

ARTICLE TYPE: REVIEW

Rutaceae (Sedefotugiller) Ailesine Ait Bazı Haplophyllum Türlerinin Sitotoksik Etkileri Üzerine Bir Çalışma: H. Gilesii, H. Tuberculatum, H. Myrtifolium, H. Megalanthum, H. Buxbaumii, H. Acutifolium ve H. Vulcanicum

A Study on the Cytotoxic Effects of Some Haplophyllum Species of the Rutaceae Family: H. Gilesii, H. Tuberculatum, H. Myrtifolium, H. Megalanthum, H. Buxbaumii, H. Acutifolium and H. Vulcanicum

Mustafa Orhan Tunçel^{1*}, Mehmet Ramat², Kadir Eği³

¹İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Temel Eczacılık Bilimleri ABD, Malatya, Türkiye, mustafatuncel22@gmail.com, ORCID: 0000-0002-8999-2223

²Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya ABD, Şanlıurfa, Türkiye, mehmet_ramat1@harran.edu.tr, ORCID: 0000-0003-4922-6708

³Harran Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Diyaliz Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye, egikadir499@gmail.com, ORCID: 0000-0003-4802-0994

ÖZET

Amaç: Rutaceae familyasına ait *Haplophyllum* cinsinin (*H. gilesii*, *H. tuberculatum*, *H. myrtifolium*, *H. megalanthum*, *H. buxbaumii*, *H. acutifolium*, *H. vulcanicum*) fitokimyasal çeşitliliğini ve kanser hücre hatları üzerindeki potansiyel sitotoksik/antiproliferatif etkilerini mevcut literatür ışığında özetlemek ve araştırma boşluklarını belirlemek.

Materyal ve Metot: Bu derleme çalışmasında ilgili tür adları ve “*Haplophyllum*”, “phytochemistry”, “coumarin/alkaloid/lignan/flavonoid”, “cytotoxicity”, “antiproliferative”, “apoptosis”, “IC50” anahtar kelimeleri kullanılarak uluslararası veri tabanlarında (ör. PubMed, Scopus, Web of Science) yapılandırılmış arama yapılmış; özgün araştırma, izolasyon/kimyasal karakterizasyon ve in vitro biyolojik aktivite çalışmalarına odaklanılmıştır.

Bulgular: *Haplophyllum* türlerinin kumarinler, alkaloidler, lignanlar ve flavonoidlerce zengin olduğu; bu sınıfların MTT, WST-1 ve brine shrimp gibi testlerde antiproliferatif ve apoptotik yanıtlarla ilişkili bulunduğu görülmüştür. Özellikle *H. acutifolium* ve *H. buxbaumii* seçici sitotoksikite açısından öne çıkarken, *H. megalanthum*’dan izole edilen bazı bileşiklerin düşük IC₅₀ değerleri yüksek antikanser potansiyeli işaret etmektedir. Etki profilleri, türlerin fitokimyasal çeşitliliğiyle uyumlu bir biçimde değişkenlik göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç: Literatür, *Haplophyllum* türlerinin farmasötik araştırmalar için güçlü adaylar sunduğunu göstermektedir. Seçici etki ve düşük IC₅₀ değerleri ilaç keşfi açısından umut vericidir. Bununla birlikte, standardize ekstraksiyon/deney tasarımları, mekanistik doğrulamalar (hedef/pro-apoptotik yollar) ve in vivo/ADME-toksikite verileri sınırlıdır. Gelecek çalışmalar, biyolojik çeşitliliğin korunmasını gözeterek sürdürülebilir örneklemeye, saf bileşik düzeyinde hedef tayini ve yapı-etki ilişkisi analizlerine odaklanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Fitokimyasal bileşikler, *Haplophyllum* türleri, Kanser hücre hatları, Seçici antikanser etki, Sitotoksikite

ABSTRACT

Objective: To summarize the phytochemical diversity and potential cytotoxic/antiproliferative effects of the genus *Haplophyllum* (*H. gilesii*, *H. tuberculatum*, *H. myrtifolium*, *H. megalanthum*, *H. buxbaumii*, *H. acutifolium*, *H. vulcanicum*) of the Rutaceae family on cancer cell lines in the light of the current literature and to identify research gaps.

Material and Methods: This study is a review. A structured search was conducted in international databases (e.g., PubMed, Scopus, Web of Science) using relevant species names and keywords such as “*Haplophyllum*,” “phytochemistry,” “coumarin/alkaloid/lignan/flavonoid,” “cytotoxicity,” “antiproliferative,” “apoptosis,” and “IC50.” The search focused on original research, isolation/chemical characterization, and in vitro biological activity studies.

Results: *Haplophyllum* species are rich in coumarins, alkaloids, lignans, and flavonoids; these classes have been shown to be associated with antiproliferative and apoptotic responses in tests such as MTT, WST-1, and brine shrimp. *H. acutifolium* and *H. buxbaumii*, in particular, stand out for their selective cytotoxicity, while low IC₅₀ values for some compounds isolated from *H. megalanthum* indicate high anticancer potential. Their activity profiles vary in accordance with the phytochemical diversity of the species.

Discussion and Conclusion: Literature indicates that *Haplophyllum* species offer strong candidates for pharmaceutical research. Their selective activity and low IC₅₀ values are promising for drug discovery. However, standardized extraction/experimental designs, mechanistic validation (target/pro-apoptotic pathways), and in vivo/ADME toxicity data are limited. Future studies should focus on target identification and structure-activity analysis at the pure compound level, with sustainable sampling while considering the conservation of biodiversity.

Keywords: Phytochemical compounds, *Haplophyllum* species, Cancer cell lines, Selective anticancer activity, Cytotoxicity

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mustafa Orhan Tunçel, İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Temel Eczacılık Bilimleri ABD, Malatya, Türkiye, mustafatuncel22@gmail.com, ORCID: 0000-0002-8999-2223

Atıf /Cite: Tunçel MO, Ramat M, Eği K. Rutaceae (Sedefotugiller) Ailesine Ait Bazı Haplophyllum Türlerinin Sitotoksik Etkileri Üzerine Bir Çalışma: H. Gilesii, H. Tuberculatum, H. Myrtifolium, H. Megalanthum, H. Buxbaumii, H. Acutifolium ve H. Vulcanicum. Mehes Journal. 2025;3(3):42-60.



The journal is licensed under a [Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

GİRİŞ

Rutaceae (Sedefotugiller) familyası, Sapindales takımına ait, çiçekli bitkilerden oluşan büyük bir gruptur. Yaklaşık 160 cins ve 2.070 kadar türü kapsayan bu aile; çoğunlukla odunsu çalılar ve ağaçlardan, daha az sayıda çok yıllık otsu bitkiden oluşur. Dünyanın ılıman ve tropikal bölgelerine yayılmış olan bu familya; narenciye türleri, aromatik bitkiler ve ekonomik öneme sahip meyve ağaçlarını içermesiyle dikkat çeker. Rutaceae familyasının geleneksel tıpta, parfümeri ve gastronomide uzun süredir kullanıldığı bilinmektedir. Fitokimyasal incelemeler, bu ailede alkaloidler, kumarinler, flavonoidler, limonoidler ve uçucu yağlar gibi biyoaktif bileşiklerin yaygın olduğunu göstermiştir. Bu bileşiklerin antimikrobiyal, antiprotozoal, antioksidan, antienflamatuar ve larvisit gibi çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediği rapor edilmiştir (1).

Rutaceae ailesinin en zengin cinslerinden biri olan *Haplophyllum*, yaklaşık 133 tür içermekte olup bunlardan 73'ü taksonomik olarak kabul görmüş türlerdir. Bu cinsin üyeleri genellikle çok yıllık otsu bitkiler veya kısa boylu çalılardır ve kurak bölgelerde, taşlık, kumlu ve kayalık arazilerde yetişir. Eski Dünya'nın kuzey yarımküresinde; özellikle İran, Türkiye ve Orta Asya'da yaygın olan bu cins, biyolojik çeşitliliğin önemli temsilcilerinden biri olarak kabul edilir. *Haplophyllum* türleri, mide ve sinir sistemi rahatsızlıkları, ülser, karaciğer ve kalp hastalıkları gibi pek çok sağlık sorununda geleneksel tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bu türlerde; alkaloidler, lignanlar, kumarinler, flavonoidler, uçucu ve eterli yağlar gibi çok sayıda farmakolojik olarak etkili fitokimyasal bileşiğin varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca antimikrobiyal, antioksidan, insektisidal, antiprotozoal, sitotoksik, kardiyovasküler ve antienflamatuar etkiler de bu türlerin farmakolojik profilinde yer almaktadır (1, 2).

Haplophyllum cinsi, tür çeşitliliği bakımından en yoğun olarak İran, Türkiye ve Orta Asya'da gözlenmektedir. Bu alanlar, cinsin taksonomik çeşitliliğini barındıran Irano-Turanian floristik bölgesinin merkezidir ve cinsin toplam türlerinin yaklaşık %60'ı bu bölgede yer almaktadır. İran'da 30, Türkiye'de ise çok sayıda tür bulunmakta olup, bazıları yalnızca sınırlı alanlarda yayılım gösteren “narrow endemic” karakterdedir. Bu durum, çevresel tehditler karşısında türleri oldukça kırılgan hâle getirmektedir. Cinsin daha sınırlı düzeyde de olsa Akdeniz, Saharo-Arap ve Sudano-Zambezya floristik bölgelerinde de varlığı bilinmektedir. Akdeniz bölgesi, *Haplophyllum* çeşitliliğinin yaklaşık %13'ünü barındırır (3).

Sitotoksik etkiler, özellikle antikanser ilaç geliştirme süreçlerinde temel bir yer tutar. Bu etkiler, hücre canlılığının kaybına neden olan biyolojik süreçleri tanımlar ve genellikle apoptoz,

nekroz veya otofaji gibi hücre ölümü mekanizmalarıyla ilişkilidir. Sitotoksik ajanlar, kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyerek veya onları yok ederek terapötik etkilerini gösterir. Ancak aynı ajanların sağlıklı hücreler üzerindeki olumsuz etkileri, tedavi sürecinde istenmeyen toksisiteler oluşturabilir. Bu nedenle, sitotoksik etkinin değerlendirilmesi hem ilaç etkinliğini hem de güvenliğini belirleme açısından kritik öneme sahiptir (4).

İlaç geliştirme sürecinde sitotoksik testleri, aday bileşiklerin hücreler üzerindeki toksik etkilerini değerlendirmek için yaygın olarak uygulanır. Bu testler, hücre canlılığı ve ölümü gibi temel parametreleri ölçerek terapötik potansiyeli yüksek bileşiklerin belirlenmesine yardımcı olur. Aynı zamanda ilaçların doz-tepki ilişkisi ve terapötik indeksi gibi farmakodinamik özelliklerini de ortaya koyar. Bu bilgiler, klinik öncesi ve klinik aşamalarda ilaçların güvenli kullanımını sağlamak açısından vazgeçilmezdir (5).

Sonuç olarak, sitotoksik etkilerin kapsamlı bir biçimde değerlendirilmesi, yeni terapötik ajanların geliştirilmesi ve mevcut tedavilerin optimize edilmesi açısından vazgeçilmez bir aşamadır. Bu değerlendirmeler, hedeflenen etkinin en üst düzeye çıkarılması ve olası yan etkilerin en aza indirilmesi için kritik rol oynar.

Fitokimyasal yönden oldukça zengin olan *Haplophyllum* türlerinde uçucu yağlar (EO'lar) ve uçucu olmayan metabolitler, biyolojik aktivitelerin temelini oluşturmaktadır. Bu cins, başta terpenoidler, kumarinler, alkaloidler, lignanlar ve flavonoidler olmak üzere çeşitli biyoaktif bileşik sınıflarını içerir (6). Özellikle *H. tuberculatum*, *H. myrtifolium*, *H. megalanthum*, *H. buxbaumii*, *H. acutifolium* ve *H. perforatum* gibi türlerin uçucu fraksiyonları; monoterpen hidrokarbonlar, oksijenli monoterpenler ve bazı seskiterpenler açısından zengindir (7-10).

Uçucu olmayan bileşenler arasında, skimmianine, γ -fagarine gibi alkaloidler ile skopoletin gibi kumarinler dikkat çekmekte olup; bu yapıların hem farmakolojik hem de kemotaksonomik açıdan önemi büyüktür (6, 11). Aynı zamanda, bazı türlerde belirlenen 8-hidroksiflavon türevleri ve asetillenmiş flavon glikozitleri, flavonoid çeşitliliğinin göstergesi olarak kabul edilir (11).

Haplophyllum cinsi; geleneksel tedavi uygulamalarındaki yeri ve zengin fitokimyasal profiliyle hem halk sağlığı hem de farmasötik bilimler açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Bu bağlamda, çalışmamızda *H. gilesii*, *H. tuberculatum*, *H. myrtifolium*, *H. megalanthum*, *H. buxbaumii*, *H. acutifolium* ve *H. vulcanicum* türlerinin sitotoksik etkileri derinlemesine ele alınmış ve fitokimyasal içerikleriyle ilişkili olarak değerlendirilmiştir.

Sitotoksik Etkinliğin Önemi ve Farmasötik Araştırmalardaki Yeri

Sitotoksik etkinlik, ilaç keşfi ve geliştirme süreçlerinde farmasötik araştırmaların merkezinde yer alan biyolojik bir ölçüttür. Özellikle doğal ürünlerin ön değerlendirme aşamasında, hücre kültürü modellerinde yürütülen sitotoksikite testleri sayesinde, aday bileşiklerin güvenlik profili ile terapötik potansiyeli hakkında önemli bilgiler elde edilmektedir (5). Bu testler hem kanser hem de enfeksiyöz hastalıklarda kullanılabilecek yeni ajanların tanımlanmasında, hücre proliferasyonunu baskılayan veya apoptozu tetikleyen mekanizmaların belirlenmesine olanak tanır.

In vitro sitotoksikite testleri, yalnızca biyolojik etkinlik değil, aynı zamanda doz-tepki ilişkisi, seçicilik indeksi ve terapötik pencere gibi farmakodinamik parametrelerin de belirlenmesinde rol oynar. Bu yönüyle, özellikle yüksek verimli tarama (HTS) platformlarında, potansiyel toksisiteyi önceden tespit etmek amacıyla kullanılır ve ilaç adaylarının elenmesinde kritik bir adımı temsil eder (4).

Ayrıca bu testlerin validasyonu, moleküler hedeflere yönelik özgül ajanların geliştirilmesinde de etkili bir strateji sunmaktadır. Bitkisel kökenli doğal ürünlerin farmasötik değerinin belirlenmesinde de sitotoksikite deneyleri, etken bileşiklerin hangi hücre hatlarında etkili olduğunu ve bu etkinin sitotoksik mi yoksa sitostatik mi olduğunu ortaya koyar. Bu ayırım hem terapötik seçiciliği hem de olası advers etkileri önceden tahmin etmede önem taşır (12).

Bu kapsamda sitotoksik etkinin değerlendirilmesi, yalnızca toksikolojik güvenliği sağlamakla kalmaz; aynı zamanda, klinik öncesi geliştirme aşamasında umut vadeden moleküllerin belirlenmesine katkı sağlayarak, farmasötik araştırmaların stratejik derinliğini artırır (13).

Fitokimyasal Özellikler

Haplophyllum cinsi, kimyasal bileşik çeşitliliği açısından dikkat çekici bir zenginliğe sahiptir. Cinse ait türler; alkaloidler, kumarinler, flavonoidler, lignanlar, terpenoidler ve organik asitler gibi çok sayıda farmakolojik açıdan önemli bileşik gruplarını içermektedir (7). Bu bileşikler, yalnızca taksonomik tanımlamalarda değil, aynı zamanda farmakolojik etkinliklerin belirlenmesinde de önemli rol oynamaktadır.

Uçucu bileşikler bakımından değerlendirildiğinde, *H. tuberculatum* gibi bazı türlerde limonen, β -pinen ve 1,8-sineol gibi monoterpenlerin ön planda olduğu, *H. myrtifolium* ve *H. robustum*

gibi diğer türlerde ise seskiterpen hidrokarbonların baskın olduğu bildirilmiştir (7, 9, 14). *H. acutifolium* ise esas olarak seskiterpen yapılar yönünden zengindir (15).

Uçucu olmayan bileşikler arasında, özellikle alkaloidlerin ve kumarinlerin geniş bir dağılım gösterdiği bilinmektedir. Skimmianin ve γ -fagarin gibi kinolinon alkaloidleri ile skopoletin gibi kumarin türevleri, cinsin en yaygın doğal bileşikleridir (6, 7, 16). Flavonoid yapılar da özellikle 8-hidroksiflavon türevleri şeklinde tanımlanmış ve bu türevler kemotaksonomik anlamda önem arz eden bileşikler arasında yer almıştır (17-19).

Fitokimyasal çeşitlilik yalnızca türler arası değil, aynı zamanda çevresel faktörlere bağlı olarak da değişkenlik göstermektedir. *H. buxbaumii*, *H. viridulum* ve *H. perforatum* gibi bazı türlerde, terpen olmayan hidrokarbonların daha baskın olduğu rapor edilmiştir (8, 10, 20). Bu durum, *Haplophyllum* türlerinin yaşadığı habitatların kimyasal içerik üzerindeki belirleyici etkisini ortaya koymaktadır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, *Haplophyllum* türlerinin fitokimyasal profilleri, cinsin farmakolojik potansiyeline dair güçlü bir temel sunmaktadır. Bu nedenle, özellikle antikanser, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar etkiler bakımından bu türlerin kapsamlı biçimde incelenmesi, yeni ilaç adaylarının geliştirilmesi açısından önem arz etmektedir.

Haplophyllum türleri, yetiştikleri ekolojik ortamlar ve coğrafi yayılımları doğrultusunda birbirinden farklı fitokimyasal profiller sergilemektedir. Örneğin; *H. tuberculatum*, limonen, β -pinen, linalool gibi monoterpenler bakımından zenginken, *H. acutifolium* esas olarak seskiterpen yapıları ve alkaloidleri ile tanımlanmıştır (14).

H. myrtifolium türünde ise hem flavonoid hem de kumarin bileşikler ön plana çıkmakta olup, bu yapılar bitkinin antileishmanial ve anti-inflamatuvar etkilerinde rol oynamaktadır (21). *H. buxbaumii* ve *H. virgatum* gibi türlerde terpen olmayan hidrokarbonlar baskın bileşik sınıfını oluşturmakta ve bu durum, bitkilerin çevresel adaptasyon stratejilerine işaret etmektedir (10, 22).

Bazı türlerde ise spesifik bileşikler ile tür karakterizasyonu mümkündür. Örneğin, *H. canaliculatum*'da kinolinon alkaloidlerinin (ör. skimmianin, flindersin) baskın olduğu, bu yapılar sayesinde kanser hücrelerine karşı anlamlı sitotoksik aktiviteler sergilediği gösterilmiştir (23).

Fitokimyasal çeşitlilik, türler arasında olduğu kadar aynı türün farklı populasyonları arasında da gözlenebilmektedir. Bu durum; iklim, toprak tipi, irtifa ve diğer çevresel faktörlerin metabolit üretimini doğrudan etkileyebileceğini göstermektedir (7).

Tür Bazında Sitotoksik Etkiler ve Bilimsel Bulgular

Haplophyllum gilesii

Haplophyllum gilesii, Rutaceae familyasına ait, yalnızca Pakistan'ın Gilgit Baltistan bölgesinde, Karakoram-Himalaya kuşağında bulunan dar yayımlı ve kritik tehlike altındaki bir türdür. Doğal popülasyonları parçalı yapıdadır ve kurak habitatlarda sınırlı birkaç lokaliteyle (Chupo Das, Juglot, Astore) temsil edilmektedir. Antropojenik baskılar ve habitat bozulmaları nedeniyle türün nesli tehlikededir ve bu durum, onu ex-situ koruma stratejileri açısından önemli bir aday hâline getirmiştir. Mevcut çalışmalarda, bu türün hızlı mikro yayılımı ve doku kültürü ile korunması amacıyla etkili yöntemler geliştirilmiştir (24, 25).

Haplophyllum gilesii bitkisinin sitotoksik etkileri, metanol ekstraktları kullanılarak gerçekleştirilen "brine shrimp lethality assay" (*Artemia salina* larva öldürücülük testi) ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmada bitkinin gövde kısmının metanol ekstraktının LD50 değeri 116,72 µg/ml, kök kısmının ise 168,16 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, gövde ekstraktının kök ekstraktına kıyasla daha belirgin sitotoksik potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Araştırmacılar, elde edilen verilere dayanarak, *H. gilesii* bitkisinin (Şekil 1) kanser hücre hatları üzerindeki potansiyel terapötik etkinliğinin daha ileri araştırmalarla değerlendirilmesini önermektedir (26).



Şekil 1. *Haplophyllum gilesii* (27)

Haplophyllum Tuberculatum

Haplophyllum tuberculatum, Rutaceae familyasına ait, genellikle Umman Sultanlığı'nın kuzey bölgelerinde bulunan tek *Haplophyllum* türüdür. Bitki, siltli toprak birikintileri üzerinde bulunan "vadi" kanallarında yetişen çok yıllık bir türdür. Yaklaşık 60 cm yüksekliğe ulaşan bu tür, karakteristik olarak küçük kabarık bezlerle kaplıdır ve belirgin, hoş olmayan bir kokuya sahiptir. Bitkinin gövdesi sarımsı-yeşil ile beyaz, yaprakları ise alternatif dizilimli ve eliptik veya ters yumurta şeklindedir. Parlak sarı renkli çiçekleri ise gevşek korimboz terminal salkımlar halinde görülmektedir. Bu türün Umman'ın kuzeyinde yerel halk tarafından baş ağrısı, artrit gibi rahatsızlıklara karşı kullanımı yaygındır. Ayrıca cilt üzerindeki siğil ve çilleri gidermek, cilt rengindeki değişiklikleri, enfeksiyonları ve paraziter hastalıkları tedavi etmek amacıyla da değerlendirilmektedir (28).

Haplophyllum tuberculatum'un (Şekil 2) sitotoksik etkileri üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda, bitkinin farklı bölümlerinden (yapraklar, gövdeler ve toprak üstü kısımlar) elde edilen uçucu yağların sitotoksik aktiviteleri ayrıntılı olarak incelenmiştir. Yapılan in vitro testlerde, Çin Hamster Yumurtalık (CHO) hücreleri üzerinde değerlendirilen bu uçucu yağların önemli düzeyde sitotoksositeye sahip olduğu belirlenmiştir. Hücre canlılığını %50 oranında azaltan konsantrasyon (CC50) değerlerinin 27,79 µg/mL ile 82,56 µg/mL arasında değiştiği saptanmıştır. Bu değerler, bitkiden elde edilen uçucu yağların CHO hücreleri üzerinde nispeten güçlü sitotoksik etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, yağların ana bileşenlerinden olan R-(+)-limonen'in (CC50 = 29,65 µg/mL) de belirgin sitotoksosite sergilediği, buna karşın S- (-)-limonen ve diğer minör bileşiklerin önemli sitotoksik aktivite göstermediği bildirilmiştir. Ayrıca seçicilik indeksi (CC50/IC50 oranı) değerleri 10'dan düşük olduğundan, bu uçucu yağların terapötik amaçlarla güvenli kullanımının sınırlı olduğu ve anti-leishmanial etkiler açısından uygun bir ilaç adayı olarak değerlendirilemeyeceği sonucuna varılmıştır (29).



Şekil 2. *Haplophyllum Tuberculatum* (27).

Haplophyllum Myrtifolium

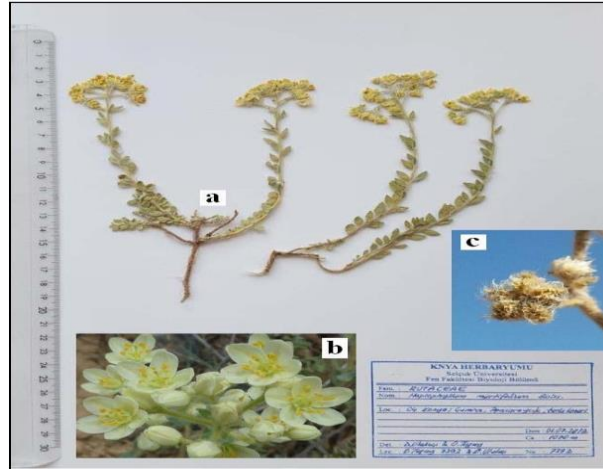
Haplophyllum myrtifolium Boiss., yalnızca Türkiye florasında yer alan, çok yıllık ve endemik bir bitkidir. Rutaceae ailesine ait olan *H. myrtifolium*, Türkiye'de lokalize yayılım gösteren nadir türlerden biridir. Halk arasında göz enfeksiyonları, cilt hastalıkları ve romatizmal ağrılara karşı kullanıldığı bildirilmiştir. Türkiye florasında özellikle farmakolojik potansiyeli nedeniyle dikkat çeken bu tür, etnobotanik uygulamaları ve biyolojik aktivite profiliyle ön plana çıkmaktadır (21).

Zengin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *H. myrtifolium*'un farklı çözücü özütleri (petrol eteri, etil asetat, metanol ve su) kullanılarak antioksidan ve enzim inhibitör aktiviteleri detaylı olarak analiz edilmiştir. Bu çalışma, türün literatürdeki ilk kapsamlı fitokimyasal ve biyolojik aktivite değerlendirmesi olarak öne çıkmaktadır

Etil asetat özütü en yüksek fenolik içeriğe (52,50 mg GAE/g özüt) ve en güçlü antioksidan kapasiteye sahip olarak tespit edilmiştir. Özütler, DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC gibi yöntemlerle değerlendirildiğinde, özellikle etil asetat ve metanol özütlerinin anlamlı radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, metanol özütü 6.97 mmol TEs/g düzeyinde nitrik oksit radikali temizleme kapasitesi ile dikkat çekmiştir.

Toplam flavonoid içeriği bakımından metanol özütü (58,13 mg REs/g özüt) öne çıkarken; toplam saponin içeriği açısından etil asetat özütü 689,56 mg QAEs/g ile en yüksek düzeye ulaşmıştır. Ayrıca, etil asetat özütü tirozinaz enzimine karşı 48,79 mg KAEs/g özüt ile yüksek inhibitör etki göstererek, cilt bozukluklarının tedavisinde olası uygulamalara işaret etmektedir.

Sitotoksositeye yönelik spesifik hücre hattı temelli biyolojik veriler bu çalışmada sunulmamış olmakla birlikte, içerdiği yüksek fenolik, flavonoid, saponin ve tanen bileşenlerinin sitotoksik potansiyele sahip olabileceği değerlendirilmektedir. Bu nedenle, *H. myrtifolium*'un (Şekil 3) moleküler düzeyde sitotoksik etkilerini değerlendiren in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır (21).



Şekil 3. *Haplophyllum Myrtifolium* a: Genel Görünüm, b: Çiçek, c: Kapsül (30).

Haplophyllum Megalanthum

Haplophyllum megalanthum (Şekil 4) yalnızca Türkiye'de doğal olarak bulunan endemik bir türdür ve oldukça sınırlı bir alanda yayılım gösterdiği için IUCN kriterlerine göre EN (Endangered - Tehlike Altında) kategorisinde yer almaktadır. Özellikle Manisa ili, Alitepe çevresi gibi dar lokalitelerde tespit edilmiştir. Türün yaşam alanı, dere çevresi gibi erozyona açık habitatlarda yer aldığından koruma önlemleri büyük önem taşımaktadır (31).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada, bu türden izole edilen bileşiklerin kolorektal kanser modeli olarak yaygın biçimde kullanılan HT29 hücre hattı üzerinde önemli düzeyde sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Söz konusu çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktın ve izole edilen bileşiklerin hücre canlılığı üzerine etkisi MTT assay yöntemi ile değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre hem ham ekstrakt hem de izole bileşikler anlamlı düzeyde antiproliferatif etki göstermiştir. Özellikle izole edilen glikoizohaplopin (Bileşik 6), $5,06 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeri ile yüksek düzeyde sitotoksik etki sergilemiştir. Diğer dikkat çeken bileşiklerden haplomegalantin (3) ve megalantamid (5) sırasıyla $23,15 \pm 6,70 \mu\text{g/mL}$ ve $21,45 \pm 2,48 \mu\text{g/mL}$ IC_{50} değerleriyle orta düzeyde sitotoksikite ortaya koymuştur (32).



Şekil 4. *Haplophyllum Megalanthum* (27).

Haplophyllum Buxbaumii

Haplophyllum buxbaumii (Şekil 5) çok yıllık, otsu bir bitki olup bozkır alanlar, nadasa bırakılmış topraklar ve tarımsal faaliyetlerin yürütüldüğü arazilerde yetişebilmektedir. Bu türe ait bitkiler genellikle Suriye Çölü ve İran çevresinde doğal olarak yayılış gösterir. Ayrıca Türkiye’de, özellikle Şanlıurfa çevresinde lokal popülasyonlara rastlanmaktadır. Literatürde sınırlı sayıda çalışmada bu türün bazı alttürlerinin oksidatif strese karşı koruyucu etkiler gösterdiği belirtilmiştir (33).

Haplophyllum buxbaumii bitkisinden diklorometan (CH_2Cl_2) ile hazırlanan ekstre, çeşitli insan kanser hücre hatları üzerinde MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. İn vitro çalışmalarda, prostat (DU-145), gastrik (HGC-27), kolon (HCT-116), karaciğer (SNU-423) ve meme (MDA-MB-231) kanser hücrelerine karşı farklı derecelerde sitotoksik aktivite göstermiştir. Kolon kanseri hücre hattı (HCT-116) üzerinde en belirgin etki gözlenmiş olup, IC_{50} değeri 14,17 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir. Buna karşın, normal insan damar endotelial hücreleri (HUVEC) üzerindeki etki çok daha zayıf olup IC_{50} değeri 70,32 $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir (34).

Bu bulgular, *H. buxbaumii* ekstresinin selektif sitotoksik özellik gösterdiğini ve özellikle kanser hücrelerinde apoptoz veya hücre proliferasyonunun baskılanması yoluyla etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, kemoterapötik ajanlara benzer etkinlik profili

göstermesi ve normal hücrelerde daha düşük toksisite oluşturması, bu bitkiyi potansiyel bir antikanser ajan adayı olarak ön plana çıkarmaktadır (34).

Haplophyllum buxbaumii bitkisinin yer üstü kısımlarından elde edilen metanol:su (1:1) oranındaki ekstraktın prostat kanseri hücre hattı (PC-3) üzerindeki sitotoksik etkisi MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. PC-3 hücreleri, 48 saat boyunca 2–40 µg/ml arasında değişen dozlarda bitki ekstraktına maruz bırakılmıştır. MTT testi sonuçları, 20 µg/ml'lik dozda hücre canlılığında anlamlı düzeyde azalma olduğunu ortaya koymuştur. Bu etki, doza bağlı olarak artış göstermiştir ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (33).

Çalışmada ayrıca apoptotik yolların etkinliği de değerlendirilmiş, ekstraktla işlem gören hücrelerde Cleaved caspase-3 ve Bax düzeylerinde artış, Bcl-2 ekspresyonunda ise azalma saptanmıştır. Bu bulgular, *H. buxbaumii*'nin yalnızca hücre proliferasyonunu baskılamadığını, aynı zamanda apoptozu aktive eden bir etki mekanizmasına sahip olabileceğini göstermektedir. Hücre kültürü modelinde elde edilen veriler, bu türün prostat kanserine karşı seçici ve programlı hücre ölümünü uyarıcı potansiyel bir fitokimyasal kaynak olabileceğini ortaya koymaktadır (33).



Şekil 5. *Haplophyllum Buxbaumii* (34).

Haplophyllum Acutifolium

H. acutifolium'un (Şekil 6) özellikle Türkmenistan florasında yaygın olduğu ve bu bölgede yürütülen bazı erken dönem çalışmalarda türün kapsamlı fitokimyasal analizlere tabi tutulduğu bildirilmektedir (Razzakova et al., 1975; 1986). Bu tür, geleneksel tıpta analjezik, antispazmodik, diüretik ve yatıştırıcı olarak kullanım geçmişine sahiptir. Ayrıca cilt hastalıklarına karşı topikal ajan olarak da değerlendirilmektedir. *Haplophyllum* cinsi, başta kinolin alkaloitleri olmak üzere çeşitli biyoaktif bileşikler yönünden zengin bir kaynak olarak öne çıkmaktadır. *H. acutifolium* özütünde HPLC–PDA–MS–SPE–NMR teknikleriyle yapılan

dereplikasyon çalışmaları sonucunda, bitkide daha önce tanımlanmamış bazı minör alkaloidlerin varlığı hızlı ve etkin şekilde ortaya konmuştur (35).

Haplophyllum acutifolium türünün etanol ekstraktı, farklı kökenlere sahip çeşitli tümör hücre hatları üzerinde in vitro olarak değerlendirilmiş ve özellikle hematopoietik ve solid tümör hücrelerinde dikkat çekici sitotoksik etkiler göstermiştir. WST-1 yöntemi kullanılarak yapılan analizlerde, bu türün RAMOS hücre hattı üzerinde yüksek düzeyde ($IC_{50} = 23,7 \mu\text{g/mL}$), U937 hücre hattı üzerinde ise orta düzeyde sitotoksik etki gösterdiği raporlanmıştır. Solid tümörler arasında ise, prostat adenokarsinomu hücre hattı olan LNCap-FGC-10 üzerinde yüksek düzeyde; mesane karsinomu hücresi olan 5637 hattı üzerinde ise orta düzeyde sitotoksik etki gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada, sağlıklı insan periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) üzerinde yapılan karşılaştırmalı değerlendirmelerde, *H. acutifolium* ekstraktının tümör hücrelerine kıyasla normal hücreler üzerinde daha düşük toksisiteye sahip olduğu belirlenmiş, bu da türün seçici sitotoksikite özelliğini desteklemektedir ($p < 0,05$). Bu bulgular, *H. acutifolium*'un özellikle hematolojik ve prostat kaynaklı kanser hücrelerine karşı etkili olabilecek potansiyel antikanser ajan adayları arasında yer aldığını göstermektedir (36).



Şekil 6. *Haplophyllum Acutifolium* (27).

Haplophyllum Vulcanicum

Haplophyllum vulcanicum, (Şekil 7) yalnızca Türkiye'nin İç Anadolu ve Batı Anadolu bölgelerinde (özellikle Afyon ve Konya çevresinde) sınırlı lokalitelerde bildirilen nadir bir bitki türüdür. Bu tür, fitocoğrafik olarak İran-Turan (IT) elementi kapsamında değerlendirilmekte olup, step ve erozyon alanlarında, 1100–1600 metre rakımda doğal olarak yetişmektedir (37).

Fitokimyasal analizler, *H. vulcanicum*'un içerdği zengin bileşik profilinin, terapötik potansiyelini desteklediğini göstermektedir. Bitkinin yapısında iki basit kumarin olan scopoletin ve umbelliferone tespit edilmiştir; bu bileşikler, Rutaceae familyasına ait bitkilerde yaygın olarak bulunan yapısal öğelerdendir (16). Güncel çalışmalarda ayrıca bu türe özgü çeşitli alkaloitlerin vulcanine, dicatamnine, skimmianine, robustine, haplopine, γ -fagarine varlığı gösterilmiş; bunun yanında haplomyrfofin, kusunokinin, syringaresinol gibi lignanlar ile skopoletin gibi kumarinler de izole edilmiştir. Bu zengin bileşik çeşitliliği, *H. vulcanicum*'un biyolojik aktivite potansiyelini artırmakta ve onu farmakolojik açıdan dikkat çeken bir tür haline getirmektedir (38).



Şekil 7. *Haplophyllum vulcanicum* (27).

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, *Haplophyllum* cinsine ait seçili türlerin (*H. gilesii*, *H. tuberculatum*, *H. myrtifolium*, *H. megalanthum*, *H. buxbaumii*, *H. acutifolium*, *H. vulcanicum*) fitokimyasal profilleri ve literatürde bildirilen biyolojik etkilerini (ör. antikanser, antimikrobiyal, antioksidan, anti-inflamatuvar, nöroprotektif, antiparaziter) kapsayan anlatı türünde bir derlemedir. PubMed, Scopus ve Web of Science başta olmak üzere uluslararası veri tabanlarında, veri tabanlarının başlangıcından 25 Eylül 2025'e kadar "*Haplophyllum*" ile "phytochemistry/coumarin/alkaloid/lignan/flavonoid" ve "bioactivity/cytotoxic*/antiproliferative/antioxidant/antimicrobial/anti-inflammatory/neuroprotect*/antiparasitic" anahtar sözcükleri kombinasyonları kullanılarak arama yapılmıştır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, Rutaceae familyasına ait *Haplophyllum* cinsinin seçilmiş türlerinin (*H. gilesii*, *H. tuberculatum*, *H. myrtifolium*, *H. megalanthum*, *H. buxbaumii*, *H. acutifolium* ve *H. vulcanicum*) fitokimyasal bileşenleri ve sitotoksik aktiviteleri kapsamlı olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlarımız, türlerin özellikle alkaloidler, kumarinler, lignanlar ve flavonoidler gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip biyoaktif bileşenleri içerdiğini göstermiştir. Literatürdeki birçok çalışma bu türlerin sitotoksik etkisi olduğunu yaptıkları çalışmalar ile göstermiştir. Örneğin, Razzakova ve ark. (1973), *Haplophyllum* cinsinde alkaloidlerin ve kumarinlerin yaygın varlığını raporlamıştır (6).

Çalışmamızda özellikle *H. acutifolium* ve *H. buxbaumii* türlerinin seçici sitotoksik etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgular, Varamini ve ark. (2007) tarafından gerçekleştirilen araştırmalarla paralellik göstermektedir. Araştırmacılar, *H. acutifolium* ekstraktının hematolojik ve prostat kanseri hücre hatları üzerinde anlamlı sitotoksik etkiler oluşturduğunu ve normal hücrelerde daha düşük toksisiteye sahip olduğunu bildirmiştir. Bu durum, türlerin klinik açıdan daha güvenli kullanım potansiyelini ortaya koymaktadır (36).

H. megalanthum türünden izole edilen bazı bileşiklerin düşük IC₅₀ değerleri ile dikkat çekici antikanser potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Demir ve ark. (2024) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da bu türe ait bileşiklerin kolorektal kanser hücre hattı üzerinde belirgin antiproliferatif etkiye sahip olduğu ve yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (32).

Haplophyllum türlerinin sitotoksik etkilerinin mekanizması üzerine yapılan değerlendirmelerde, apoptoz ve hücre döngüsünün inhibisyonu gibi mekanizmaların etkin olduğu ortaya konulmuştur. *H. buxbaumii* ekstraktının prostat ve kolon kanseri hücre hatları üzerinde apoptoz yolu üzerinden etkisini gösterdiği, Bax ekspresyonunu artırıp Bcl-2 ekspresyonunu azalttığı daha önceki çalışmalarla da desteklenmiştir (33). Bu mekanistik bilgiler, türlerin farmakolojik potansiyelini daha da güçlendirmekte ve ileri düzey araştırmalara zemin oluşturmaktadır.

Diğer yandan, bazı türlerde (örneğin *H. tuberculatum*) uçucu bileşiklerin sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği çalışmalarda, ana bileşenlerden olan limonenin sitotoksik etkiye sahip olduğu, ancak terapötik indeksi sınırlı kaldığı vurgulanmıştır (29). Bu durum, uçucu yağların biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesinde seçicilik indekslerinin dikkate alınmasının önemini vurgulamaktadır.

Bu çalışma *Haplophyllum* cinsinin antikanser araştırmalarında potansiyel bir kaynak olduğunu göstermiştir. Literatürdeki elde edilen bulgular, özellikle seçici sitotoksikite gösteren türlerin ve yüksek antikanser potansiyele sahip bileşiklerin daha detaylı araştırılmasının önemini ortaya koymaktadır. Gelecek araştırmaların, türlerin biyolojik aktivitelerini ve etki mekanizmalarını moleküler düzeyde daha ayrıntılı inceleyerek, klinik uygulamalara yönelik adımları hızlandırması beklenmektedir.

SONUÇ

Bu çalışma, Rutaceae familyasına ait *Haplophyllum* cinsindeki çeşitli türlerin fitokimyasal bileşimlerini ve sitotoksik etkilerini kapsamlı bir şekilde incelemiştir. *Haplophyllum* türleri, özellikle alkaloidler, kumarinler, flavonoidler ve lignanlar gibi biyolojik olarak aktif bileşenler olmak üzere zengin fitokimyasal içerikleri ile dikkat çekmektedir. Literatürdeki çok sayıda çalışma, bu bileşenlerin kanser hücre dizileri üzerindeki antiproliferatif ve apoptozu tetikleyici etkilerini desteklemektedir. Özellikle *H. acutifolium* ve *H. buxbaumii* türlerinin seçici sitotoksik etkileri, bunların potansiyel antikanser tedavi ajanları olarak değerlendirilmesini önermektedir.

H. megalanthum gibi türlerden elde edilen bazı bileşiklerin düşük IC₅₀ değerleri ve yüksek antikanser potansiyeli, bitki bazlı kaynakların ilaç geliştirme süreçlerindeki önemini vurgulamaktadır. Bununla birlikte, *Haplophyllum* türlerinin sitotoksik etkilerinin kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi ve bu etkilerin altında yatan mekanizmaların anlaşılması, gelecekteki farmakolojik araştırmalar için kritik bir gereklilik olmaya devam etmektedir.

Mevcut literatürdeki bazı boşluklar, bu türlerin in vitro ve in vivo etkinliğinin daha derinlemesine araştırılması ve bunların farklı tedavi protokollerine entegrasyonu ihtiyacını göstermektedir. Özellikle, bu bitkilerin sitotoksik aktivitelerinin yanı sıra potansiyel yan etkileri ve güvenli kullanımları hakkında daha fazla araştırma yapılması önemlidir. Gelecek çalışmaların, *Haplophyllum* türlerinden elde edilen biyoaktif bileşenlerin klinik uygulamalara yönelik potansiyelini ortaya çıkarması beklenmektedir.

Sonuç olarak, *Haplophyllum* türleri sadece geleneksel tıpta değil, aynı zamanda modern farmasötik araştırmalarda da önemli bir yere sahiptir ve yeni antikanser ajanların keşfi için umut verici bir kaynak sunmaktadır. Bu nedenle, bu türlerden elde edilen bileşiklerin antikanser ilaç keşif süreçlerinde potansiyel adaylar olduğu düşünülmektedir. Bu mekanistik bilgiler, türlerin farmakolojik potansiyelini daha da güçlendirmekte ve ileri düzey araştırmaların zeminini oluşturmaktadır.

Bilimsel Sorumluluk Beyanı

Yazarlar, çalışma tasarımı, veri toplama, analiz ve yorumlama, yazımı, ana hatların bir kısmı veya tamamı dahil olmak üzere makalenin bilimsel içeriğinden ve içeriğin bilimsel incelemesinden ve makalenin son halinin onaylanmasından sorumlu olduklarını beyan ederler.

Etik Onay ve Rıza

Bu çalışma kamuya açık literatüre dayalı bir derlemedir; etik kurul onayı gerektirmemektedir.

Çıkar Çatışması

Yazar(lar), bu makalenin araştırılması, yazarlığı ve/veya yayımlanmasıyla ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması potansiyeli olmadığını beyan etmiştir.

Yazar Katkıları

Tüm yazarlar çalışmanın tüm aşamalarına eşit ve ortak katkı sunmuştur: kavramsallaştırma ve çalışma tasarımı; yöntem ve arama stratejisi; literatür taraması ve çalışma seçimi; veri çıkarımı ve doğrulama; kalite/yanlılık değerlendirmesi; bulguların sentezi ve yorumu; görselleştirme/tablolama; yazım (özgün taslak) ile yazım (gözden geçirme ve düzenleme) ve proje yönetimi. Eşit katkı beyanı: Yazarlar, isim sırasından bağımsız olarak eşit katkıda bulunmuştur. Tüm yazarlar makalenin son hâlini okuyup onaylamıştır.

Mali Destek/Fonlama

Bu çalışma, kamu, ticari veya kâr amacı gütmeyen herhangi bir kuruluş tarafından finanse edilmemiştir. Yazarlar herhangi bir mali destek almamıştır.

KAYNAKLAR

1. Mitra JR, Eira BN, Bhawmick AK, Remon MKI, Enan ME, Muhit MA, et al. Phytochemical and pharmacological aspects of genus haplophyllum (Rutaceae): A review. International journal of health sciences.6(S9):4454-85.
2. Ulubelen A, Öztürk M. Alkaloids, coumarins and lignans from Haplophyllum species. Rec Nat Prod. 2008;2(3):54-69.
3. CC T. Taxonomic revision of the genus Haplophyllum (Rutaceae). Hooker's icones plantarum vol 40, parts 1, Bentham-Moxon Trustees Royal Botanical Gardens, Kew. 1986.
4. Colombo P, Gunnarsson K, Iatropoulos M, Brughera M. Toxicological testing of cytotoxic drugs. International journal of oncology. 2001;19(5):1021-8.
5. Bácskay I, Nemes D, Fenyvesi F, Váradi J, Vasvári G, Fehér P, et al. Role of cytotoxicity experiments in pharmaceutical development. Cytotoxicity. 2018;8:131-46.
6. Razzakova D, Bessonova I, Yunusov SY. Alkaloids of Haplophyllum acutifolium. Chemistry of Natural Compounds. 1973;9:199-202.
7. Sağlam H, Gozler T, Kivcak B, Demirci B, Baser K. Volatile compounds from Haplophyllum myrtifolium. Chemistry of Natural Compounds. 2001;37:442-4.
8. Mohammadhosseini M, Nekoei M, Mashayekhi HA, Aboli J. Chemical composition of the essential oil from flowers, leaves and stems of Haplophyllum perforatum by using head space solid phase microextraction. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2012;15(4):506-15.
9. Yari M, Masoudi S, Rustaiyan A. Essential oil of Haplophyllum tuberculatum (Forssk.) A. Juss. grown wild in Iran. Journal of Essential Oil Research. 2000;12(1):69-70.
10. Ünver-Somer N, Kaya Gİ, Sarikaya B, Önür MA, Özdemir C, Demirci B, et al. Composition of the essential oil of endemic Haplophyllum megalanthum Bornm. from Turkey. Records of Natural Products. 2012;6(1):80.
11. Nesmelova E, Razakova D, Akhmedzhanova V, Bessonova I. Diphyllin from Haplophyllum alberti-regelii, H. bucharicum, and H. perforatum. Chemistry of Natural Compounds. 1983;19(5):608-.

12. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*. 2011;144(5):646-74.
13. Kola I, Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nature reviews Drug discovery*. 2004;3(8):711-6.
14. Sabry OMM, El Sayed AM, Alshalmani SK. GC/MS analysis and potential cytotoxic activity of *Haplophyllum tuberculatum* essential oils against lung and liver cancer cells. *Pharmacognosy Journal*. 2016;8(1).
15. Asili J, Fard MR, Ahi A, Emami SA. Chemical composition of the essential oil from aerial parts of *Haplophyllum acutifolium* (DC.) G. Don from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2011;14(2):201-7.
16. Gözler B, Rentsch D, Gözler T, Ünver N, Hesse M. Lignans, alkaloids and coumarins from *Haplophyllum vulcanicum*. *Phytochemistry*. 1996;42(3):695-9.
17. Batirov EK, Batsuren D, Malikov V. Components of *Haplophyllum dauricum*. *Chemistry of Natural Compounds*. 1984;20(2):226-7.
18. Yuldashev M. Flavonoids of *Haplophyllum foliosum* and *H. pedicellatum*. *Chemistry of natural compounds*. 2001;37:288-9.
19. Batirov EK, Yuldashev M, Khushbatkova Z, Syrov V, Malikov V. Flavonoids of *Haplophyllum perforatum*. Structure and hypozotemic activity of haploside C. *Chemistry of Natural Compounds*. 1987;23:54-7.
20. Biniyaz T, Habibi Z, Masoudi S, Rustaiyan A. Composition of the essential oils of *Haplophyllum furfuraceum* Bge. ex Boiss. and *Haplophyllum virgatum* Spach. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 2007;19(1):49-51.
21. Zengin G, Sarikurkcü C, Aktumsek A, Ceylan R, Ceylan O. A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*. 2014;53:244-51.
22. Javidnia K, Miri R, Soltani M, Varamini P. Volatile constituents of two species of *Haplophyllum* A. Juss. from Iran [*H. lissonotum* C. Town. and *H. buxbaumii* (Poir.) G. Don. subsp. *mesopotamicum* (Boiss.) C. Town.]. *Journal of Essential Oil Research*. 2009;21(1):48-51.
23. Esmaceli S, Hamzeloo-Moghadam M, Ghaffari S, Mosaddegh M. Cytotoxic activity screening of some medicinal plants from south of Iran. *Research Journal of Pharmacognosy*. 2014;1(4):19-25.
24. Alam J, Ali S. Contribution to the red list of the plants of Pakistan. *image*. 2025;42.
25. Kausar R, Shah AH, Jabeen T, Alam J, Ali N, Majid A, et al. Ex-situ conservation of *Haplophyllum gilesii*: a critically endangered and narrow endemic species of the Karakoram range. *Pak J Bot*. 2019;51(1):225-33.
26. Ashfaq S, Hussain M, Bibi N, Alam J, Junaid M, Rehman S. Antimicrobial and cytotoxic potential of *Haplophyllum gilesii* (Hemsl.) CC from Northern Pakistan. *Pakistan Journal of Agricultural Research*. 2019;33(1):146-53.
27. POWO. Plants of the World Online. *Haplophyllum Gilesii*: Royal Botanic Gardens, Kew; 2025 [Available from: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:773868-1>].
28. Al-Burtamani SKS, Fatope MO, Marwah RG, Onifade AK, Al-Saidi SH. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Oman. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;96(1-2):107-12.
29. Hamdi A, Bero J, Beaufay C, Flamini G, Marzouk Z, Vander Heyden Y, et al. In vitro antileishmanial and cytotoxicity activities of essential oils from *Haplophyllum tuberculatum* A. Juss leaves, stems and aerial parts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2018;18:1-10.
30. Ulukuş D. Türkiye *Haplophyllum* A. Juss. ve *Ruta* L. cinslerinin (Rutaceae) taksonomik, morfolojik, anatomik ve moleküler revizyonu. 2015.
31. Akyol Y, Alçitepe E, Özdemir C. The morphological, anatomical and palynological properties of endemic *Haplophyllum megalanthum* Bornm.(Rutaceae). *Pakistan Journal of Botany*. 2012;44(3):1121-6.
32. Demir S, Petersen MJ, Kjaerulff L, Ünver-Somer N, Staerk D. Cytotoxicity of endemic *Haplophyllum megalanthum* Bornm. and its newly isolated alkaloids and lignans. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2024;117:104901.
33. Kazımoğlu H, Kaplan HM. Apoptotic Effect of *Haplophyllum Buxbaumii* Extract on Prostate Cancer. 2020.
34. Akçiçek D. *Haplophyllum buxbaumii* bitkisinin kolon kanseri hücreleri üzerindeki antikanser etkisinin incelenmesi/Investigation of the antianmal effects of *haplophyllum buxbaumii* plant on colon cancer cells 2019.
35. Staerk D, Kesting JR, Sairafianpour M, Witt M, Asili J, Emami SA, et al. Accelerated dereplication of crude extracts using HPLC–PDA–MS–SPE–NMR: Quinolinone alkaloids of *Haplophyllum acutifolium*. *Phytochemistry*. 2009;70(8):1055-61.
36. Varamini P, Doroudchi M, Mohagheghzadeh A, Soltani M, Ghaderi A. Cytotoxic evaluation of four *haplophyllum*. species with various tumor cell lines. *Pharmaceutical Biology*. 2007;45(4):299-302.
37. Ulukuş D, Tugay O, Celep F. Morphology, anatomy and palynology of Turkish endemic species *Haplophyllum myrtifolium*, *H. vulcanicum* & *H. megalanthum* (Rutaceae) and their systematics implications. *Phytotaxa*. 2016;247(3):197-209.

38. Karahisar E, Tugay O, Orhan IE, Sezer Senol Deniz F, Vlad Luca S, Skalicka-Wozniak K, et al. Metabolite Profiling by Hyphenated Liquid Chromatographic Mass Spectrometric Technique (HPLC-DAD-ESI-Q-TOF-MS/MS) and Neurobiological Potential of *Haplophyllum sahinii* and *H. vulcanicum* Extracts. *Chemistry & Biodiversity*. 2019;16(9):e1900333.