

Bazı *Ruta L.* Ekstraktlarının Biyoaktif Madde İçerikleri ve Radikal Kovucu Aktiviteleri

Cennet YAMAN^{1*}, Deniz ULUKUŞ², Osman TUGAY³

¹Bozok Ün., Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Yozgat, ²Selçuk Ün., Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Konya ³Selçuk Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Konya

¹<https://orcid.org/0000-0002-2364-8171>, ²<https://orcid.org/0000-0002-9627-5492>, ³<https://orcid.org/0000-0003-3980-7648>

*E-posta: cennet.yaman@bozok.edu.tr

ÖZET

Ruta L. geleneksel tıbbi bitki olarak yaygın kullanılan, Rutaceae familyasının cinslerinden biridir. Bu çalışmada, yabani *Ruta chalepensis* L. (toprak üstü kısmı) ve *Ruta montana* L. (yaprak-çiçek ve gövde kısımları) türlerinin metanol ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. En yüksek ekstraksiyon verimini *R. montana* (çiçek-yaprak) metanol ekstraktı sağlamıştır (% 15.11, 151.12 ± 0.78 mg / g). En düşük verim ise *R. montana* (gövde) etanol ekstraktında (% 2.67, 26.66 ± 0.50 mg / g) tespit edilmiştir. *R. chalepensis* metanol ve etanol ekstraktlarının kuru madde içerisindeki toplam flavonoid madde içeriğinin, *R. montana* metanol çiçek-yaprak ekstraktı hariç diğer ekstraktlarından daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Toplam flavonoid ve fenolik madde içeriği en az *R. montana* gövde kısmının etanol ekstraktlarından elde edilmiştir. Ayrıca ekstraktların 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate (DPPH) ve 2, 2'-Azino-Bis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic acid (ABTS) gibi radikal süpürücü aktiviteleri araştırılmış ve çözücü bazında değerlendirildiğinde *R. chalepensis* ekstraktlarının daha yüksek aktivite sergilediği gözlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen verilerden yararlanılarak *Ruta* ekstraktlarının doğal bir antioksidan kaynağı olabirliliği tartışılmıştır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 21.11.2018

Kabul Tarihi : 02.01.2019

Anahtar Kelimeler

Ruta L.
Flavonoid
Fenolik
DPPH
ABTS

Total Bioactive Contents and Radical Scavenging Activities of Some *Ruta L.* Extracts

ABSTRACT

Ruta L. is a genus of the Rutaceae family, mostly used as a traditional medicinal plant. In this study, the antioxidant activities of methanolic and ethanolic extracts of wild *Ruta chalepensis* L. (above ground plant) and *Ruta montana* L. (leaves-flowers, stems) were assessed. The results showed that methanol extract of flower-leave of *Ruta montana* provided the highest yield of extraction (15.11%, 151.12±0.78 mg/g) whereas the lowest yield was obtained in ethanol extract of stems of *Ruta montana* (2.67%, 26.66±0.50 mg/g). Total flavonoid content in dry weight of methanol and ethanol extracts of *Ruta chalepensis* was found higher than other extracts except methanol leaves-flowers extract of *Ruta montana*. It was determined that ethanol extracts of *Ruta montana* stem sustained less total flavonoid and phenolic content. Also, radical scavenging activities such as 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate (DPPH) and 2, 2'-Azino-Bis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic acid (ABTS) of extracts was investigated, and according to the solvent, it was revealed that extracts of *Ruta chalepensis* exhibited high activity. As a result, it has been discussed that *Ruta* can be used as a natural antioxidant by taking advantage of these data.

Research Article

Article History

Received : 21.11.2018

Accepted : 02.01.2019

Keywords

Ruta L.
Flavonoids
Phenolics
DPPH
ABTS

To Cite : Yaman C, Ulukuş D, Tugay O 2019. Bazı *Ruta L.* Ekstraktlarının Biyoaktif Madde İçerikleri ve Radikal Kovucu Aktiviteleri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22(2): 193-201. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.486352

GİRİŞ

Kapalı tohumlu bitkiler arasında olan Rutaceae familyası 4 alt familya, 154 cins ve yaklaşık 2.100

türden oluşmaktadır (Kubitzki, 2011; Morton ve Telmer, 2014). Dağılım olarak özellikle Avustralya ve Güney Afrika'da büyük çeşitlilik merkezine sahip olan,

tropikal ve ılıman bölgelerde yayılış gösteren bir familyadır. Rutaceae familyası Türkiye Bitkileri Listesi'ne göre *Citrus* L., *Dictamnus* L., *Haplophyllum* A. Juss. Ve *Ruta* L. cinsleri olmak üzere 4 cins ile temsil edilmektedir. *Citrus* cinsi 9; *Dictamnus* cinsi 1; *Haplophyllum* cinsi 18; ve *Ruta* cinsi ise 6 taksonla temsil edilmektedir (Tugay, 2012, Tugay ve Ulukuş, 2017). *Ruta* cinsi tüm Dünya üzerinde 9 türle temsil edilmekte olup, 4 tür Akdeniz fitocoğrafik bölgesinde, 2 tür Korsika, 3 türde Kanarya Adaları'nda yayılış göstermektedir ve % 55'i endemiktir (Salvo, 2008). *Ruta* cinsi ülkemizde *R. chalepensis* ve *R. montana* olmak üzere 2 türle temsil edilmektedir (Townsend, 1967). *Ruta chalepensis*, Akdeniz bölgesinin çok yıllık çalimsı bir bitkisidir, ancak dünyanın birçok bölgesinde ılıman ve tropikal ülkelerde yaygın olarak yetişmektedir (Gonzalez-Trujano ve ark., 2006).

Önceki çalışmalar *Ruta chalepensis* türünün toprak üstü kısımlarının alkaloid, flavonoid, kumarin, uçucu yağ, saponin ve yağ asitleri gibi önemli biyoaktif bileşenler içerdiği tespit edilmiştir (Günaydin ve Göycıncık, 2005). *Ruta chalepensis* ekstraktlarının fitokimyasal bileşimi ile ilgili olarak, yaprak ve genç gövdenin alkaloidler, favonoidler, fenoller, amino asitler, furokumarinler, tanen, uçucu yağ, glikozit, sterol, triterpen ve saponinler içerdiği bildirilmiştir (Aguilar-Santamaria ve Tortoriello, 1995; El Guiche ve ark., 2015).

Bu cinsin üyeleri birçok ülkede eski çağlardan günümüze kadar geleneksel tıpta geniş bir uygulama alanına sahiptir (Pollio ve ark., 2008). Örneğin abortif tedavide, antiromatizmal, hipoglisemik, antihelmintik, antipiretik, antiepileptik olarak, diyabet, epilepsi, vertigo, baş ağrısı ve göz hastalıklarının tedavisinde, bağırsak solucanlarının yok edilmesinde ve zehirlenmelerde kullanıldığı bilinmektedir. (Perry, 1980; Di Stasi ve ark., 1994; Bejar ve ark., 1997). İki türün (*R. montana* ve *R. chalepensis*) infüzyon/dekoksasyon yöntemleri ile elde edilen örnekleri halk tıbbında yaygın olarak tonik ve ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır. Ayrıca sıtma, antipiretik, analgesik, anti depresant, antidiyabetik, enflamatuar hastalıkların tedavisinde, antioksidan ve antimikrobiyal kaynağı olarak ta kullanılmaktadır (Iauk ve ark., 2004; Khelifi ve ark., 2013; Kacem ve ark., 2014; Loizzo ve ark., 2018).

Ruta montana Kuzey Doğu Cezayir'de halk tarafından geleneksel olarak adet söktürücü, eskarotik, antispazmodik olarak kullanılmaktadır (Zellagui ve ark., 2012). Ayrıca İspanya'da, ateş düşürücü, antispazmodik ve bağırsak solucanlarına karşı bir terapi olarak kullanılmıştır (Forment and Roquest, 1941). *Ruta chalepensis* romatizma, ateş, havale ve bazı sinir hastalıklarının tedavisinde Çin, Hindistan, Afrika ve Suudi Arabistan ülkelerinin geleneksel tıbbında aktif olarak kullanılmaktadır (Al-Said ve ark., 1990; Mansour ve ark., 1990; Iauk ve ark., 2004).

Bazı ham ekstraktlarında anti-fertilite aktivitesi olduğu, Türk ve Çin kültürlerinde anti-fertilite ajanı olarak kullanıldığı bilinmektedir (Ulubelen ve ark. 1994). Akdeniz bölgesinde, Cezayir, Kıbrıs ve İsrail gibi bazı ülkelerde, *R. chalepensis* yaprak infüzyonları, ruhsal rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Pollio ve ark., 2008). Son zamanlarda ise yapılan bir çalışmada, Kore'de toplanan *R. chalepensis* bitkisinin yapraklarından izole edilen quinoline bileşiğinin tip 2 şeker hastalığının (T2DM) tedavisine etkisi olduğu belirlenmiştir (Park ve Lee, 2015 Ayrıca parfüm sanayisinde kullanıldığı gibi insektisit aktivitesine sahip olduğu da bilinmektedir (Martínez-Pérez ve ark., 2017).

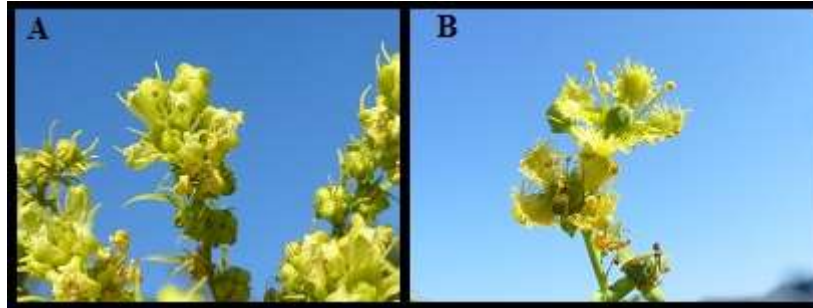
Bilindiği gibi serbest radikaller, enflamatuar yanıtın oluşumunu engelleyebildiği ve beyin dokularında yaralanmaya neden olan proinflamatuar genlerin ekspresyonunu aktive edebildiği (Ramesh ve ark., 2013) gibi birçok kronik ve dejeneratif hastalıkların oluşmasına da sebep olmaktadır. Antioksidanlar, serbest radikallerin nötralizasyonu ile zararlı etkilerinin önlenmesinde önemli bir rol oynarlar. Antioksidanlar ayrıca demir ve bakır gibi geçiş metallerini tecrit ederek serbest radikallerin oluşumunu engelleyebilir. Reaktif serbest radikalleri azaltan veya tamamen süpürebilen bir antioksidan, diğer moleküllerin oksidasyonunu önleyebilir ve bu nedenle dejeneratif hastalıkların önlenmesinde sağlığı geliştirici etkiye sahip olabilir. Son zamanlarda gıda, kozmetik, tıp, eczacılık, tekstil gibi birçok sanayi dalında koruyucu ve katkı maddesi olarak kullanılan sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen etkilerinin bulunduğu ortaya çıkarılmış, bunların yerine yüksek antioksidan aktivitesine sahip doğal ürünler/preparatlar tercih edilmeye başlamıştır (Pasqualon ve ark., 2015; Narayanasamy ve ark., 2018). Bitkisel kökenli doğal ekstraktlar, sentetik antioksidanlara alternatifler sağlamaktadır. Bu yüzden aromatik bitkilerden, baharatlardan ve meyve tozundan doğal antioksidan amaçlı ekstraktlar geliştirilmiş, geliştirmeye de devam edilmektedir (Bajaj ve ark., 2006, Shah ve ark., 2014).

Bu bağlamda, bu çalışmada geleneksel tıpta önemli yeri olan, Türkiye'de yetişen *R. chalepensis* ve *R. montana* türlerinin toprak üstü kısımlarının metanol ve etanol ekstraktlarının biyoaktif madde içerikleri ve radikal kovucu aktiviteleri incelenmiştir.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Ruta chalepensis L. ve *Ruta montana* (L. türlerinin toprak üstü kısımları 2014 yılında çiçeklenme dönemlerinde sırasıyla C4 Antalya; Alanya bölgesinden ve A5 Amasya; Kirazlıdere mevkisinden toplanmıştır. ; Örnekleme her türden 25 ayrı bitkiden yapılmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Türlerin çiçekli durumda genel görünüşünü *Ruta montana* (L.) L. (A) ve *Ruta chalepensis* L. (B)

Türlerin teşhisleri Selçuk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Osman Tugay ve Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi Öğretim Üyesi Dr. Deniz Ulukuş tarafından yapılmış, *R. montana* için OT-7410-DU ve *R. chalepensis* için OT-9628-DU herbaryum numaraları verilmiştir.

Ekstraksiyon

Toplanan bitki örneklerinin toprak üstü kısımları gölgede kurutulmuş, *R. montana* türü çiçek-yaprak ve gövde kısımları olmak üzere iki parçaya ayrılmış, *R. chalepensis* toprak üstü aksamı kullanılmıştır. Elde edilen örnekler blender da öğütülmüştür. Örneklerden 5 g tartılıp üzerine 50 ml metanol veya etanol çözücüleri eklenmiştir. Her örnek için uygulamalar 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Karışımlar etüvde 40 °C'de 1 gün (24 saat) süre ile bekletilmiştir. Elde edilen çözeltiler santrifüj cihazında 4.500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısımları alınmış ve organik çözücü evaporatör yardımı ile ayrıştırılmış ve ekstraktların miktarları belirlenmiştir. (Çizelge 1). Ekstraktlar kullanılıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 1. *R. montana* ve *R. chalepensis* türlerinin etanol ve metanol çözücülerindeki ekstrakt verimleri

Örnek Adı	Çözücü	%	mg/g Kuru Madde
RC	Metanol	9.99	99.9±0.44
	Etanol	4.89	48.9±1.67
RM1	Metanol	15.11	151.1±0.78
	Etanol	7.07	70.7±0.53
RM2	Metanol	6.88	68.8±1.14
	Etanol	2.67	26.7±0.50

± standart hata kullanılmıştır. n:3

Toplam Biyoaktif İçerik

Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi (TF)(Folin Yöntemi)

Ekstraktların toplam fenolik madde içeriği Singleton ve ark. (1999) metoduna göre belirlenmiştir. Çalışma için hazırlanmış (2 mg/ml) örnek çözeltilerinden 0.2 ml alınmış ve üzerine 9 ml distile su ilave edildikten sonra 0.2 ml Folin Ciocalteu reaktifi eklenmiş, 3 dk

beklemeye bırakılmıştır. Son olarak 0.6 ml Na₂CO₃ (%20) ilave edilerek, toplam hacim 10 ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Oda sıcaklığında 2 saat karanlıkta inkübe ettikten sonra 760 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Standart kalibrasyon eğrisi oluşturmada gallik asitten faydalanılmıştır. Ana stok olarak 0.1 mg/ml hazırlanmış ve seyreltme ile yedi farklı konsantrasyon elde edilmiştir. Kontrol için 0.2 ml örnek çözeltisi ilave edilmiştir. Gallik asit standart grafiğine göre tüm bitki ekstraktlarındaki toplam fenolik madde mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g ekstrakt olarak hesaplanmıştır. Her bir deneme 4 tekrerrürlü olarak yapılmıştır.

Toplam Flavonoid Madde İçeriğinin Belirlenmesi (TFL)

Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları Arvouet-Grand ve ark. (1994) yöntemine göre yapılmıştır. Deneyin hazırlanışında %10'luk alüminyum nitrattan 100 µl, 1 M potasyum asetatın 100 µl alınıp bitki özütü son konsantrasyonu 100 µg/ml olacak şekilde ekstrakt ilave edilmiştir. Deneyin son hacimi %99'luk etanol ile 5 ml'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 40 dk karanlıkta inkübe ettikten sonra 417 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Kontrol için ekstrakt yerine örnek çözeltilisinden 200 µl ilave edilmiştir. Kuersetin standardı için ana stok 0.5 mg/ml hazırlanmış ve seyreltme ile sekiz farklı konsantrasyon elde edilmiştir. Toplam flavonoid madde içeriği mg kuarsetin eşdeğeri (KE)/g ekstrakt olarak ifade edilmiştir. Her bir deneme 4 tekrerrürlü olarak yapılmıştır.

Radikal Kovucu Aktivite

DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

Ekstraktların serbest radikal aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak belirlenmiştir (Gezer ve ark., 2006). Deney için 4 mg DPPH, 100 ml metanol içerisinde çözülerek derişim hazırlanmıştır. Her bir örnek için 3.2 ml DPPH radikali ve ekstrakt çözeltilerinden 200 µl (500 µg/ml) ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 30 dk karanlıkta inkübe ettikten sonra 517 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Kontrol için deney tüpüne 200 µl ekstrakt çözücüsü ilave edilmiştir. Her bir deneme 3 tekrerrürlü olarak

yapılmış, her tekerrür iki tekrarlı olarak yapılmıştır. DPPH radikali süpürücü %'sinin belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\% \text{ DPPH süpürücü aktivite} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{ekstrakt}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

ABTS Radikal Süpürücü Aktivite Tayini

ABTS radikal kovucu aktivite Miller ve ark., (1993) ve Re ve ark., (1999)'nın yöntemleri modifiye edilerek belirlenmiştir. Kısaca ABTS radikali, 30 mg ABTS ile 7.8 ml distile su içerisinde 6.6 mg çözünmüş potasyum persülfat karıştırılarak ve 12-16 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilerek elde edilmiştir. Daha sonra ABTS 734 nm'de absorban değeri 0.700±0.020 olacak şekilde distile su ile seyreltilmiştir. Deney için 100 µl (2 mg/ml) örnek üzerine 2.8 ml ABTS solüsyonu eklenmiş, 30 dk oda sıcaklığında inkübe ettikten sonra 734 nm'de absorban ölçümü yapılmıştır. ABTS radikal süpürücü aktivitesinin % inhibisyon değeri aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir.

$$\% \text{ ABTS süpürücü aktivite} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{ekstrakt}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

İstatistik Analizler

Elde edilen verilere Düzgüneş ve ark. (1983) tarafından bildirildiği şekilde varyans analizi ANOVA prosedürüne göre yapılmıştır. Ortamalar arası fark Duncan kıyaslama testine göre p<0.05 ve p<0.01 seviyesinde değerlendirilmiştir. Yüzde değerler istatistiki analizden önce açı değerlerine dönüştürülerek (Snedecor ve Cochran 1967), varyans analizine tabi tutulmuştur. Ayrıca her bir örnek için TF, TFL, DPPH ve ABTS arasındaki ilişki korelesyon (Pearson) analizi ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

Çizelge 2. *R. montana* ve *R. chalepensis* ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid içerikleri

Çözücü	Örnekler	Toplam Fenolik İçerik		Toplam Flavonoid İçerik	
		mg GAE/g ekstrak	mg GAE/g KA	mg KE/g ekstrak	mg KE/g KA
Metanol	RC	49.60±0.17 bB	4.96±0.02 bB	47.53±0.19 aA	4.75±0.02 bB
	RM1	47.02±0.51 cC	7.11±0.08 aA	32.70±0.16 cB	4.94±0.02 aA
	RM2	53.55±0.07 aA	3.63±0.00 cC	18.94±0.24 eD	1.30±0.02 eE
Etanol	RC	54.10±0.13 aA	2.65±0.01 dD	46.89±0.16 bA	2.29±0.01 cC
	RM1	38.05±0.06 dD	2.69±0.00 dD	27.71±0.08 dC	1.96±0.01 dD
	RM2	49.63±0.11 bB	1.32±0.00 eE	7.24±0.04 dF	0.19±0.00 fF

RC: *R. chalepensis* ekstraktı, RM1: *R. montana* çiçek-yaprak ekstraktı, RM2: *R. montana* gövde ekstraktı, istatistiksel olarak her sütun ayrı değerlendirilmiş ve farklılıklar p<0.05 seviyesine göre küçük harfle/ p<0.01 seviyesine göre büyük harfle belirtilmiştir.

Toplam flavonoid içerik kuarsetin eşdeğer olarak hesaplanmıştır. İki farklı çözücüde hem ekstraktın hem de kuru madde miktarının toplam flavonoid içerikleri tespit edilmiştir. Örneklerin TFL içeriği 1 g ekstrakta 47.53±0.19 ila 7.24±0.04 mg KE/g ekstrak olarak değişmiş ve istatistiki olarak farklılık bulunduğu belirlenmiştir. En yüksek TFL içerik metanol ve etanol RC ekstraktından, sırasıyla 47.53±0.19 mg KE/g ve 46.89±0.16 mg KE/g olarak elde edilmiştir. İstatistiki olarak p<0.05 seviyesinde

BULGULAR ve TARTIŞMA

Toplam bioaktif madde içerikleri

Ruta L. türlerinin metanol ve etanol çözücülerinden elde edilen ekstraktlarının toplam bioaktif madde (toplam fenolik ve flavonoid madde) içerikleri spektrofotometrik yöntemle belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir.

Toplam fenolik içerik Folin yöntemine göre gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. İki farklı çözücüde hem ekstraktın hem de kuru madde miktarının toplam fenolik içerikleri tespit edilmiştir.

Örneklerin TF içeriği 1 g ekstrakta 38.05±0.06 ila 54.10±0.13 mg GAE/g ekstrak arasında değiştiği ve istatistiki olarak farklılık bulunduğu belirlenmiştir. En yüksek TF içerik etanol RC ekstraktlarında 54.10±0.13 mg GAE/g ekstrak olarak bulunmuş ve metanol RM2 53.55±0.07 mg GAE/g ekstrak ile istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır. Bunu sırasıyla etanol RM2 49.63±0.11, metanol RM1 49.60±0.17, metanol RM1 47.02±0.51 ve etanol RM1 38.05±0.06 mg GAE/g ekstrak izlemiştir. Ayrıca etanol RM2 ve metanol RM1 istatistiki olarak p<0.05 ve p<0.01 seviyelerinde aynı grupta yer almıştır.

TF içerik 1 g kuru maddede 7.11±0.08 ila 1.32±0.00 mg GAE/g kuru madde olarak saptanmıştır. En yüksek TF içerik metanol RM1M 7.11±0.08 mg GAE/g kuru madde ve bunu sırasıyla metanol RC > metanol RM2 > etanol RM1 = etanol RC > etanol RM2 takip ettiği belirlenmiştir.

anlamli farklılık gözlenirken, p<0.01 seviyesinde farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla metanol RM1 > etanol RM1 > metanol RM2 > etanol RM2 takip etmiştir.

TFL içerik 1 g kuru maddede ise 4.94±0.02 ila 0.19±0.00 mg KE/g kuru madde olarak değişiklik göstermiş ve örnekler arasında istatistiki farklılıklar olduğu gözlenmiştir. En yüksek TFL içerik metanol RM1 ve RC ekstraktlarında sırasıyla 4.94±0.02 ve 4.75±0.02 mg KE/g kuru madde belirlenmiş ve

istatistiki fark olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$, $p < 0.01$). Diğer örneklerdeki TFL içerik bakımından sırasıyla etanol RC > etanol RM1 > metanol RM2 > etanol RM2 azalma olduğu tespit edilmiştir.

Ruta chalepensis L. (toprak üstü kısmı) ve *R. montana* L. (yaprak-çiçek ve gövdekısımları) türlerinin metanol ve etanol ekstraktlarının TF ve TFL içerikleri incelenmiştir. Fenolik bileşim bakımından 54.10 ± 0.13 mg GAE/g ekstrakt ile etanol *Ruta chalepensis* ekstraktı ve 53.55 ± 0.07 mg GAE/g ekstrakt ile metanol *R. montana* L. (gövde kısımları) içerik bakımından en zengin ekstrakt olarak bulunmuştur. Fakat örneklerin kuru ağırlıkları değerlendirildiğinde en yüksek TF içerik 7.11 ± 0.08 mg GAE/g ile metanol *R. montana* L. (yaprak-çiçek kısımları) örneklerinde olduğu tespit edilmiştir.

TFL içerik en fazla *Ruta chalepensis*'in metanol ve etanol ekstraktından elde edilmiştir. Fakat örneklerin kuru ağırlıkları değerlendirildiğinde en yüksek *R. montana* L. (yaprak-çiçek kısımları) metanol ekstraktlarında bulunmuştur. Örneklerin g ekstrakt ve kuru ağırlık içerisindeki TF ve TFL içeriklerinin farklı olması örneklerin ekstraksiyon veriminden kaynaklanmaktadır. Genel olarak, metanol ekstraktları etanol ekstraktlarına göre daha fazla toplam fenolik ve flavonoid içeriklere sahip olmuştur.

Ruta chalepensis türünün farklı ekstraktlardaki TF ve TFL içeriği hakkında birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmadaki türlerin Türkiye lokalitesine ait olması, diğer çalışmalardan farklı kılmaktadır. Bu çalışma sonuçlarına benzer olarak Fakhfakh ve ark. (2012) TF içeriğini etanol ekstraktında 54.13 mg GAE/g ekstrakt bulmuşlardır. Gali ve Bedjou (2018) en yüksek TF içeriği 210.00 ± 4.93 µg GAE/mg ekstrakt ile butanol ekstraktında bulmuş, hatta etil asetat ekstraktında etanol (61.61 ± 0.70 µg GAE/mg ekstrakt) ekstraktından daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Kacem ve ark. (2015) etanol, su, hekzan, etil asetat çözücülerinden en yüksek TF içeriği 178 mg GAEs/g ekstrakt ile etanol ekstraktından elde etmişlerdir. Ouerghemmi ve ark. (2017) *Ruta chalepensis* bitkisinin farklı kısımlarına ait metanol örneklerin TF içeriklerini 0.2 ile 168.91 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bildirmişlerdir. Ereifej ve ark. (2015) metanol ekstraktın TF içeriğini 1328.8 mg GAE/100 g kuru ağırlık bulmuşlardır. Değerler arasındaki farklılığın lokalite ve ekstraksiyon yöntemlerinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Son zamanlardaki bir çalışmada, Loizzo ve ark. (2018) *R. chalepensis* yaprak kısmının etanol ekstraktında TF içeriğini 6.22 mg GAE/g KA ve TFL içeriğini 6.59 mg KE/g KA olarak rapor etmişlerdir. Bu çalışmadaki *R. chalepensis* örneklerinin aynı çözücüdeki herba ekstaktlarının TF ve TFL içeriğinin kuru madde olarak değerlendirildiğinde daha düşük değerlere sahip olduğu (sırasıyla, 2.65 mg GAE/g KA ve 2.29 mg KE/g KA) saptanmıştır. Bu farklılığın bitkinin farklı

kısımlarının kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Fakat yüksek oranda TFL içeriğine sahip olmasının, bu çalışma sonuçları ile benzer olduğu gözlenmiştir. Ouerghemmi ve ark. (2017) in vivo ve kültür *Ruta chalepensis* bitkisinin farklı kısımlarına ait metanol örneklerin 0.1 ila 50 mg kateşin eşdeğer/g kuru ağırlık arasında olduğunu bildirmiştir. *Ruta montana* türü için, Khadhri ve ark. (2017) etanol gövde ekstraktların yaprak ekstraktlarından daha fazla TF içeriğe sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmadaki *R. montana* türünün kuru ağırlığındaki TF içeriği ile benzer olduğu gözlenmiştir.

Radikal Kovucu Aktivite

Flavonoidler, polifenoller, tanenler ve diğer fenolikler gibi bitkilerin çeşitli fitokimyasalları (sekonder metabolitleri), serbest radikal kovucular olarak hizmet eden bileşenlerin ana grubudur. Bu çalışmada iki farklı *Ruta* L. türünün etanol ve metanol çözücülerinden elde edilen ekstraktlarının ABTS ve DPPH radikallerini süpürme aktivitesi incelenmiştir. Sonuçlar % inhibisyon olarak ifade edilmiştir.

DPPH radikali, reaksiyon kolaylığı nedeniyle serbest radikal kovucu aktivitesinin değerlendirilmesinde büyük ölçüde kullanılmaktadır. DPPH radikali, stabil bir DPPH-H molekülü oluşturmak için hidrojen bağış yoluyla bir antioksidan bileşiği ile temizlendiğinde, çözeltinin rengi mordan sarıya döner (Gangwar ve ark., 2014). Mevcut çalışmada 100 µg/ml ekstraktların kararlı mor DPPH radikali sarıya dönüştürdüğü tespit edilmiştir. En güçlü aktivite metanol RC ekstraktında % 80.1 bunu sırasıyla metanol RM1, etanol RC, metanol RM2, etanol RM1 ve RM2 takip etmiştir. En düşük aktivite % 61.1 ile etanol RM2 ekstraktında gözlenmiştir (Şekil 2). İstatistiki olarak her bir ekstrakt arasında anlamlı farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$, $p < 0.01$).

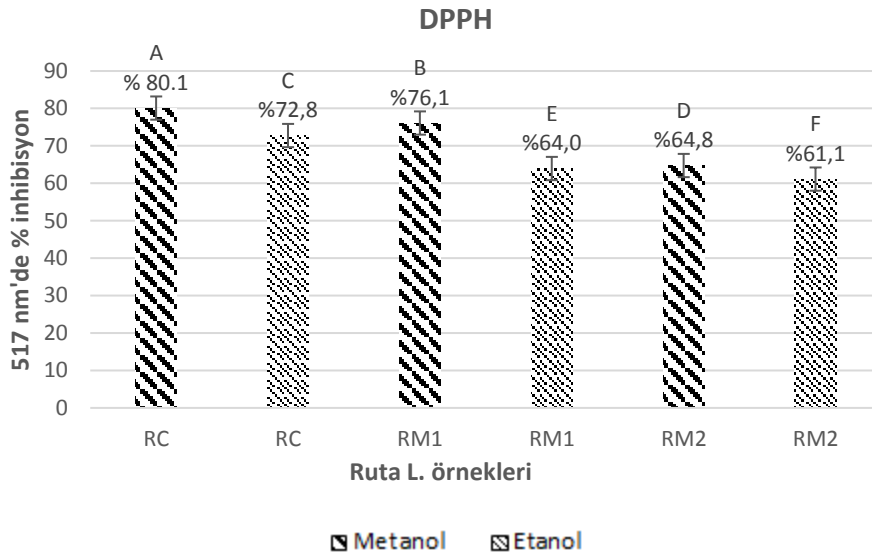
ABTS radikali mavi renkli olup, maviden renksiz forma bir antioksidan bileşik ile dönüşmektedir (Boligon ve ark., 2014). Şekil 3'te görüldüğü üzere, ABTS radikal kovucu aktivitesi, değerlendirilen tüm ekstraktların 200 µg/ml'lik konsantrasyonunda % 54.81 - % 40.35 arasında değişmiştir. En yüksek değer % 54.81 ile etanol RC ekstraktında belirlenmiş ve diğer ekstraktlarla aralarında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Bunu % 48.81 ile metanol RC ekstraktı, % 48.22 ile etanol RM2, % 45.87 ile metanol RM1, % 43.83 ile metanol RM2 takip etmiş ve istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir ($p < 0.01$). En düşük aktivite ise % 40.35 ile etanol RM2 ekstraktlarında tespit edilmiştir.

En çok kullanılan radikal kovucu aktivitelere olan DPPH ve ABTS aktiviteleri sırasıyla 100 µg/ml ve 200 µg/ml konsantrasyonlarda incelenmiştir. Her iki radikal için en güçlü aktivite metanol *Ruta chalepensis* ekstraktında belirlenmiştir. ABTS

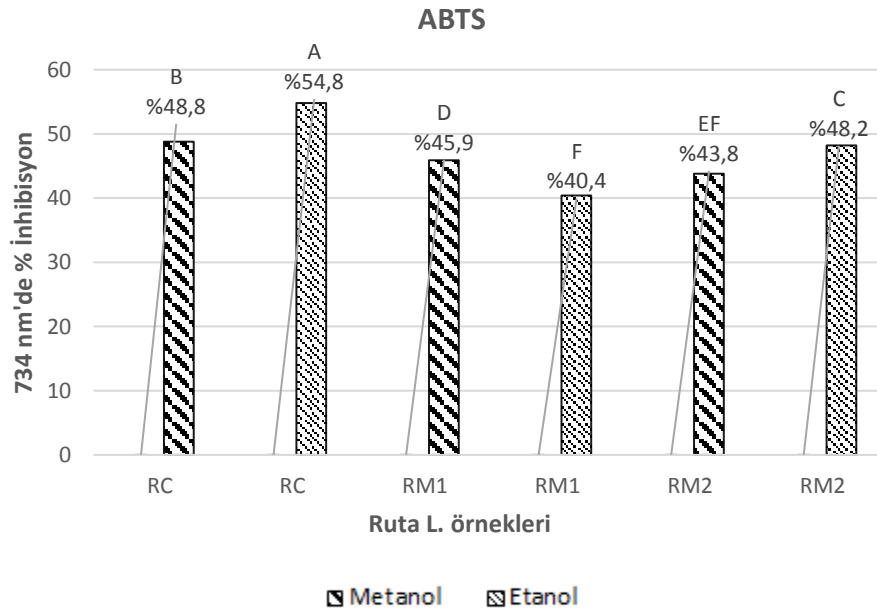
radikali için ise metanol *R. montana* L. (yaprak-çiçek kısımları) örneklerin ekstraktında, *Ruta chalepensis* ve *R. montana* L. (gövde kısımları) örneklerinde ise etanol ekstraktları daha fazla aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

DPPH için tüm örneklerin metanol ekstraktlarının etanol ekstraktlarına göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir. *Ruta chalepensis* türü hakkında yapılan bir çalışmada yaprak örneklerinin etanol ekstraktın sulu ekstrakt ile sentetik standart olan bütil hidroksi toluen'den daha düşük ve uçucu yağ örneklerinden ise daha yüksek radikal kovucu aktiviteye sahip olduğu vurgulanmıştır (Fakhfakh ve ark., 2012). Fakat diğer bir çalışmada *R. chalepensis* türünün yaprak-gövde

örneğin etanol ekstraktının su, etil asetat ve hekzan ekstraktından daha fazla radikal kovucu aktivitesine sahip olduğunu, hatta sulu ekstrakt aktivitesinin etil asetat ekstraktından daha az olduğunu bildirmiştir (Kacem ve ark., 2015). Ayrıca Kacem ve ark. (2015) ekstraktların farklı konsantrasyonlarda radikal kovucu aktivitesini incelemişler ve etanol ekstraktın 0.125 mg/ml örneğinin % inhibisyonunu yaklaşık %80-70 arasında bulmuşlardır. Bu değer bu çalışma ile örtüştüğü gözlenmiştir. Gali ve Bedjou (2018) bu çalışmadaki ile benzer ekstraksiyon yöntemi kullanmış ve *R. chalepensis* türünün toprak üstü etanol ekstraktının, bütanol ile etil asetat ekstraktlarından daha düşük aktivite sergilediğini bildirmişlerdir.



Şekil 2. *R. montana* ve *R. chalepensis* ekstraktlarının DPPH serbest radikal kovucu aktivitesi. RC: *R. chalepensis*, RM1: *R. montana* çiçek-yaprak ekstraktı, RM2: *R. montana* gövde ekstraktı. İstatiksel olarak ortalamalar arasındaki fark $p < 0.01$ seviyesine göre büyük harfle sütun üzerlerinde belirtilmiştir.



Şekil 3. *R. montana* ve *R. chalepensis* ekstraktlarının ABTS serbest radikal kovucu aktivitesi. RC: *R. chalepensis*, RM1: *R. montana* çiçek-yaprak ekstraktı, RM2: *R. montana* gövde ekstraktı. İstatiksel olarak ortalamalar arasındaki fark $p < 0.01$ seviyesine göre büyük harfle sütun üzerlerinde belirtilmiştir.

Ouerghemmi ve ark. (2017) *R. chalepensis* türünün en yüksek DPPH aktivitesinin sırasıyla çiçek, yaprak ve gövde metanol ekstraktlarında olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışma ile benzer olarak *R. montana* türünün her iki çözelti için de yaprak-çiçek ekstraktları gövde ekstraktlarından daha yüksek DPPH aktivitesine sahip olduğu saptanmıştır.

Korelasyon

Toplam biyoaktif içerikler ile radikal kovucu aktiviteler arasındaki ilişkiler yapılan istatistiki analizle önemli bulunmuştur (Çizelge 3). Etanol ve metanollü her bir ekstraktın TF/TFL, TF/DPPH, TF/ABTS, TFL/DPPH ve TFL/ABTS etkileşimleri ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Çizelge 3. *Ruta L.* bitkilerinin etanol ve metanol ekstraktlarının toplam bioaktif bileşikleri ile radikal kovucu aktiviteler arasındaki korelasyon

Çözücü	Örnekler	TFL	DPPH	ABTS
	TF			
Metanol	RC	-0.770	-0.824	-0.605
	RM1	-0.888	0.192	0.185
	RM2	-0.999**	0.888	0.252
Etanol	RC	-0.711	-0.978*	-0.899
	RM1	-0.675	-0.571	-0.301
	RM2	-0.289	0.951*	-0.522
	TFL			
Metanol	RC		0.987*	0.948
	RM1		0.276	0.279
	RM2		-0.900	-0.295
Etanol	RC		0.551	0.406
	RM1		0.988	-0.169
	RM2		-0.569	-0.364

* Korelasyonun 0.05 seviyesinde önemli, ** Korelasyonun 0.01 seviyesinde önemli

Metanol RM1 ekstraktın TF içeriğinin TFL içeriği üzerine yüksek derecede negatif etkiye sahip olduğu ($r=0.999$) ve istatistiki olarak 0.01 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir. Li ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışmalarında, TF ve TFL arasında pozitif bir korelasyon ($r = 0.685$) olduğunu bildirmişlerdir. DPPH ve ABTS üzerine ise pozitif etki gösterdiği ve istatistiki fark olmadığı gözlenmiştir. Benzer şekilde TFL içeriğinin DPPH ve ABTS üzerinde pozitif etkiye sahip olduğu ve istatistiki bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Etanol RM1 ekstraktın TF içeriği TFL, DPPH ve ABTS üzerine negatif etkiye sahip olduğu, TFL içeriğinin DPPH üzerine yüksek derecede pozitif etkiye ve ABTS üzerine de negatif etkiye sahip olduğu ve uygulamalar arasında istatistiki bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Metanol RM2 ekstraktının TF içeriğinin TFL, DPPH ve ABTS üzerine, TFL içeriğinin ise DPPH ve ABTS üzerine negatif etkiye sahip olduğu ve istatistiki fark olmadığı gözlenmemiştir.

Etanol RM2 ekstraktının TF içeriğinin TFL ve ABTS

Metanol RC ekstraktının TF içeriği TFL, DPPH ve ABTS üzerine negatif korelasyon etkiye sahip olduğu ve istatistiki bir öneme sahip olmadığı gözlenmiştir. Fakat TFL içeriği ile DPPH ve ABTS üzerine yüksek derecede pozitif etkiye sahip olduğu ve TFLxDPPH arasında istatistiki olarak 0.05 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir ($r=0.987$).

Etanol RC ekstraktın da TF içeriği TFL, DPPH ve ABTS üzerine yüksek derecede negatif korelasyon etkiye ($r=0.978$) sahip olduğu ve TFLxDPPH arasında istatistiki olarak 0.05 seviyesinde önemli olduğu saptanmıştır. TF içeriğinin DPPH ve ABTS üzerine pozitif etki gösterdiğini ve istatistiki fark olmadığı gözlenmiştir.

üzerine negatif korelasyon etkiye sahip olduğu ve istatistiki bir öneme sahip olmadığı saptanmıştır. Fakat DPPH üzerine yüksek derece pozitif etkiye ($r=0.951$) sahip olduğu ve istatistiki olarak 0.05 seviyesinde önemli olduğu belirlenmiştir. Birçok çalışma, TF ve antioksidan arasında pozitif ve negatif korelasyon olabileceğini göstermiştir (Katalinic ve ark., 2006; Ahn ve ark. 2007; Jastrzebski ve ark. 2007; Kettawan ve ark. 2011). TFL içeriği ile DPPH ve ABTS arasında negatif etkiye sahip olduğu ve istatistiki fark olmadığı gözlenmiştir.

SONUÇ

Türkiye florasından toplanan *R. chalepensis* ve *R. montana* türlerinin yüksek oranda TF ve TFL içerdikleri gözlenmiştir. Her iki tür için de metanol ekstraktlarının ekstraksiyon verimi ile TF ve TFL içeriklerinin etanol ekstraktlarına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer sonuç ekstraktların DPPH aktivitesinde de gözlenmesine rağmen, ABTS aktivitesinde sadece *R. montana* türünün çiçek-yaprak ekstraktında gözlenmiştir. Bu çalışmadaki *R.*

chalepensis ve *R. montana* türlerinin kendi aralarında ve diğer çalışmalarla arasındaki varyasyonların sebebinin tür, organ, fizyolojik yaş, hasat zamanı, lokalite gibi biyokimyasal ve fizyolojik yapılarını etkileyen farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmüştür. Fakat buna rağmen bitkilerin yüksek oranda radikal kovucu aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre geleneksel tıpta günümüzde dahi aktif olarak kullanılan bu türlerin gıda, kozmetik ve farmakoloji gibi alanlarda doğal antioksidan kaynağı olarak tedavide, koruyucu ve katkı maddesi gibi kullanılabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bitki örnekleri Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri koordinatörlüğü tarafından desteklenen proje (Proje no: 13201023) sayesinde toplanmıştır. Desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

- Aguiar-Santamaria L, Tortoriello J 1995. Anticonvulsant and sedative effects of crude extracts of *Ternstroemia pringlei* and *Ruta chalepensis*. *Phytother Res*, 10:531e3.
- Ahn J, Grün IU, Mustapha A 2007. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiology*, 24:7–14.
- Al-Said MS, Tariq M, Al-Yahya MA, Rafatullah S, Ginnawi OT, Ageel AM 1990. Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine. *J Ethnopharmacol.*, 28:305–312.
- Bajaj S, A. Urooj, Prabhasankar P 2006. Effect of incorporation of mint on texture, colour and sensory parameters of biscuits. *International Journal of Food Properties*, 9:691-700.
- Bejar E, Bussmann R, Roa C, Sharon, D 1997. Herbs of Southern Ecuador. A Field Guide to the Medicinal Plants of Vilcabamba. Rodale Press, 256-257.
- Boligon AA, Machado MM, Athayde ML 2014. Technical Evaluation of Antioxidant Activity. *Medicinal chemistry*, 4(7):517-522.
- Caleja C, Barros L, Antonio AL, Ciric A, Barreira JCM, Soković M, ve ark. 2015. Development of a functional dairy food: Exploring bioactive and preservation effects of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Journal of Functional Foods*, 16:114-124.
- Di Stasi LC, Hiruma CA, Guimaraes CM 1994. Medicinal plants used in Brazilian Amazon. *Fitoterapia*, 65:529–540.
- El Guiche R, Tahrouch S, Amri O, El Mehrach K, Hatimie A 2015. Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of 30 medicinal and aromatic plants located in the South of Morocco. *Int J New Technol Res.*, 1(3):7–11.
- Ereifej, K.I., Feng, H., Rababah, T., Almajwal, A., Alúdtat, M., Gammoh, S.I., Oweis, L.I., 2015. Chemical composition, phenolics, anthocyanins concentration and antioxidant activity of ten wild edible plants. *Food and Nutrition Sciences* 6:581–590.
- Fakhfakh N, Zouari S, Zouari M, Loussayef C, Zouari N 2012. Chemical composition of volatile compounds and antioxidant activities of essential oil, aqueous and ethanol extracts of wild Tunisian *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae). *Journal of Medicinal Plant Research*, 6:593–600.
- Forment M, H Roques 1941. Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Ed. OFALAC, 59.
- Gali L, Bedjou F 2018. Antioxidant and anticholinesterase effects of the ethanol extract, ethanol extract fractions and total alkaloids from the cultivated *Ruta chalepensis*, South African Journal of Botany, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.04.011>.
- Gangwar M, Gautam MK, Sharma AK, Tripathi YB, Goel RK, Nath G 2014. Antioxidant Capacity and Radical Scavenging Effect of Polyphenol Rich *Mallotus philippensis* Fruit Extract on Human Erythrocytes: An In Vitro Study. *Scientific World Journal.*, 12.
- Gonzalez-Trujano ME, Carrera D, Ventura-Martinez R, Cedillo-Portugal E, Navarrete A 2006. Neuropharmacological profile of an ethanol extract of *Ruta chalepensis* L. in mice. *J Ethnopharmacol.*, 106:129–135.
- Günaydin K, Göycüncük S 2005. Phytochemical studies on *Ruta chalepensis* (LAM.) Lamarck. *Natural Product Research*, 19(3):203-210.
- Iauk L, Mangano K, Rapisarda A, Ragusa S, Maiolino L, Musumeci R, Costanzo R, Serra A, Speciale A 2004. Protection against murine endotoxemia by treatment with *Ruta chalepensis* L., a plant with anti-inflammatory properties. *J Ethnopharmacol.*, 90:267–272.
- Jastrzebski Z, Medina OJ, Moreno LM, Gorinstein S 2007. *In vitro* studies of polyphenol compounds, total antioxidant capacity and other dietary indices in a mixture of plants (Prolipid). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58:531–541.
- Kacem M, Kacem I, Simon G, BenMansour A, Chaabouni S, Elfeki A, Bouaziz M 2015. Phytochemicals and biological activities of *Ruta chalepensis* L. growing in Tunisia. *Food Bioscience*, 12:73–83.
- Kacem M, Simon G, Leschiera R, Misery L, Elfeki A, Lebonvallet N 2014. Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Ruta chalepensis* L.

- extracts on LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.*, 51:128–141.
- Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94:550–557.
- Kettawan A, Chanlekha K, Kongkachuichai R, Charoensiri R 2011. Effect of cooking on antioxidant activities and polyphenol content of edible mushrooms commonly consumed in Thailand. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10:1094–1103.
- Khadhri A, Bouali I, Belkhir S, Mokded R, Smiti S, Falé P, Eduarda M, Araújo M, Luisa M, Serralheiro M 2017. *In vitro* digestion, antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of two species of *Ruta*: *Ruta chalepensis* and *Ruta montana*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1):101-107.
- Kubitzki K, Kallunki JA, Duretto M, Wilson PG 2011. Rutaceae. In: Kubitzki, K. (Ed) *The families and genera of vascular plants*. Vol. 10, Springer Verlag, Berlin, 276–356.
- Khlifi D, Sghaier RM, Amouri S, Laouini D, Hamdi M, Bouajila J 2013. Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalepensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food Chem Toxicol.*, 55:202–208.
- Li P, Sun W, Luo C, Shan T, Mou Y, Lu S, Mao Z, Zhou L 2012. *In vitro* evaluation of antioxidant activities of polysaccharides from the endophytic fungus *Berkleasium* sp. Dzf12. *African Journal of Microbiology Research* 6:471–477.
- Loizzo MR, Falco T, Bonesi M, Sicari V, Tundis R, Bruno M 2018. *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) leaf extract: chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities. *Natural Product Research*, 32(5):521–528.
- Mansour SS, Tarik MY, Rafatullah MAS, Ginnawi OT, Ageel AM 1990. Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine. *J Ethnopharmacol.*, 28:305–312.
- Martínez-Pérez EF, Hernández-Terán F, Serrano-Gallardo LB 2017. *In Vivo* Effect Of *Ruta chalepensis* extract On Hepatic Cytochrome 3A1 In Rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med.*, 14(4):62–68.
- Morton CM, Telmer C 2014. New Subfamily Classification for the Rutaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 99(4):620-641.
- Narayanasamy B, Jeyakumar N, Manoharan DK 2018. Effect of natural antioxidants on the oxidation stability of methyl ester of rubber seed oil. *Journal Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 40 (6):680-687.
- Ouerghemmi I, Rebey IB, Rahali FZ, Bourgou S, Pistelli L, Ksouri R, Marzouk B, Tounsi MS 2017. Antioxidant and antimicrobial phenolic compounds from extracts of cultivated and wild-grown Tunisian *Ruta chalepensis*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2):350-359.
- Park JH, Lee HS 2015. Inhibitory effects of quinoline isolated from *Ruta chalepensis* and its structurally related derivatives against α -amylase or α -glucosidase. *J Appl Biol Chem.*, 58:5–8.
- Pasqualone A, Bianco AM, Paradiso VM, Summo C, Gambacorta G, Caponio F, Blanco A 2015. Production and characterization of functional biscuits obtained from purple wheat. *Food Chemistry*, 180:64-70.
- Perry LM 1980. *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*. The MIT Press, Boston, MA, pp. 368.
- Pollio A, De Natale A, Appetiti E, Aliotta G, Touwaide A 2008. Continuity and change in the Mediterranean medical tradition: *Ruta* spp. (Rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices. *J Ethnopharmacol.*, 116:469–482.
- Ramesh BN, Rao TSS, Prakasam A, Sambamurti K, Rao KSJ 2013. Neuronutrition and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 19:1123–1139.
- Salvo G, Ho SYW, Rosenbaum G, Ree R, Conti E 2010. Tracing the temporal and spatial origins of island endemics in the Mediterranean region: a case study from the citrus family (*Ruta* L., Rutaceae). *Systematic Biology*, 59:705–722.
- Shah MA, Don Bosco SJ, Mir SA 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98, pp. 21-33.
- Townsend CC 1967. *Haplophyllum* A.Juss. In: Davis, P.H (Ed.) *Flora of Turkey and The Aegean Islands*, vol 2. Edinburgh University Press, Edinburgh, pp 496–506.
- Tugay O 2012. Rutaceae. Şu eserde: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M. T., (edlr.) *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. NezahatGökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.
- Turgay O, Ulukuş D 2017. *Haplophyllum sahinii*(Rutaceae), a new species from Central Anatolia (Turkey). *Phytotaxa*, 29(3):265–272.
- Ulubelen A, Ertugrul L, Birman H, Yigit R, Erseven G, Olgac V 1994. Antifertility effects of some coumarins isolated from *Ruta chalepensis* and *R. chalepensis* var. *latifolia* in rodents. *Phytother Res.*, 8:233–236.
- Zellagui A, Belkassam A, Belaidi A, Gherraf N 2012. Environmental impact on the Chemical Composition and yield of essential oils of Algerian *Ruta Montana* (Clus.) L and their antioxidant and antibacterial activities. *Advances in Environmental Biology*, 6 (10):2684-2688.