zayıflaması üzerine olası sinerjik aktivitenin incelenmesi için Chou-Talalay kombinasyon indeksleri hesaplanmış ve yalnızca E + H kombinasyonun tüm konsantrasyon noktalarında sinerjik etki gösterdiği belirlenmiştir. B kodlu fraksiyon ise genel olarak diğer fraksiyonlar ile additif veya zayıf antagonistik etkiler göstermiştir. Tirozinaz üzerine yapılan çalışmada ise benzer şekilde fraksiyonlama ile etkinin azaldığı belirlenmiştir. Ana ekstrenin IC₅₀ değeri 8.69 ± 0.59 µg/mL olarak bulunurken en aktif bulunan F, G ve H kodlu fraksiyonların IC₅₀ değerleri sırasıyla 137.82 ± 6.73 µg/mL, 102.85 ± 5.62 µg/mL ve 224.23 ± 5.81 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Kojik asit’in IC₅₀ değeri ise 12.02 ± 0.41 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu

sebeple elastazda olduğu gibi sinerjik aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiş ve F, G ve H kodlu fraksiyonlar arasında kuvvetli sinerjik etkiler gözlemlenmiştir.

F, G, H kodlu fraksiyonların tirozinaz üzerine kuvvetli etkileri ve kendi aralarındaki kombinasyonların sinerjik etki göstermesi oldukça önemli bir bulgudur. Yapılan YPSK-KS/KS analizinde de bu üç fraksiyonun profilleri farklılıklar göstermekle birlikte benzerdir. F kodlu fraksiyonda ise mirsetin-*O*-galloil-ramnozit ve 3,5-*O*-digalloil kinik asit ana maddeler olarak bulunurken bir başka di-*O*-galloilkinik asit izomeri üçüncü ana bileşen olarak tespit edilmiştir. G kodlu fraksiyonun ana bileşenleri arasında 3,5-*O*-digalloil kinik asit, di-*O*-galloilkinik asit izomeri ve metil gallat'a ek olarak mirsetin-*O*-digalloil-*O*-ramnozit ile mirsetin-*O*-digalloil-*O*-pentozit yapıları tentatif olarak tanımlanmıştır. H kodlu fraksiyonda 3,5-*O*-digalloil kinik asit, di-*O*-galloilkinik asit izomeri ve metil gallat bileşiklerine ek olarak tri-*O*-galloilkinik asit ile pentagalloil glukoz ana bileşenler arasında yer almıştır. Tez çalışmasının devamında F, G, H kodlu fraksiyonlara odaklanılmıştır. Bu kapsamda, son yıllarda giderek artan bir öneme sahip olan YPİTK-EYA tekniği kullanılmıştır. Bitkisel ekstrelerde yapılan aktivite çalışmalarında gözlemlenen bir etki o ekstrenin içinde bulunan çok sayıda bileşik, yalnızca bir bileşik veya ekstre bileşimini oluşturan bileşiklerin sinerjik etkileşimlerinden kaynaklanabilmektedir. Bu etkinin anlamlandırılabilmesi ekstrelerde yapılan aktivite çalışmalarının önündeki en büyük zorluklardan birisidir. Bu noktada bilinen ve en sık kullanılan metodoloji 'aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama' tekniğidir. Ancak bu teknik uzun zaman alması, birden çok fraksiyonlama basamakları barındırması ve birden çok kez konsantrasyon ayarlaması ile biyolojik aktivite testlerinin gerçekleştirilmesi ihtiyaı gibi dezavantajlar barındırmaktadır. YPİTK-EYA ise bu zorlukların üstesinden gelen modern ve pratik bir tekniktir. Karışım içindeki bileşiklerin birbirinden kromatografik olarak kuvvetli bir şekilde ayrımı için YPİTK kritik bir öneme sahiptir. Ekstrelerin tek bir plak üzerinde ayrımları sağlandıktan sonra ise hedeflenen aktivite doğrudan plak üzerinde gerçekleştirilir. YPİTK-EYA ile bir karışım içindeki etkili bileşikler klasik fraksiyonlama yöntemine göre daha kısa sürede, daha az numune ve kimyasal tüketilerek gerçekleştirilmektedir. Ayrıca yüksek tekrarlanabilirlik, yüksek çözünürlük, hızlı taramaya olanak sağlar. Bu noktada, fraksiyonlar YPİTK ile kromatografik olarak başarılı bir şekilde ayrılmış ve doğrudan enzim substrat reaksiyonunun plak üzerinde gerçekleştirilmesi sağlanmıştır. Bu doğrultuda YPİTK ile tirozinaz enzim inhibisyonu biyootografik olarak gerçekleştirildikten sonra etkili bileşikler preparatif-İTK yoluyla

izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapı tayininde kütle spektrometrisi, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve iki boyutlu NMR yöntemlerinden yararlanılmıştır. Analizler sonucunda 3,5-di-*O*-galloilkinik asit, 3,4-di-*O*-galloilkinik asit, metil gallat ve mirsetin-3-*O*-(3"-*O*-galloil) ramnozit bileşikleri etkili bileşikler tanımlanmıştır. Tezdeki hedef aktiviteler dikkate alındığında, tanımlanan bileşiklerle ilgili olarak literatürde kısıtlı veriye ulaşılmaktadır. Metil gallat üzerine yapılan bir çalışmada, tirozinazı IC_{50} 5.32 ± 0.23 $\mu\text{g/mL}$ değeri ile yarışmalı bir şekilde inhibe ettiği ve metillenme sayesinde hücre içi alımının gallik asitten çok daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Peng vd., 2022). Galloilkinik asitler üzerine yapılan bir çalışma ise 3,5-di-*O*-galloilkinik asit'in monogalloil kinik asitlerden, 5-*O*-galloilkinik asit'in ise 3-*O*-galloilkinik asitten daha kuvvetli bir şekilde tirozinazı inhibe ettiğini bildirmiştir. Bunun neticesinde galloil sayısı ve pozisyonlarının etkiyi modifiye ettiğini ve bunun da tirozinaz merkezinde bulunan bakırın şelatlanma gücüne bağlı olduğu vurgulanmıştır (Zhang vd., 2021). Mirsetin-*O*-(galloil)-*O*-ramnozit'in tirozinaz aktivitesi ise ilk kez bu tez kapsamında ortaya konulmuştur.

Tez bulguları genel olarak değerlendirildiğinde, ülkemizde yetişen *Pistacia* cinsine ait dört türde 63 adet bileşik tespit edilmiştir. *Pistacia* türlerinin yaprakları üzerine yapılan sekonder metabolit çalışmaları özellikle alkollü ve sulu ekstraktların çoğunlukla gallik tanenler, galloilkinik asitler, dihidroksi benzoik asit türevleri, flavan-3-ol yapıları, flavonol yapıları (mirsetin, kersetin ve kemferol) ve bunların galloil veya şeker birimleri ile yaptığı esterler, gallik asit ve metil gallat gibi bileşikler ile karakterize olduğunu ortaya koymuştur. Literatür taramaları neticesinde kersetin-*O*-galloil-*O*-heksosit, kersetin-*O*-galloil-*O*-ramnozit ve mirsetin-*O*-galloil-*O*-heksosit daha önce *Pistacia* meyve kabuklarında tanımlanırken tez çalışmamız kapsamında ilk kez bir *Pistacia* yaprağında tanımlanmıştır. Kersetin-*O*-digalloil-*O*-ramnozit, mirsetin-*O*-digalloil-*O*-pentozit ve kersetin-*O*-galloil-*O*-rutinozit ise ilk kez bir *Pistacia* türünde tanımlanan bileşik olma özelliği göstermiştir. Buna ek olarak kersetin-*O*-heksosit, mirsetin-*O*-rutinozit, (epi)kateşin monogallat ve tetragalloil glukoz *P. atlantica* veya *P. lentiscus* yapraklarında daha önce tanımlanırken *P. terebinthus* yapraklarında ise ilk kez tespit edilmiştir. Ayrıca fraksiyonlardaki etkili bileşiklerin doğrudan tespitinde ve izolasyonunda YPİTK-EYA-tirozinaz yöntemi başarılı bir şekilde uygulanmış ve bu yöntem *P. terebinthus* ekstresinden elde edilen fraksiyonlar açısından ilk olma özelliği göstermekte ve literatüre kazandırılmaktadır. Hedef enzimler açısından tez çalışması değerlendirildiğinde,

tirozinaz inhibisyonu *P. vera* yapraklarında ilk kez araştırılmıştır. Elastaz aktivitesi ise *P. atlantica* ve *P. vera* için ilk olma özelliği taşımaktadır. Kolajenaz enzim çalışmaları ise *P. lentiscus* dışındaki üç tür için ilk kez gerçekleştirilmiştir. Bu bulgulara ek olarak, fraksiyonlama çalışmaları için hedef olarak belirlenen tirozinaz ve elastaz enzimleri çalışmalarında ana ekstrenin elde edilen fraksiyonlardan daha güçlü inhibisyon kuvvetine sahip olması ve elde edilen fraksiyonlardaki kombinasyon çalışmaları verileri, ana ekstrenin içeriğinde bulunan sekonder metabolitlerin sinerjik olarak aktiviteyi güçlendirdiği sonucuna varılmaktadır.

Bitkisel kaynaklı fitokozmetik ürün geliştirme amacı taşıyan çalışmalar farmakognozi alanında gün geçtikçe artmaktadır. Bu noktada, farmakognozik metotlara ek olarak “aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama/izolasyon” çalışmalarının zenginleşmesi ve bunun devamında fraksiyon/izole edilen bileşikler üzerinde yürütülecek olan yapı-etki ilişkileri ve sinerjik etki araştırmaları bu çalışmanın çıktıları açısından önem taşımaktadır. Bu doğrultuda, tez kapsamında izole edilen bileşiklerin bireysel enzim inhibisyonlarının ve kombinasyonlarının değerlendirilmesi tez bulgularını destekleyecek önemli ileri araştırmalar olacaktır. Ayrıca *in silico* modelleme yaklaşımları ile enzim-bileşik etkileşiminin detaylandırılması bu çalışmaların niteliğini arttıracaktır.

Buna ek olarak, günümüzde oldukça popüler olan doğal kaynaklı leke açıcı, anti-aging, cilt esnekliğini ve dolgunluğunu sağlayan ürünlerin geliştirilmesi ve tasarımı açısından tez çalışmalarının sonuçları bu alanda çalışan araştırmacı ve firma sahiplerine kaynak teşkil edecektir. Fitokozmetik ürün potansiyeli olan ana ekstre üzerinde yapılacak formülasyon çalışmaları, güvenlik ve etkinlik testlerinin planlanmasıyla multidisipliner yeni çalışmaların yolunu açacaktır. Özellikle *P. terebinthus* metanol ekstresinden kozmetik amaçlı ürün olarak geliştirilmesi, ileriki çalışmalar için anahtar rol üstlenmektedir. Bu kapsamda ana ekstrede standardizasyon çalışmalarının yapılarak standardize ekstre elde edilmesi etkinlik, güvenli konsantrasyon ve güvenlik açısından gereklidir. Standardize ekstrenin ve geliştirilecek ürünlerde etkinin *in vitro* ve *in vivo* araştırmalarla desteklenmesi ve toksisite profilinin belirlenmesi fitokozmetik ürün geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Tez çalışmaları özetlendiğinde;

Amaç	Tez Bulguları	Değerlendirme
<i>Pistacia</i> L. türlerinin fitokozmetik potansiyellerini değerlendirmek	✓ <i>In vitro</i> aktivite tayinleri	✓ <i>Pistacia</i> L. türlerinin fitokozmetik potansiyellerinin değerlendirilmesinde dört farklı tür tirozinaz, elastaz ve kolajenaz enzim inhibisyonları ile antioksidan aktivite tayinleri başarılı bir şekilde değerlendirilmiştir.
<i>Pistacia</i> L. türlerinin fitokimyasal içeriklerini belirlemek	✓ YPSK-KS/KS analizi ✓ YPİTK analizi ✓ YPİTK-EYA analizi ✓ Preparatif-İTK	✓ Dört türün fitokimyasal bileşenleri YPSK-KS/KS ile detaylı bir şekilde araştırılmış ve literatüre cins, tür veya bitki kısmı bazında ilk defa tanımlanan bileşikler kazandırılmıştır.
Fitokozmetik açıdan potansiyeli en yüksek türü belirlemek	✓ <i>Pistacia terebinthus</i>	✓ Fitokozmetik bakımdan en etkili tür <i>P. terebinthus</i> olarak değerlendirilmiş ve tez çalışmaları ilerletilmiştir.
Etkili bileşikleri belirlemek	✓ Ana ekstrede sinerjiye dayalı yüksek etki bulunmuştur. ✓ Kütle Spektrometrisi, tek boyutlu ve iki boyutlu NMR analizleri ✓ Doğrudan tirozinaz inhibitörü olarak 4 adet bileşik izole edilmiş ve tanımlanmıştır.	✓ Tirozinaz inhibitör özellikli dört bileşen: Metil gallat, 3,5-di-O-Galloilkinik asit, 3,4-di-O-Galloilkinik asit Mirsetin-3-O-(3"-O-galloil) ramnozit olarak tanımlanmıştır. ✓ Mirsetin-3-O-(3"-O-galloil) ramnozit ilk kez etkili bir tirozinaz inhibitörü olarak literatüre kazandırılmıştır.
Ürün potansiyeli olabilecek ekstre/fraksiyon/etkili bileşikleri belirlemek	✓ Ana ekstrede yüksek aktivite ✓ F, G, H kodlu fraksiyonlarda tirozinaz inhibisyonunda yüksek etki ✓ B kodlu Fraksiyon ise Elastaz ve Tirozinaz enzimleri açısından detaylı araştırılmalıdır.	✓ Ana ekstrede Standardizasyon ve formülasyon çalışmaları önerilmektedir. ✓ F, G, H kodlu fraksiyonların Tirozinaz enzim inhibisyonları detaylı bir şekilde tez çalışmaları ile ortaya konmuştur. ✓ B kodlu fraksiyon üzerinde detaylı araştırmalar Tübitak 1002B projesi kapsamında değerlendirilecektir. Proje kabul edilmiş ve sözleşme aşamasındadır.
Etkili bileşiklerin potansiyellerini belirlemek	✓ Ana ekstrede hareketle 4 adet tirozinaz inhibisyonundan doğrudan sorumlu bileşik tanımlanmıştır.	✓ Tanımlanan bileşikler için önerilen ileriki çalışmalar; *Bireysel enzim etkinlikleri (<i>in vitro</i>) * <i>in silico</i> modelleme ile enzim-bileşik etkileşiminin anlaşılması *Bileşik + kojik asit kombinasyonlarının enzim inhibisyonları açısından değerlendirilmesi *Gerekli görülmesi durumunda formülasyon çalışmaları ile toksisite testlerinin yapılması

KAYNAKÇA

- Abdelwahed, A., Bhourri, W., Neffati, A., Sghaier, M. B., Boubaker, J., Bouhlel, I., Skandrani, I., Ben Ammar, R., Ghedira, K., ve Chekir-Ghedira, L. (2009). Antigenotoxic and antioxidant activities of fruit extracts from (Tunisian) *Pistacia lentiscus*. *Food Science and Technology International*, 15(3), 215-222. <https://doi.org/10.1177/1082013209339705>
- Abidi, J., Ammar, S., Brahim, S. B., Skalicka-Woźniak, K., Ghrabi-Gammar, Z., ve Bouaziz, M. (2019). Use of ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry system as valuable tool for an untargeted metabolomic profiling of *Rumex tunetanus* flowers and stems and contribution to the antioxidant activity. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 162, 66-81. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.09.001>
- Achili, I., Amrani, A., Bensouici, C., Gül, F., Altun, M., Demirtas, I., Zama, D., Benayache, F., ve Benayache, S. (2020). Chemical constituents, antioxidant, anticholinesterase and antiproliferative effects of Algerian *Pistacia atlantica* Desf. extracts. *Recent patents on food, nutrition & agriculture*, 11(3), 249-256. <https://doi.org/10.2174/2212798411666200207101502>
- Ahmed, Z. B., Yousfi, M., Viaene, J., Dejaegher, B., Demeyer, K., Mangelings, D., ve Vander Heyden, Y. (2018). Potentially antidiabetic and antihypertensive compounds identified from *Pistacia atlantica* leaf extracts by LC fingerprinting. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 149, 547-556. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.049>
- Ahmed, Z. B., Yousfi, M., Viaene, J., Dejaegher, B., Demeyer, K., Mangelings, D., ve Vander Heyden, Y. (2016). Antioxidant activities of *Pistacia atlantica* extracts modeled as a function of chromatographic fingerprints in order to identify antioxidant markers. *Microchemical journal*, 128, 208-217. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.04.023>
- Ait Said, S., Fernandez, C., Greff, S., Derridj, A., Gauquelin, T., ve Mevy, J. P. (2011). Inter-population variability of leaf morpho-anatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 206(4), 397-405. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2010.08.002>
- Akyuz, M., Yabo-Dambagi, L., Kilic, T., ve Cakir, A. (2022). Antidiabetic, neuroprotective and antioxidant potentials of different parts of *Pistacia terebinthus* fruits. *South African Journal of Botany*, 147, 443-456. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.01.040>
- Alipour, H., Raz, A., Zakeri, S., ve Djadid, N. D. (2016). Therapeutic applications of collagenase (metalloproteases): A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(11), 975-981. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.07.017>
- Alma, M. H., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F. T., ve Yilmaz, N. (2004). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish pistachio (*Pistacia vera* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(12), 3911-3914. <https://doi.org/10.1021/jf040014e>

- Altuntaş, E., Gül, E. N., ve Gök, H. (2020). Physical, mechanical and chemical properties of terebinth fruit and seeds. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(6), 1518–1528. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogav23i54846.722274>
- Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Falé, P. L., Serralheiro, M. L., ve Araújo, M. E. M. (2014). Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*, 53, 6-15. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.008>
- Amri, O., Zekhnini, A., Bouhaimi, A., Tahrouch, S., ve Hatimi, A. (2018). Anti-inflammatory activity of methanolic extract from *Pistacia atlantica* Desf. leaves. *Pharmacognosy Journal*, 10(1). <https://doi.org/10.5530/pj.2018.1.14>
- Anagnostou, C., Beteinakis, S., Papachristodoulou, A., Pachi, V. K., Dionysopoulou, M., Dimou, S., Diallinas, G., Skaltsounis, L.A., ve Halabalaki, M. (2023). Phytochemical investigation of *Pistacia lentiscus* L. var. Chia leaves: A byproduct with antimicrobial potential. *Fitoterapia*, 170, 105648. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105648>
- Aouinti, F., Imelouane, B., Tahri, M., Wathelet, J. P., Amhamdi, H., ve Elbachiri, A. (2014). New study of the essential oil, mineral composition and antibacterial activity of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *Research on Chemical Intermediates*, 40, 2873-2886. <https://doi.org/10.1007/s11164-013-1134-z>
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Asma, A., Boumediene, T., Mohammed, B., Nourelhouda, T., ve Mebrouka, B. (2016). Antibacterial activity and physicochemical characteristics of *Pistacia atlantica* extracts. *Der Pharma Chemica*, 8(12), 162-68.
- Ayaz-Tilkat, E. (2021). Increasing the production of some specific cytotoxic triterpenoids and evaluation of the morpho-physiological response associated with in vitro salt stress in *Pistacia khinjuk* Stocks. *Journal of Chemical Metrology*, 15(1).
- Baratto, M. C., Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Romani, A., Visioli, F., Basosi, R., ve Pogni, R. (2003). Antioxidant activity of galloyl quinic derivatives isolated from *P. lentiscus* leaves. *Free radical research*, 37(4), 405-412. <https://doi.org/10.1080/1071576031000068618>
- Barrantes, E., ve Guinea, M. (2003). Inhibition of collagenase and metalloproteinases by aloins and aloe gel. *Life sciences*, 72(7), 843-850. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(02\)02308-1](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(02)02308-1)
- Barrero, A. F., Herrador, M. M., Arteaga, J. F., Akssira, M., Mellouki, F., Belgarrabe, A., ve Blázquez, M. A. (2005). Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. *Journal of Essential Oil Research*, 17(1), 52-54. <https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698828>

- Batovska, D., ve Inbar, M. (2024). Beyond the nut: *Pistacia* leaves as natural food preservatives. *Foods*, 13(19), 3138. <https://doi.org/10.3390/foods13193138>
- Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., Benmahieddine, A., Menni, D. B., El Zerey-Belaskri, A., Di Marco, G., Canini, A., Assadpour, E., Gismondi, A., Sarabandi, K., ve Jafari, S. M. (2024). Atlas pistachio (*Pistacia atlantica*) unripe fruit extract as a source of phytochemicals with anti-tyrosinase, antioxidant, and antibacterial properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 57, 103143. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103143>
- Benabderrahmane, M., Benali, M., Aouissat, H., ve Bueso, M. J. J. (2009). Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie. *Phytothérapie*, 7(6), 304-308. <https://doi.org/10.1007/s10298-009-0505-5>
- Benamar, H., Rached, W., Derdour, A., ve Marouf, A. J. J. O. B. S. (2010). Screening of Algerian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Biological Sciences*, 10(1), 1-9. <https://doi.org/10.3923/jbs.2010.1.9>
- Benmahieddine, A., Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., Amari, N. O., Zerey-Belaskri, A. E., Gismondi, A., Di Marco, G., Canini, A., Habi, S., Bekkara, F.A., ve Djebli, N. (2023). Leaf-buds of *Pistacia atlantica*: A novel source of bioactive molecules with high anti-inflammatory, antioxidant, anti-tyrosinase and antimicrobial properties. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 29(2), 209-219. <https://doi.org/10.1007/s12298-023-01290-z>
- Boudjelal, A., Napoli, E., Benkhalel, A., Benazi, L., Bey, R., Gentile, D., ve Ruberto, G. (2022). *In vivo* wound healing effect of Italian and Algerian *Pistacia vera* L. resins. *Fitoterapia*, 159, 105197. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2022.105197>
- Bouriche, H., Saidi, A., Ferradji, A., Belambri, S. A., ve Senator, A. (2016). Anti-inflammatory and immunomodulatory properties of *Pistacia lentiscus* extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(7), 140-146. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60721>
- Bousslama, L., Benzekri, R., Nsaibia, S., Papetti, A., ve Limam, F. (2020). Identification of an antiviral compound isolated from *Pistacia lentiscus*. *Archives of Microbiology*, 202, 2569-2578. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01980-2>
- Bouyahya, A., Assemian, I. C. C., Mouzount, H., Bourais, I., Et-Touys, A., Fellah, H., Benjouad, A., Dakka, N., ve Bakri, Y. (2019). Could volatile compounds from leaves and fruits of *Pistacia lentiscus* constitute a novel source of anticancer, antioxidant, antiparasitic and antibacterial drugs?. *Industrial crops and products*, 128, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.001>
- Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Salehi Surmaghi, M. H., Shams-Ardekani, M. R., ve Rahimi, R. (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *The Scientific World Journal*, 2013(1), 219815. <https://doi.org/10.1155/2013/219815>

- Cadenas, E., ve Davies, K. J. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free radical biology and medicine*, 29(3-4), 222-230. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00317-8](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00317-8)
- Cardullo, N., Muccilli, V., Cunsolo, V., ve Tringali, C. (2020). Mass spectrometry and ¹H-NMR study of *Schinopsis lorentzii* (Quebracho) tannins as a source of hypoglycemic and antioxidant principles. *Molecules*, 25(14), 3257. <https://doi.org/10.3390/molecules25143257>
- Cestari, T. F., Dantas, L. P. ve Boza, J. C. (2014). Acquired hyperpigmentations. *Anais brasileiros de dermatologia*, 89, 11-25. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20142353>
- Chang, T. S. (2012). Natural melanogenesis inhibitors acting through the down-regulation of tyrosinase activity. *Materials*, 5(9), 1661-1685. <https://doi.org/10.3390/ma5091661>
- Chaves, N., Nogales, L., Montero-Fernández, I., Blanco-Salas, J., ve Alías, J. C. (2023). Mediterranean shrub species as a source of biomolecules against neurodegenerative diseases. *Molecules*, 28(24), 8133. <https://doi.org/10.3390/molecules28248133>
- Chiocchio, I., Mandrone, M., Sanna, C., Maxia, A., Tacchini, M., ve Poli, F. J. I. C. (2018). Screening of a hundred plant extracts as tyrosinase and elastase inhibitors, two enzymatic targets of cosmetic interest. *Industrial crops and products*, 122, 498-505. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.029>
- Clifford, M. N., Stoupi, S., ve Kuhnert, N. (2007). Profiling and characterization by LC-MS n of the galloylquinic acids of green tea, tara tannin, and tannic acid. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(8), 2797-2807. <https://doi.org/10.1021/jf063533l>
- Davis P.H, Cullen J., Coode M.J.E., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Volume 2, Edinburgh University Press, 1967.
- Dellai, A., Souissi, H., Borgi, W., Bouraoui, A., ve Chouchane, N. (2013). Antiinflammatory and antiulcerogenic activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Industrial Crops and Products*, 49, 879-882. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.010>
- Deniz, F. S. S., Orhan, I. E., ve Duman, H. (2021). Profiling cosmeceutical effects of various herbal extracts through elastase, collagenase, tyrosinase inhibitory and antioxidant assays. *Phytochemistry Letters*, 45, 171-183. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2021.08.019>
- Dimas, K., Hatziantoniou, S., Wyche, J. H., ve Pantazis, P. (2009). A mastic gum extract induces suppression of growth of human colorectal tumor xenografts in immunodeficient mice. *in vivo*, 23(1), 63-68
- Dogra, S. ve Sarangal, R. (2014). Pigmentary disorders: An insight. *Pigment International*, 1(1), 5-7. <https://doi.org/10.4103/2349-5847.135429>

- Dragull, K., Beck, J. J., ve Merrill, G. B. (2010). Essential oil yield and composition of *Pistacia vera* 'Kerman' fruits, peduncles and leaves grown in California. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(4), 664-668. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3865>
- Duru, M. E., Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Harmandar, M., Izumi, S., ve Hirata, T. (2003). Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia*, 74(1-2), 170-176. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00318-0](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00318-0)
- El Bishbishy, M. H., Gad, H. A., ve Aborehab, N. M. (2020). Chemometric discrimination of three *Pistacia* species via their metabolic profiling and their possible in vitro effects on memory functions. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 177, 112840. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.112840>
- El Zerey-Belaskri, A., Belyagoubi-Benhammou, N., ve Benhassaini, H. (2022). From traditional knowledge to modern formulation: potential and prospects of *Pistacia atlantica* desf. essential and fixed oils uses in cosmetics. *Cosmetics*, 9(6), 109. <https://doi.org/10.3390/cosmetics9060109>
- El Zerey-Belaskri, A., Cavaleiro, C., Romane, A., Benhassaini, H., ve Salgueiro, L. (2017). Intraspecific chemical variability of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* essential oil from Northwest Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 29(1), 32-41. <https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1185470>
- Elakremi, M. A. N. E. L., Sillero, L., Ayed, L. A. Z. H. E. R., Mannai, F., Ben Salem, R., Labidi, J., ve Moussaoui, Y. O. U. N. E. S. (2022). Chemical composition and biological activity of *Pistacia vera* L. Leaves: beneficial effects of female leaves extract on food products. *Cellulose Chemistry and Technology*, 56, 309-319. <https://doi.org/10.35812/CelluloseChemTechnol.2022.56.27>
- Elakremi, M., Sillero, L., Salem, R. B., Labidi, J., ve Moussaoui, Y. (2023). Chemical composition and biological activities of *Pistacia vera* L. leaves oil. *Chemistry Africa*, 6(5), 2393-2400. <https://doi.org/10.1007/s42250-022-00558-3>
- Elez Garofulić, I., Kruk, V., Martić, A., Martić, I., Zorić, Z., Pedisić, S., Dragovic, S., ve Dragović-Uzelac, V. (2020). Evaluation of polyphenolic profile and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. leaves and fruit extract obtained by optimized microwave-assisted extraction. *Foods*, 9(11), 1556. <https://doi.org/10.3390/foods9111556>
- Elloumi, W., Maalej, A., Ortiz, S., Michel, S., Chamkha, M., Boutefnouchet, S., ve Sayadi, S. (2022). *Pistacia lentiscus* L. distilled leaves as a potential cosmeceutical ingredient: Phytochemical characterization, transdermal diffusion, and anti-elastase and anti-tyrosinase activities. *Molecules*, 27(3), 855. <https://doi.org/10.3390/molecules27030855>
- Esmat, A., Al-Abbasi, F. A., Algandaby, M. M., Moussa, A. Y., Labib, R. M., Ayoub, N. A., ve Abdel-Naim, A. B. (2012). Anti-inflammatory activity of *Pistacia khinjuk* in different experimental models: isolation and characterization of its flavonoids and galloylated sugars. *Journal of medicinal food*, 15(3), 278-287. <https://doi.org/10.1089/JMF.2011.0099>

- Falahati, M., Sepahvand, A., Mahmoudvand, H., Baharvand, P., Jabbarnia, S., Ghoghghi, A., ve Yarahmadi, M. (2015). Evaluation of the antifungal activities of various extracts from *Pistacia atlantica* Desf. *Current medical mycology*, 1(3), 25. <https://doi.org/10.18869/acadpub.cmm.1.3.25>
- Farage, M. A., Miller, K. W., Elsner, P., ve Maibach, H. I. (2008). Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *International journal of cosmetic science*, 30(2), 87-95. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2007.00415.x>
- Farhoosh, R., Tavakoli, J., ve Khodaparast, M. H. H. (2008). Chemical composition and oxidative stability of kernel oils from two current subspecies of *Pistacia atlantica* in Iran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85, 723-729. <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1258-2>
- Fattahifar, E., Barzegar, M., Gavlighi, H. A., ve Sahari, M. A. (2018). Evaluation of the inhibitory effect of pistachio (*Pistacia vera* L.) green hull aqueous extract on mushroom tyrosinase activity and its application as a button mushroom postharvest anti-browning agent. *Postharvest Biology and Technology*, 145, 157-165. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.07.005>
- Fayad, S., Morin, P. ve Nehmé, R. (2017). Use of chromatographic and electrophoretic tools for assaying elastase, collagenase, hyaluronidase, and tyrosinase activity. *Journal of Chromatography A*, 1529, 1-28. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.11.003>
- Firat, K., Nisari, M., Metin, İ., Firat, Y. Y., Karatoprak, G. Ş., ve Hamurcu, Z. (2024). Effect of *Pistacia Terebinthus* (terebinth) resin extract on aggressive breast cancer cells. *Toxicology Research*, 13(2), tfae046. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfae046>
- Fidan, M. S., Baltacı, C., Öz, M., ve Akar, Z. (2023). Chemical Composition of *Pistacia terebinthus* L. and its Phytochemical and Biological Properties. *BioResources*, 18(4). <https://doi.org/10.15376/biores.18.4.6862-6881>
- Flamini, G., Bader, A., Cioni, P. L., Katbeh-Bader, A., ve Morelli, I. (2004). Composition of the essential oil of leaves, galls, and ripe and unripe fruits of Jordanian *Pistacia terebinthus* Boiss. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(3), 572-576. <https://doi.org/10.1021/jf034773t>
- Fulop, T., Khalil, A., ve Larbi, A. (2012). The role of elastin peptides in modulating the immune response in aging and age-related diseases. *Pathologie Biologie*, 60(1), 28-33. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.10.006>
- Gadouche, L., Alsoufi, A. S. M., Pacholska, D., Skotarek, A., Pączkowski, C., ve Szakiel, A. (2023). Triterpenoid and steroid content of lipophilic extracts of selected medicinal plants of the Mediterranean region. *Molecules*, 28(2), 697. <https://doi.org/10.3390/molecules28020697>
- Ghenima, A. I., Idir, M., Nadjet, M. G., Samia, M. A., Mihoub, Z. M., ve Karim, H. (2015). *In vitro* evaluation of biological activities of *Pistacia lentiscus* aqueous extract. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 7(11), 133-139.

- Gholami, M., Ghasemi-Niri, S. F., Maqbool, F., Baeeri, M., Memariani, Z., Pousti, I., ve Abdollahi, M. (2016). Experimental and Pathological study of *Pistacia atlantica*, butyrate, Lactobacillus casei and their combination on rat ulcerative colitis model. *Pathology-Research and Practice*, 212(6), 500-508. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2016.02.024>
- Gok, H. N., Pekacar, S., ve Orhan, D. D. (2022). Investigation of enzyme inhibitory activities, antioxidant activities, and chemical properties of *Pistacia vera* leaves using LC-QTOF-MS and RP-HPLC. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 21(1), e127033. <https://doi.org/10.5812/ijpr-127033>.
- Gourine, N., Yousfi, M., Bombarda, I., Nadjemi, B., ve Gaydou, E. (2010). Seasonal variation of chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Pistacia atlantica* Desf. leaves. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(2), 157-166. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1481-5>
- Guenane, H., Bentireche, F., Bellakhdar, A., Ould Elhadj, M. D., ve Yousfi, M. (2017). Total tocopherol content and antioxidant activity of fruit oil from *Pistacia atlantica* Desf. Growing wild in Algeria. *Der Pharma Chem*, 9(13), 153-7.
- Hajjaj, G., Bahlouli, A., Sayah, K., Tajani, M., Cherrah, Y., ve Zellou, A. (2017). Phytochemical screening and in-vivo antipyretic activity of the aqueous extracts of three Moroccan medicinal Plants. *Pharm. Biol. Eval*, 4, 188-192. <https://doi.org/10.26510/2394-0859.pbe.2017.30>
- Hajjaj, G., Chakour, R., Bahlouli, A., Tajani, M., Cherrah, Y., ve Zellou, A. (2018). Evaluation of CNS activity and anti-inflammatory effect of *Pistacia atlantica* desf. essential oil from Morocco. *Pharm Chem J*, 5, 86-94.
- Hamlat, N., Alqaraleh, M., Kasabri, K., Mizher, H., Hassani, A., Afifi, F., Alawi, S.A., Ouafi, S., ve Khwaldeh, A. (2024). Dual amylase/glucosidase inhibition, antilipolytic and antiproliferative potential of the aerial parts of *Pistacia atlantica*, *Pistacia lentiscus* and *Pistacia terebinthus* on a obesity related-colorectal cancer cell line panel. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 37(3), 131-137. <https://doi.org/10.2478/cipms-2024-0021>
- Hashemi, L., Asadi-Samani, M., Moradi, M. T., ve Alidadi, S. (2017). Anticancer activity and phenolic compounds of *Pistacia atlantica* extract. *Int J Pharm Phytopharmacol Res*, 7(2), 26-31. <https://doi.org/10.24896/eijppr.2017725>
- Hemma, R., Belhadj, S., Ouahchia, C., ve Saidi, F. (2018). Antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* methanolic extracts. *Agrobiologia*, 8(1), 845-852.
- Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O., ve Kondo, K. (2001). Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 47(5), 357-362. <https://doi.org/10.3177/jnsv.47.357>
- Hosseinzadeh, H., Behravan, E., ve Soleimani, M. M. (2011). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Pistacia vera* leafextract in mice. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 10(4), 821. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2011.1019>.

- Hou, A. J., Peng, L. Y., Liu, Y. Z., Lin, Z. W., ve Sun, H. D. (2000). Gallotannins and related polyphenols from *Pistacia weinmannifolia*. *Planta medica*, 66(07), 624-626. <https://doi.org/10.1055/s-2000-8633>
- Hwang, E. I., Ahn, B. T., Lee, H. B., Kim, Y. K., Lee, K. S., Bok, S. H., Kim, Y. T., ve Kim, S. U. (2001). Inhibitory activity for chitin synthase II from *Saccharomyces cerevisiae* by tannins and related compounds. *Planta medica*, 67(06), 501-504. <https://doi.org/10.1055/s-2001-16487>
- İçen, M. S., Yüce, H., Türkmen, N. B., Taşlıdere, A., Özek, D. A., ve Ünüvar, S. (2024). Protective Role of *Pistacia Terebinthus* Boiss Fruit and Leaf Extracts in Isoproterenol-Induced Cardiac Ischemia. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(1), 181-196. <https://doi.org/10.55262/fabadezczacilik.1361591>
- Jaradat, N., Al-Maharik, N., Hawash, M., Abualhasan, M. N., Qadi, M., Ayeshe, O., Abu Marar, R., Kharroub, H., Abu-Hait, T., Arar, M. S., ve Mousa, A. (2022). Essential oil composition, antimicrobial, cytotoxic, and cyclooxygenase inhibitory areas of activity of *Pistacia lentiscus* from Palestine. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 47(6), 6869-6879. <https://doi.org/10.1007/s13369-021-06555-x>
- Jomova, K., Lawson, M., Drostinova, L., Lauro, P., Poprac, P., Brezova, V., Micalik, M., Lukes, V., ve Valko, M. (2017). Protective role of quercetin against copper (II)-induced oxidative stress: A spectroscopic, theoretical and DNA damage study. *Food and Chemical Toxicology*, 110, 340-350. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.10.042>
- Karimi, A., ve Gafourian, A. (2020). In vitro anti-adenovirus activity and antioxidant potential of *Pistacia atlantica* Desf. leaves. *Research Journal of Pharmacognosy*, 7(2), 53-60. <https://doi.org/10.22127/rjp.2020.208324.1534>
- Kashaninejad, M., Mortazavi, A., Safekordi, A., ve Tabil, L. G. (2006). Some physical properties of Pistachio (*Pistacia vera* L.) nut and its kernel. *Journal of Food Engineering*, 72(1), 30-38. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.11.016>
- Kavak, D. D., Altıok, E., Bayraktar, O., ve Ülkü, S. (2010). *Pistacia terebinthus* extract: As a potential antioxidant, antimicrobial and possible β -glucuronidase inhibitor. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 64(3-4), 167-171. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2010.01.029>
- Kıvçak, B., Akay, S., Demirci, B., ve Başer, K. (2004). Chemical composition of essential oils from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* from Turkey. *Pharmaceutical biology*, 42(4-5), 360-366. <https://doi.org/10.1080/13880200490519677>
- Kim, K. E., Cho, D., ve Park, H. J. (2016). Air pollution and skin diseases: Adverse effects of airborne particulate matter on various skin diseases. *Life sciences*, 152, 126-134. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.03.039>
- Kirollos, F. N., Elhawary, S. S., Salama, O. M., ve Elkhawas, Y. A. (2019). LC-ESI-MS/MS and cytotoxic activity of three *Pistacia* species. *Natural product research*, 33(12), 1747-1750. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1428601>

- Koh, J. S., Kang, H., Choi, S. W., ve Kim, H. O. (2002). Cigarette smoking associated with premature facial wrinkling: image analysis of facial skin replicas. *International journal of dermatology*, 41(1), 21-27. <https://doi.org/10.1046/j.1365-4362.2002.01352.x>
- Kozachok, S., Pecio, Ł., Orhan, I. E., Deniz, F. S. S., Marchyshyn, S., ve Oleszek, W. (2020). Reinvestigation of *Herniaria glabra* L. saponins and their biological activity. *Phytochemistry*, 169, 112162. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.112162>
- Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P. J., Jaspars, M., Nahar, L., & Sarker, S. D. (2007). Screening seeds of some Scottish plants for free radical scavenging activity. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(7), 615-621. <https://doi.org/10.1002/ptr.2129>
- Labeled-Zouad, I., Ferhat, M., Öztürk, M., Abaza, I., Nadeem, S., Kabouche, A., ve Kabouche, Z. (2017). Essential oils composition, anticholinesterase and antioxidant activities of *Pistacia atlantica* Desf. *Rec Nat Prod*, 11(4), 411-415.
- Lee, V. J., ve Heffern, M. C. (2022). Structure-activity assessment of flavonoids as modulators of copper transport. *Frontiers in Chemistry*, 10, 972198. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.972198>
- Li, Y., Xia, W., Liu, Y., Remmer, H. A., Voorhees, J. ve Fisher, G. J. (2013). Solar ultraviolet irradiation induces decorin degradation in human skin likely via neutrophil elastase. *Plos one*, 8(8), e72563. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072563>
- Likhitwitayawuid, K., & Sritularak, B. (2001). A new dimeric stilbene with tyrosinase inhibitory activity from *Artocarpus gomezianus*. *Journal of Natural Products*, 64(11), 1457-1459. <https://doi.org/10.1021/np0101806>
- Ljubuncic, P., Song, H., Cogan, U., Azaizeh, H., ve Bomzon, A. (2005). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 198-204. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.03.006>
- Loo, Y. C., Hu, H. C., Yu, S. Y., Tsai, Y. H., Korinek, M., Wu, Y. C., Chang, F.R., ve Chen, Y. J. (2023). Development on potential skin anti-aging agents of *Cosmos caudatus* Kunth via inhibition of collagenase, MMP-1 and MMP-3 activities. *Phytomedicine*, 110, 154643. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154643>
- Losso, J. N., Munene, C. N., Bansode, R. R., ve Bawadi, H. A. (2004). Inhibition of matrix metalloproteinase-1 activity by the soybean Bowman-Birk inhibitor. *Biotechnology letters*, 26, 901-905. <https://doi.org/10.1023/B:bile.0000025900.33812.7c>

- Maamri, S., Benarous, K., ve Yousfi, M. (2021). Identification of 3-methoxycarpachromene and masticadienonic acid as new target inhibitors against trypanothione reductase from *Leishmania infantum* using molecular docking and ADMET prediction. *Molecules*, 26(11), 3335. <https://doi.org/10.3390/molecules26113335>
- Mahmoudvand, H., Kheirandish, F., Dezaki, E. S., Shamsaddini, S., ve Harandi, M. F. (2016). Chemical composition, efficacy and safety of *Pistacia vera* (var. Fandoghi) to inactivate protoscoleces during hydatid cyst surgery. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 82, 393-398. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.05.012>
- Mechqoq, H., Hourfane, S., Yaagoubi, M. E., Hamdaoui, A. E., Msanda, F., Almeida, J. R. G. D. S., Rocha, J. M., ve Aouad, N. E. (2022). Phytochemical screening, and in vitro evaluation of the antioxidant and dermocosmetic activities of four Moroccan plants: *Halimium antiatlanticum*, *Adenocarpus artemisiifolius*, *Pistacia lentiscus* and *Leonotis nepetifolia*. *Cosmetics*, 9(5), 94. <https://doi.org/10.3390/cosmetics9050094>
- Mehenni, C., Atmani-Kilani, D., Dumarçay, S., Perrin, D., Gérardin, P., ve Atmani, D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic effects of *Pistacia lentiscus* leaf and fruit extracts. *Journal of food and drug analysis*, 24(3), 653-669. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.03.002>
- Mejía-Giraldo, J. C., Winkler, R., Gallardo, C., Sánchez-Zapata, A. M., ve Puertas-Mejía, M. A. (2016). Photoprotective potential of *Baccharis antioquiensis* (Asteraceae) as natural sunscreen. *Photochemistry and Photobiology*, 92(5), 742-752. <https://doi.org/10.1111/php.12619>
- Mikšík, I., Sedláková, P., Mikulíková, K., ve Eckhardt, A. (2006). Capillary electromigration methods for the study of collagen. *Journal of Chromatography B*, 841(1-2), 3-13. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.02.043>
- Milia, E., Bullitta, S. M., Mastandrea, G., Szotáková, B., Schoubben, A., Langhansová, L., Quartu, M., Bortone, A., ve Eick, S. (2021). Leaves and fruits preparations of *Pistacia lentiscus* L.: a review on the ethnopharmacological uses and implications in inflammation and infection. *Antibiotics*, 10(4), 425. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040425>
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.007>
- Mitra, D., Luo, X., Morgan, A., Wang, J., Hoang, M. P., Lo, J., Guerrero, C.R., Lennerz, J.K., Mihm, M.C., Wargo, J.A., Robinson, K.C., Devi, S.P., Vanover, J.C., D'Orazio, J.A., McMahon, M., Bosenberg, M.W., Haigis, K.M., Haber, D.A., Wang, Y. ve Fisher, D. E. (2012). An ultraviolet-radiation-independent pathway to melanoma carcinogenesis in the red hair/fair skin background. *Nature*, 491(7424), 449-453. <https://doi.org/10.1038/nature11624>

- Mohsen, E., Younis, I. Y., ve Farag, M. A. (2020). Metabolites profiling of Egyptian *Rosa damascena* Mill. flowers as analyzed via ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry and solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry in relation to its anti-collagenase skin effect. *Industrial Crops and Products*, 155, 112818. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112818>
- Morisaki, N., Moriwaki, S., Sugiyama-Nakagiri, Y., Haketa, K., Takema, Y. ve Imokawa, G. (2010). Neprilysin is identical to skin fibroblast elastase: its role in skin aging and UV responses. *Journal of Biological Chemistry*, 285(51), 39819-39827. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.161547>
- Motta, E. V., Lemos, M., Costa, J. C., Banderó-Filho, V. C., Sasse, A., Sheridan, H., ve Bastos, J. K. (2017). Galloylquinic acid derivatives from *Copaifera langsdorffii* leaves display gastroprotective activity. *Chemico-Biological Interactions*, 261, 145-155. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.11.028>
- Moussaoui, S., Mokrani, E. H., Kabouche, Z., Guendouze, A., Laribi, A., Bradai, N., Bensouici, C., Yılmaz, M. A., Çakır, O., ve Tarhan, A. (2025). Evaluation of polyphenolic profile, antioxidant, anti-cholinesterase, and anti-alpha-amylase activities of *Pistacia lentiscus* L. leaves. *Natural Product Research*, 1-14. <https://doi.org/10.1080/14786419.2025.2471836>
- Mouw, J. K., Ou, G., ve Weaver, V. M. (2014). Extracellular matrix assembly: a multiscale deconstruction. *Nature reviews Molecular cell biology*, 15(12), 771-785. <https://doi.org/10.1038/nrm3902>
- Nguyen, P. H., Le Nguyen, T. T., Nguyen, D. T., Nguyen, M. T. T., ve Nguyen, P. K. P. (2017). Some compounds isolated from leaves of *Lumnitzera racemosa* growing in Vietnam. *Science & Technology Development Journal: Natural Sciences*, 1(T4), 20-26. <https://doi.org/10.32508/stdjns.v1i1T4.494>
- Nisa, R. U., Nisa, A. U., Tantray, A. Y., Shah, A. H., Jan, A. T., Shah, A. A., ve Wani, I. A. (2024). Plant phenolics with promising therapeutic applications against skin disorders: A mechanistic review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 101090. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101090>
- Nogueira, M. S., Furtado, R. A., ve Bastos, J. K. (2015). Flavonoids and methoxy-galloylquinic acid derivatives from the leaf extract of *Copaifera langsdorffii* desf. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(31), 6939-6945. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01588>
- Nouveau, S., Agrawal, D., Kohli, M., Bernerd, F., Misra, N. ve Nayak, C. S. (2016). Skin hyperpigmentation in Indian population: Insights and best practice. *Indian journal of dermatology*, 61(5), 487-495. <https://doi.org/10.4103/0019-5154.190103>
- Orhan, I. E., Senol, F. S., Gulpinar, A. R., Sekeroglu, N., Kartal, M., ve Sener, B. (2012). Neuroprotective potential of some terebinth coffee brands and the unprocessed fruits of *Pistacia terebinthus* L. and their fatty essential oil analyses. *Food Chemistry*, 130(4), 882–888. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.119>

- Othman, S., El-Hashash, M., Hussein, S., El-Mesallamy, A., Rizk, S., ve Elabbar, F. A. (2019). Phenolic Content as Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Pistacia atlantica* Desf.(Anacardiaceae) Extract from Libya. *Egyptian Journal of Chemistry*, 62(1), 21-28. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2018.4577.1403>
- Ozsvar, J., Yang, C., Cain, S. A., Baldock, C., Tarakanova, A. ve Weiss, A. S. (2021). Tropoelastin and elastin assembly. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 643110. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.643110>
- Özçelik, B., Aslan, M., Orhan, I., ve Karaoglu, T. (2005). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera*. *Microbiological research*, 160(2), 159-164. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2004.11.002>
- Pacifico, S., Piccolella, S., Marciano, S., Galasso, S., Nocera, P., Piscopo, V., Fiorentino, A., ve Monaco, P. (2014). LC-MS/MS profiling of a mastic leaf phenol enriched extract and its effects on H₂O₂ and A β (25–35) oxidative injury in SK-B-NE (C)-2 cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(49), 11957-11966. <https://doi.org/10.1021/jf504544x>
- Papandreou, M. A., Kanakis, C. D., Polissiou, M. G., Efthimiopoulos, S., Cordopatis, P., Margarity, M., ve Lamari, F. N. (2006). Inhibitory activity on amyloid- β aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigmas extract and its crocin constituents. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(23), 8762-8768. <https://doi.org/10.1021/jf061932a>
- Pascale, R., Acquavia, M. A., Cataldi, T. R., Onzo, A., Coviello, D., Bufo, S. A., Scrano, L., Ciriello, R., Guerrieri, A., ve Bianco, G. (2020). Profiling of quercetin glycosides and acyl glycosides in sun-dried peperoni di Senise peppers (*Capsicum annum* L.) by a combination of LC-ESI (-)-MS/MS and polarity prediction in reversed-phase separations. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 412, 3005-3015. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02547-2>
- Paterniti, I., Impellizzeri, D., Cordaro, M., Siracusa, R., Bisignano, C., Gugliandolo, E., Carughi, A., Esposito, E. Mandalari, G., ve Cuzzocrea, S. (2017). The anti-inflammatory and antioxidant potential of pistachios (*Pistacia vera* L.) in vitro and in vivo. *Nutrients*, 9(8), 915. <https://doi.org/10.3390/nu9080915>
- Pekacar, S., ve Deliorman Orhan, D. (2022). Investigation of antidiabetic effect of pistacia atlantica Leaves by activity-guided fractionation and phytochemical content analysis by LC-QTOF-MS. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 826261. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.826261>
- Pekacar, S. (2024). *Türkiye’de yetişen bazı Pistacia L. türleri üzerinde farmakognozik araştırmalar* (Yayın Numarası: 876944) [Doktora tezi, Gazi Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi
- Peng, Z., Li, Y., Tan, L., Chen, L., Shi, Q., Zeng, Q. H., Liu, H., Wang, J.J., ve Zhao, Y. (2022). Anti-tyrosinase, antioxidant and antibacterial activities of gallic acid-benzylidenehydrazine hybrids and their application in preservation of fresh-cut apples and shrimps. *Food chemistry*, 378, 132127. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132127>

- Piccolella, S., Nocera, P., Carillo, P., Woodrow, P., Greco, V., Manti, L., Fiorentino, A., ve Pacifico, S. (2016). An apolar *Pistacia lentiscus* L. leaf extract: GC-MS metabolic profiling and evaluation of cytotoxicity and apoptosis inducing effects on SH-SY5Y and SK-N-BE (2) C cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 95, 64-74. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.06.028>
- Piras, A., Marzouki, H., Maxia, A., Marengo, A., Porcedda, S., Falconieri, D., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., ve Salgueiro, L. (2017). Chemical characterisation and biological activity of leaf essential oils obtained from *Pistacia terebinthus* growing wild in Tunisia and Sardinia Island. *Natural product research*, 31(22), 2684-2689. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1289204>
- Pulaj, B., Mustafa, B., Nelson, K., Quave, C. L., ve Hajdari, A. (2016). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Pistacia terebinthus* essential oils derived from wild populations in Kosovo. *BMC complementary and alternative medicine*, 16, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1135-8>
- Ramezani, M., Khaje-Karamoddin, M., ve Karimi-Fard, V. (2004). Chemical composition and anti-Helicobacter pylori activity of the essential oil of *Pistacia vera*. *Pharmaceutical biology*, 42(7), 488-490. <https://doi.org/10.3109/13880200490891755>
- Remila, S., Atmani-Kilani, D., Delemasure, S., Connat, J. L., Azib, L., Richard, T., ve Atmani, D. (2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3), 274-286. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2015.03.009>
- Rijken, F., Kiekens, R. C., van den Worm, E., Lee, P. L., van Weelden, H., ve Bruijnzeel, P. L. (2006). Pathophysiology of photoaging of human skin: focus on neutrophils. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 5, 184-189. <https://doi.org/10.1039/b502522b>
- Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Segura-Carretero, A., ve Fernández-Gutierrez, A. (2013). A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 77, 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.01.026>
- Romani, A., Pinelli, P., Galardi, C., Mulinacci, N., ve Tattini, M. (2002). Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13(2), 79-86. <https://doi.org/10.1002/pca.627>
- Saldanha, L. L., Vilegas, W., ve Dokkedal, A. L. (2013). Characterization of flavonoids and phenolic acids in *Myrcia bella* cambess. Using FIA-ESI-IT-MSn and HPLC-PAD-ESI-IT-MS combined with NMR. *Molecules*, 18(7), 8402-8416. <https://doi.org/10.3390/molecules18078402>

- Salhi, A., Bellaouchi, R., El Barkany, S., Rokni, Y., Bouyanzer, A., Asehraou, A., Amhamdi, H., ve Hammouti, B. (2019). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from *Pistacia lentiscus* leaves. *Casp. J. Environ. Sci*, 17(3), 189-198. <https://doi.org/10.22124/cjes.2019.3662>
- Sannomiya, M., Rodrigues, C. M., Oliveira, G. C. A., Carvalho, J. C. S., da Costa, L. S., de Castro Spadari, C., Ferreira, M.J.P., Vilegas, W., ve Ishida, K. (2022). Galloylquinic acid derivatives from *Byrsonima fagifolia* leaf extract and potential antifungal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 297, 115534. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115534>
- Sarkhail, P., Navidpour, L., Rahimifard, M., Hosseini, N. M., ve Souri, E. (2020). Bioassay-guided fractionation and identification of wound healing active compound from *Pistacia vera* L. hull extract. *Journal of ethnopharmacology*, 248, 112335. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112335>
- Sarkhail, P., Salimi, M., Sarkheil, P., ve Kandelous, H. M. (2017). Anti-melanogenic activity and cytotoxicity of *Pistacia vera* hull on human melanoma SKMEL-3 cells. *Acta Medica Iranica*, 422-428.
- Sekhon, B. S. (2010). Matrix metalloproteinases—an overview. *Research and Reports in Biology*, 1-20. <https://doi.org/10.2147/RRB.S12043>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., ve Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sonmezdag, A. S., Kelebek, H., ve Selli, S. (2017). Characterization and comparative evaluation of volatile, phenolic and antioxidant properties of pistachio (*Pistacia vera* L.) hull. *Journal of essential oil research*, 29(3), 262-270. <https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1216899>
- Spiegel, M., Andruniów, T., ve Sroka, Z. (2020). Flavones' and flavonols' antiradical structure–activity relationship—A quantum chemical study. *Antioxidants*, 9(6), 461. <https://doi.org/10.3390/antiox9060461>
- Sun, J., Liang, F., Bin, Y., Li, P., ve Duan, C. (2007). Screening non-colored phenolics in red wines using liquid chromatography/ultraviolet and mass spectrometry/mass spectrometry libraries. *Molecules*, 12(3), 679-693. <https://doi.org/10.3390/12030679>
- Suri, L., Damoulis, P. D., Le, T., ve Gagari, E. (2008). Expression of MMP-13 (collagenase-3) in long-term cultures of human dental pulp cells. *Archives of oral biology*, 53(8), 791-799. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2008.02.010>
- Thomson, J., Singh, M., Eckersley, A., Cain, S. A., Sherratt, M. J. ve Baldock, C. (2019). Fibrillin microfibrils and elastic fibre proteins: Functional interactions and extracellular regulation of growth factors. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 89, 109-117. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.07.016>

- Tilkat, E. A., Batibay, H., Yener, I., Yilmaz, P. K., Akdeniz, M., Kaplan, A., Ercişli, S., Ertaş, A., ve Holubec, V. (2021). Determination of enzyme inhibition potential and anticancer effects of *Pistacia khinjuk* stocks raised in in vitro and in vivo conditions. *Agronomy*, 11(1), 154. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010154>
- Tsokou, A., Georgopoulou, K., Melliou, E., Magiatis, P., ve Tsitsa, E. (2007). Composition and enantiomeric analysis of the essential oil of the fruits and the leaves of *Pistacia vera* from Greece. *Molecules*, 12(6), 1233-1239. <https://doi.org/10.3390/12061233>
- Tsuji, N., Moriwaki, S., Suzuki, Y., Takema, Y. ve Imokawa, G. (2001). The role of elastases secreted by fibroblasts in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity. *Photochemistry and Photobiology*, 74(2), 283-290. [https://doi.org/10.1562/0031-8655\(2001\)0740283TROESB2.0.CO2](https://doi.org/10.1562/0031-8655(2001)0740283TROESB2.0.CO2)
- Tuzlacı, E. (2011). *Türkiye Bitkileri Sözlüğü*. Alfa Yayınları
- Ulukanlı, Z., Karabörklü, S., Öztürk, B., Çenet, M., ve Balcılar, M. (2014). Chemical Composition, Antibacterial and Insecticidal Activities of the Essential Oil from the *Pistacia terebinthus* L. Spp. *Terebinthus* (Boiss.) (Anacardiaceae). *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 815-822. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12035>
- Urso, M. L., & Clarkson, P. M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189(1-2), 41-54. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00151-3](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00151-3)
- Ushio-Fukai, M., & Nakamura, Y. (2008). Reactive oxygen species and angiogenesis: NADPH oxidase as target for cancer therapy. *Cancer letters*, 266(1), 37-52. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.02.044>
- Uysal, S., Sinan, K. I., Jekő, J., Cziáky, Z., ve Zengin, G. (2022). Chemical characterization, comprehensive antioxidant capacity, and enzyme inhibitory potential of leaves from *Pistacia terebinthus* L. (Anacardiaceae). *Food Bioscience*, 48, 101820. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101820>
- Vrhovski, B. ve Weiss, A. S. (1998). Biochemistry of tropoelastin. *European Journal of Biochemistry*, 258(1), 1-18. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2580001.x>
- Wang, A., Marino, A. R., Gasyna, Z., Gasyna, E., ve Norris Jr, J. (2008). Photoprotection by porcine eumelanin against singlet oxygen production. *Photochemistry and photobiology*, 84(3), 679-682. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2008.00353.x>
- Yang, G., Fu, Y., Malakhova, M., Kurinov, I., Zhu, F., Yao, K., Li, H., Chen, H., Li, W., Lim, D.Y., Sheng, Y., Bode, A.M., Dong, Z., ve Dong, Z. (2014). Caffeic acid directly targets ERK1/2 to attenuate solar UV-induced skin carcinogenesis. *Cancer Prevention Research*, 7(10), 1056-1066. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0141>
- Yemmen, M., Landolsi, A., Hamida, J. B., Mégraud, F., ve Ayadi, M. T. (2017). Antioxidant activities, anticancer activity and polyphenolics profile, of leaf, fruit and stem extracts of *Pistacia lentiscus* from Tunisia. *Cellular and molecular biology*, 63(9), 87-95. <https://doi.org/10.14715/cmb/2017.63.9.16>

- Yeum, K. J., Russell, R. M., Krinsky, N. I., ve Aldini, G. (2004). Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Archives of biochemistry and biophysics*, 430(1), 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2004.03.006>
- Yüksel, A. K., Şat, I. G., ve Yüksel, M. (2015). The effect of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) coffee addition on the chemical and physical characteristics, colour values, organic acid profiles, mineral compositions and sensory properties of ice creams. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 8023–8031. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1904-2>
- Zerkani, H., Amalich, S., Tagnaout, I., Bouharroud, R., ve Zair, T. (2022). Chemical composition, pharmaceutical potential and toxicity of the essential oils extracted from the leaves, fruits and barks of *Pistacia atlantica*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 43, 102431. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102431>
- Zhai, R., Zhao, Y., Liu, G., Ter-Minassian, M., Wu, I. C., Wang, Z., Su, L., Asomaning, K., Chen, F., Kulke, M.H., Lin, X., Heist, R.S., Wain, J.C., ve Christiani, D. C. (2012). Interactions between environmental factors and polymorphisms in angiogenesis pathway genes in esophageal adenocarcinoma risk: A case-only study. *Cancer*, 118(3), 804-811. <https://doi.org/10.1002/cncr.26325>
- Zhang, X. W., Bian, G. L., Kang, P. Y., Cheng, X. J., Yan, K., Liu, Y. L., Gao, Y., ve Li, D. Q. (2021). Recent advance in the discovery of tyrosinase inhibitors from natural sources via separation methods. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 36(1), 2104-2117. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1983559>
- http1:http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=2376 (Erişim Tarihi: 28.08.2024)
- http2:<http://bizimbitkiler.org.tr/v3/demo/details.php?id=611> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)
- http3:<https://www.gbif.org/species/3190583> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)
- http4:<http://bizimbitkiler.org.tr/v3/demo/details.php?id=608> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)
- http5:http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=2377 (Erişim Tarihi: 28.08.2024)
- http6: <https://www.gbif.org/species/3190581> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)
- http7:http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=2378 (Erişim Tarihi: 28.08.2024)
- http8:<http://bizimbitkiler.org.tr/v3/demo/details.php?id=609> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)
- http9:<https://www.gbif.org/species/3662079> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)
- http10:<http://bizimbitkiler.org.tr/v3/demo/details.php?id=610> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)
- http11:http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=2379 (Erişim Tarihi: 28.08.2024)

http12:<https://www.gbif.org/species/3662027> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)

http13:http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=2380 (Erişim Tarihi: 28.08.2024)

http14:<https://www.gbif.org/species/3190585> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)

http15:<https://www.gbif.org/species/3190580> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)

http16:<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:70274-1> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)

http17:<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:2933516-4> (Erişim Tarihi: 28.08.2024)



ÖZ GEÇMİŞ

Adı Soyadı : Burak Temiz
Yabancı Dil : İngilizce
Doğum Yeri/Yılı :
E-posta :
ORCID Numarası :

Eğitim Bilgileri:

2012-2017, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık

2017-2020, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı

Mesleki Deneyimi:

Araştırma Görevlisi, (2021-Halen devam etmekte), Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı

Yayınları:

Temiz, B., Ağalar, H. G., Altıntop, M. D., ve Gafner, S. (2025). *Boswellia* sp. oleogum resins: high-performance thin-layer chromatography–effect-directed pancreatic lipase inhibition profiles and molecular docking studies. *JPC–Journal of Planar Chromatography–Modern TLC*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00764-025-00331-5>

Temiz, B., Kürkçüoğlu, M., Ağalar, H. G., Duran, A., ve Başer, K. H. C. (2024). Investigation of the essential oil composition and biological activities of the essential oil and extracts of the aerial parts of *Seseli libanotis* WDJ Koch. *European Journal of Life Sciences*, 3(3), 107-113. <https://doi.org/10.55971/EJLS.1594481>

Orhan, N., **Temiz, B.**, Ağalar, H.G., İşcan, G., (2022). *Boswellia serrata* Oleogum resins and extracts laboratory guidance document, Herbalgram.

Kürkçüoğlu, M., Ağalar, H. G., **Temiz, B.**, Duran, A., ve Başer, K. (2022). *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. Et Kotschy: The fruit essential oil, composition, skin-whitening and antioxidant activities. *European Journal of Life Sciences*, 1(1), 28-34. <https://doi.org/10.55971/EJLS.1095855>

Kürkçüoğlu, M., ağalar, H., **Temiz, B.**, Duran, A., paksoy, M., ve Baser, K. (2022). Antioxidant, Antityrosinase Activities and Composition of Essential Oils Obtained from Roots and Fruits of *Ferulago longistylis* Boiss. Journal of Research in Pharmacy, 26(4). <https://doi.org/10.29228/jrp.176>

Temiz, B., ve Agalar, H. G. (2022). Evaluation of radical scavenging and anti-tyrosinase activity of some *Citrus* fruits cultivated in Turkey via in vitro methods and high-performance thin-layer chromatography–effect-directed analysis. JPC–Journal of Planar Chromatography–Modern TLC, 35(2), 127-138. <https://doi.org/10.1007/s00764-022-00168-2>

Baysal, I., Ekizoglu, M., Ertas, A., **Temiz, B.**, Agalar, H. G., Yabanoglu-Ciftci, S., ve Turkmenoglu, F. P. (2021). Identification of phenolic compounds by LC-MS/MS and evaluation of bioactive properties of two edible halophytes: *Limonium effusum* and *L. sinuatum*. Molecules, 26(13), 4040. <https://doi.org/10.3390/molecules26134040>

Ağalar, H. G., ve **Temiz, B.** (2021). HPTLC-DPPH• and HPTLC-tyrosinase methods for hot water-soluble contents of kumquat, limequat and Mexican lime fruit powders. J Res Pharm, 25(5), 569-580. <http://dx.doi.org/10.29228/jrp.48>

Agalar, H. G., **Temiz, B.**, Demirci, B., ve Baser, K. H. C. (2020). Drying effects on the volatile compounds of kumquat, limequat and Mexican lime fruits. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 23(6), 1395-1408. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1868347>

Ağalar, H. G., **Temiz, B.**, Demirci, B., ve Başer, K. (2020). Direct SPME/GC-MS analyzes of small *Citrus* fruits cultivated in Turkey. EMU Journal of Pharmaceutical Sciences, 3(3), 140-152.

Ağalar, H. G., **Temiz, B.**, ve Demirci, B. (2019). HS-SPME and microdistillation isolation methods for the volatile compounds of bergamot fruits cultivated in Turkey.

Bilimsel Faaliyetleri:

Gülcan Z., Tunç, F., Özenver, N., **Temiz, B.**, Yalçın, F.N., Köse, Y.B. (2024). Tyrosinase inhibitory and cytotoxic activities of two *Inula* species (Asteraceae). International Congress on Natural Products Research, Krakow, Polonya.

Temiz, B., Ağalar, H.G., (2023). Evaluation of antioxidant and antilipase activities of some *Boswellia* L. oleogum resins by HPTLC-Effect Directed Analysis, 15th

International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (SCNC), Antalya, Türkiye.

Temiz, B., Kürkçüoğlu, M., Ağalar, H.G., Duran, A., Başer, K.H.C. (2022), *Seseli libanotis* (L.) W. Koch topraküstü kısımlarının uçucu yağ kompozisyonu ile uçucu yağ ve ekstraktlarının biyolojik aktivitelerinin araştırılması, XXIV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Ankara, Türkiye.

Ağalar, H.G., İşcan, G., **Temiz, B.,** (2022), *Schinus molle* L. yapraklarının kozmetik kullanım potansiyellerinin değerlendirilmesi, XXIV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Ankara, Türkiye.

Gökbaba, İ.S., İşcan, G., Ağalar, H.G., **Temiz, B.** (2022), Aromaterapide Kullanılan Bazı Sabit Yağların Antitirozinaz ve Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi, XXIV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Ankara, Türkiye.

Öztürk, G., **Temiz, B.,** Levent, S., Ağalar, H.G. (2022), Çay Ekstrelerinin Antimikrobiyal Etkinliklerinin ve Antimikrobiyal Ajanlar ile Kombinasyonlarının Değerlendirilmesi, XXIV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Ankara, Türkiye.

Temiz, B., Ağalar, H.G. (2021). Evaluation Of Radical Scavenging Activity And Tyrosinase Inhibition Of Some *Citrus* Species Cultivated In Turkey *via* Spectrophotometric Methods And Hptlc-Effect Directed Analysis, 3rd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS), Ankara, Türkiye.

Temiz, B., Ağalar, H.G., Türkmenoğlu, F.P. (2021), Phenolic profile and bioactive properties of halophytic *Limonium caspium*, 5th International Euroasian Agriculture and Natural Sciences Congress, Online.

Kürkçüoğlu, M., Ağalar, H.G., **Temiz, B.,** Duran, A., Başer, K.H.C. (2021), Antioxidant/Antityrosinase Activities and Volatile Composition of *Peucedanum alkalinae* Essential Oil, 51st International Symposium on Essential Oils (ISEO) Online.

Kürkçüoğlu, M., Ağalar, H.G., **Temiz, B.,** Duran, A., Paksoy, M.Y., Başer, K.H.C. (2021), Volatile Constituents and *In Vitro* Antioxidant and Antityrosinase Activities of the *Prangos munzurensis* Fruits and Roots Essential Oils, 51st International Symposium on Essential Oils (ISEO), Online.

Kürkçüoğlu, M., Ağalar, H.G., **Temiz, B.**, Duran, A., Paksoy, M.Y., Başer, K.H.C. (2021), Antioxidant, Antityrosinase Activities and Composition of Essential Oils Obtained from Roots and Fruits of *Ferulago longistylis* Boiss., 14th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (SCNC), Taşkent, Özbekistan.

Temiz, B., Ağalar, H.G. (2019) Evaluation of Antityrosinase Potentials of Kumquat, Limequat and Lime Fruits Extracts by HPTLC-bioautographic and Spectrophotometric Methods 6th World Congress on Medicinal and Aromatic Plants (WOCMAP), Famagusta, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.

Ağalar, H.G., **Temiz, B.**, Demirci, B., (2019) Identification of Fatty Acids and Volatile Compounds of Bergamot Fruits, 6th World Congress on Medicinal and Aromatic Plants (WOCMAP), Famagusta, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.

Ağalar H.G., **Temiz, B.**, Ozturk, G., Demirci, B., Kirimer, N. (2018) Antimicrobial Activities and Fatty Acid Compositions of Kumquat, Limequat and Mexican Lime Seeds, 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Türkiye

Temiz, B., Demirci, B., Ağalar, H.G. (2018) Drying Effects on the Volatile Compounds of Kumquat, Limequat and Mexican Lime Fruits. 66th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA), Shanghai, Çin.

Görev Aldığı Projeler:

Yükseköğretim Kurumları tarafından desteklenen Bilimsel Araştırma Projesi. Proje Numarası: 2208S152. *Pistacia* L. Cinsine Ait Bazı Türlerin Fitokozmetik Alanda Potansiyel Kullanımlarının Farmakognozik Açıdan Değerlendirilmesi. **Araştırmacı**, (09/09/2022-Halen devam ediyor)

Yükseköğretim Kurumları tarafından desteklenen Bilimsel Araştırma Projesi. *Boswellia* Cinsine Ait Bazı Rezinlerinin Antioksidan ve Antilipaz Aktivitelerinin HPTLC-Etki Yönlendirmeli Analizler ile Değerlendirilmesi, **Araştırmacı**, (15/08/2022-15/08/2023)

Yükseköğretim Kurumları tarafından desteklenen Bilimsel Araştırma Projesi Ülkemizde Kültürü Yapılan *Citrus* Cinsine Ait Bazı Türlerin Fitokozmetik Kullanım Potansiyellerinin Değerlendirilmesi **Araştırmacı**, (15/08/2022-)

Yükseköğretim Kurumları tarafından desteklenen Bilimsel Araştırma Projesi Bazı *Limonium* Mill. (Plumbaginaceae) türleri üzerinde in-vitro biyoaktivite çalışmaları **Araştırmacı**, (20/05/2021-20/05/2022)

Yükseköğretim Kurumları tarafından desteklenen Bilimsel Araştırma Projesi. *Sambucus nigra* L. bitkisinin antioksidan ve antirozinaz aktivitelerinin incelenmesi **Araştırmacı**, (13/07/2021-17/08/2022)

Yükseköğretim Kurumları tarafından desteklenen Bilimsel Araştırma Projesi Bazı Narenciye Türleri Üzerine Farmakognozik Araştırmalar, **Araştırmacı**, (29/06/2018-27/11/2020)

Yükseköğretim Kurumları tarafından desteklenen Bilimsel Araştırma Projesi. *Arum maculatum* L. Yumrularının Sitotoksik Aktiviteleri ve Kimyasal Bileşim Açısından İncelenmesi, **Araştırmacı**, (06/06/2018-10/09/2019)

Yükseköğretim Kurumları tarafından desteklenen Bilimsel Araştırma Projesi. *Salvia sclarea* L. örneklerinin mikroorganizmalar üzerine etkilerinin değerlendirilmesi, **Araştırmacı**, (10/06/2019-28/08/2020)

Yükseköğretim Kurumları tarafından desteklenen Bilimsel Araştırma Projesi Bergamot Meyvelerinin Uçucu Bileşikleri ve Yağ Asitlerinin İncelenmesi, **Araştırmacı**, (06/06/2018-10/09/2019)