MAHLEP YAPRAK EKSTRAKTLARININ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* MAYA HÜCRELERİNİN ÇOĞALMASI ÜZERİNE ETKİSİ

INFLUENCE OF MAHALEB LEAF EXTRACTS ON THE GROWTH OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* YEAST CELLS

Dr. Öğr. Üyesi Tülay TURGUT GENÇ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,

Biyoloji Bölümü, Merkez, Çanakkale.

ORCID ID: https://orcid.org/0000-0001-5074-3572

M. Sc. Mümin SARGIN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü,

Biyoloji Bölümü, Merkez, Çanakkale.

ORCID ID: https://orcid.org/0000-0003-4290-4457

ÖZET

Saccharomyces cerevisiae maya türü hızlı çoğalabilme yeteneğinden dolayı yaşlanma mekanizmalarının anlaşılmasında kullanılan model organizmalardan biridir. *S.cerevisiae* maya hücrelerinde replikatif ve kronolojik yaşlanma olmak üzere iki tip yaşlanma mekanizması bulunmaktadır. Kronolojik yaşlanma mekanizmasında görevli yolaklar ve ilgili genler yüksek ökaryotlar ile benzerlik göstermektedir. Maya hücrelerinin yaşam süresi iç ve dış etkenlere bağlı olarak değiştiğinden yaşam süresini etkileyen bitkisel kökenli doğal geroprotektörlerin belirlenmesi son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Bu nedenle çalışmamızda mahlep (*Prunus mahaleb L.*) bitkisine ait yaprak örneklerinin farklı çözücüler kullanılark elde edilen özütlerinin *S.cerevisiae* maya hücrelerinin çoğalması üzerine etkisi belirlenmiştir. Çalışmada hegzan, aseton, metanol ve su çözücüleri ile elde edilen yaprak ekstraktlarının farklı konsantrasyonları kullanılarak maya hücrelerinin çoğalması mikroplaka okuyucu ile belirlendi. Mahlep yaprağının hegzan çözücüsü ile elde edilen özütünün 0,5M ve üzeri konsantrasyonlarda maya hücrelerinin üremesini tamamen baskılandığı belirlendi. Aseton ile hazırlanan yaprak özütlerinin 0,5M altındaki konsantrasyonlarda maya hücrelerinin üremesini pozitif, 0,5M ve üzeri konsantrasyonlarda ise negatif etkilediği tespit edildi. Mahlep yaprağının metanol ve su çözücüleri ile elde edilen özütlerinde maya hücrelerinin çoğalmasının kontrol grubunun üzerinde olduğu belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre mahlep yaprağının metanol ve su özütleri geroprotektif özelliğe sahip biyoaktif maddeler içermektedir. Bu nedenle ilerdeki çalışmalarda elde edilen özütlerin analizinin yapılarak etken maddelerin belirlenmesi uygun olacaktır.

Anahtar kelimeler: Çoğalma, Yaprak ekstraktı, *Prunus mahaleb*, *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

Saccharomyces cerevisiae yeast cells have been used as a model organism in recent years to understand the mechanisms of aging in higher eukaryotes. *S.cerevisiae* yeast cells have two different aging mechanisms as replicative and chronological aging. The pathways and related genes involved in the chronological aging mechanism are similar to those of higher eukaryotes. Since the life span of yeast cells varies depending on internal and external factors, the determination of plant-based natural geroprotectors that affect the life span has gained great importance in recent years. In our study, the mahaleb leaf extracts (*Prunus mahaleb* L.) were used for analyzing the effects on yeast growth. The yeast growth was determined with a microplate reader using different concentrations of leaf extracts obtained with hexane, acetone, methanol and water solvents. It was determined that the hexane extract of mahalep leaf completely repressed the yeast growth at 0.5M and above concentrations. The results showed that 0.5M and above concentrations of leaf acetone extracts prevented the growth of yeast cells while below that concentrations trigger the yeast growth. The yeast growth were above the control group at all concentrations of methanol and water leaf extracts. According to the results obtained, methanol and water extracts of mahaleb leaf contain bioactive molecules having geroprotective properties. For this reason, it would be appropriate to determine the bioactive substances in these extracts in the future.

Keywords: Growth, Leaf extract, *Prunus mahaleb*, *Saccharomyces cerevisiae*.

GİRİŞ

Saccharomyces cerevisiae, farklı büyüme koşullarında kolayca çoğalabilen, tek hücreli genomu sekanslanmış ilk ökaryotik mikroorganizmadır bir organizmadır. *S. cerevisiae* maya hücreleri diğer ökaryotlar gibi G1, S, G2 ve M safhalarından oluşan hücre döngüsüne sahiptir. Bu nedenle *S. cerevisiae* maya türü metabolik yolakların genetik kontrolünün incelenmesinde ve kanser hücrelerinin hücre döngüsünün kontrol mekanizmalarının belirlenmesinde model organizma olarak kullanılmaktadır (Matuo ve ark., 2012). *S. cerevisiae* maya türünün yaşlanma mekanizmasında görev alan metabolik yolaklar ve bu yolaklarda görev alan genler yüksek ökaryotik canlılar ile benzerlik gösterdiğinden, *S. cerevisiae* maya hücreleri yaşlanma mekanizmalarının anlaşılmasında ve yaşlanma karşıtı ilaçların geliştirilmesinde de kullanılmaktadır. Hayvanlarda denenerek geroprotectors.org veri tabanında listelenen yaklaşık 200 geroprotektör bulunmaktadır (Moskalev ve ark., 2015). Son yıllarda doğal yollarla elde edilen özellikle bitkisel kökenli geroprotektörlerin araştırılması hız kazanmıştır. Genellikle yöresel, tıbbi ve ticari değeri olan bitkilerin köklerinin, yapraklarının veya meyvelerinin farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak ayrıştırılan özütlerinin yaşlanma üzerine etkileri araştırılmaktadır.

Curcuma longa (*Zingiberaceae*) bitkisinin rizomlarından izole edilen bioaktif curcumin bileşiğinin *Caenorhabditis elegans* ve *Drosophila melanogaster*'in yaşam uzunluğunu artırdığı

belirlenmiştir. Bu bileşiğin, özellikle fare testlerinden sonra Alzheimer hastalığının tedavisinde ilaç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Liao ve ark., 2011). Özellikle meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan Quercetin flavanoidinin *S. cerevisiae* maya hücrelerinde yaşam uzunluğunu %60 oranında, *C. elegans* kurtçuğunda ise %18 oranında artırdığı tespit edilmiştir (Belinha ve ark., 2007). Bunlara ilave olarak Kaempferol, Fisetin, Catechin ve Icariin gibi bitkilerden elde edilen flavonoid ve fenolik bileşiklerin *S. cerevisiae* ve *C. elegans*'ın yaşam uzunluğunu değişik oranlarda artırdığı belirlenmiştir (Koutis ve Tavernarakis, 2011; Sohal ve Weindruch, 1996; Dröge, 2003; Rattan, 2008). Yürütülen bir çalışmada 37 farklı bitki ektraktının mayaların çoğalması ve yaşlanması üzerine etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre *Rhodiola rosea*, *Cimicifuga racemosa*, *Passiflora incarnate*, *Ginkgo biloba*, *Apium graveolens* ve *Salix alba* bitki ekstraktlarının maya hücrelerinin büyümesi ve kronolojik yaşam süresinin uzaması üzerinde pozitif etkiye sahip olduğu, özellikle *Salix alba* kabuklarının yaşlanmayı %400 oranında yavaşlattığı belirlenmiştir (Lutchman ve ark., 2016).

Türkiye üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması ve Avrupa ile Asya floraları arasında geçiş merkezi oluşundan dolayı oldukça zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir. Halk arasında kullanılan çok sayıda bitki günümüzde tamamlayıcı tıp alanında fitoterapi tedavilerinde kullanılmaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalarda ağırlıklı olarak bu bitkilerin farklı çözücülerle elde edilen ektraktlarının antimikrobiyal ve antiokasidan etkileri incelenmiş mikrobiyal büyüme ve yaşlanmaya olan etkileri incelenmemiştir. Bu nedenle çalışmamızda potansiyel mikrobiyal büyümeye ve yaşlanmaya etkisi olabileceğini düşündüğümüz Gülgiller (*Rosaceae*) familyasından Mahlep (*Prunus mahaleb* L.) bitkisi seçilmiştir.

Halk arasında yetiştiği yöreye göre İdris ağacı, Yaban Kirazı, Taş Kirazı, Meltem, Endez olarak da bilinen mahlep meyvelerinin olgunlaşmış hali siyah, tadı acımsı ve ekşi olan bir meyvedir. Mahlep meyvesi şarap yapımında, tohumu pastacılıkta ve mahlep tohumundan elde edilen yağın suya dayanıklı olması sebebiyle boya sanayinde kullanılmaktadır. Ayrıca mahlep bitkisinin farklı bölgeleri antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle böbrek taşı tedavisinde, solunum yolu enfeksiyonlarında, diyabet ve gastrointestinal problemlerin tedavisinde geleneksel ve tamamlayıcı tıp alanında kullanılmaktadır (Mariod, A.A., Ibrahim, R.M., Ismail, M., ve Ismail, N., 2010; Akrayi ve Abdulrahman 2010; Oshi, M.A.M., Abdelkareem, A.M., ve Eltohami, M.S.H., 2013; Ieri, F., Pinelli, P., & Romani, A., 2012). Mahlep tohumları, dihidrokoumarin, flavonoidler, amygdalin ve aspirinin ana metaboliti olan salisilik asit içermektedir (Plouvier, 1960; Taghizadeh, S.F., Asgharzadeh, A., Asili, J., Sahebkar, A., ve Shakeri, A., 2015). Mahlep ağacının gövde kabuğu ve tohumları aromatik bir fenolik olan Kumarin içermektedir. Mahlebin kimyasal içeriği ile ilgili yapılmış birçok çalışma mevcut olup, bunlar bir araştırmada derlenmiş olarak mevcuttur (Özbey, A., Öncül, N., Yıldırım, Z., ve Yıldırım, M., 2011). Daha önce tamamlanan bir çalışmada mahlep kirazının çiçek, yaprak, dal, meyve, meyve sapı, tohum ve tohum kabuğu gibi farklı kısımlarından elde edilen metanol ve hekzan ekstraktlarının antibakteriyel, antifungal ve antioksidan aktiviteleri çalışılmıştır (Özçelik, B., Koca, U., Alpaslan, D. A., ve Sekeroglu, N., 2012). Tüm bitki ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğu ve özellikle metanol

ekstraktlarının hekzan ekstraktlarından daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise mahlep tohumlarının etanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesine bakıldığında bakteri türlerine göre etkisinin değiştiği bazı türlerde ise etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Seyyednejad, S.M., Maleki, S., Damab, N.M., ve Motamedi, H., 2008).

Mahlep bitkisinin mikrobiyal büyüme ve yaşlanma üzerine etkisi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle araştırmamızda mahlep yaprağının polar ve nonpolar çzücüler ile elde edilen özütlerinin *S. cerevisiae* maya hücrelerinin öncelikli olarak çoğalması üzerine etkisi belirlenmiştir. Metanol ve su özütlerinin maya hücrelerinin çoğalmasını artırdığı, hekzan özütlerinin ise baskıladığı belirlenmiştir. Metanol özütünün ise 0,5M ve üzerindeki konsantrasyonlarında maya hücrelerinin çoğalmasını yavaşlattığı gözlenmiştir.

YÖNTEM

Mahleb bitkisine ait yaprak örnekleri 2020 yılının Haziran ayında Tokat (Türkiye) ilinden toplandı. Yaprak örnekleri direk güneş almayan nem içermeyen ortamlada kurutularak porselen havan içinde toz haline getirildi. Mahlep yaprak tozu 15 gr olacak şekilde paketlendi ve Soxhlet cihazında sırasıyla hekzan, aseton, metanol ve distile su kullanılarak 8 saat süreyle ekstraksiyon işlemi tamamlandı. Elde edilen özütler rotary evaproratör kullanılarak konsantre edildi ve daha sonraki analizlerde kullanılmak üzere 4 ºC'de stoklandı.

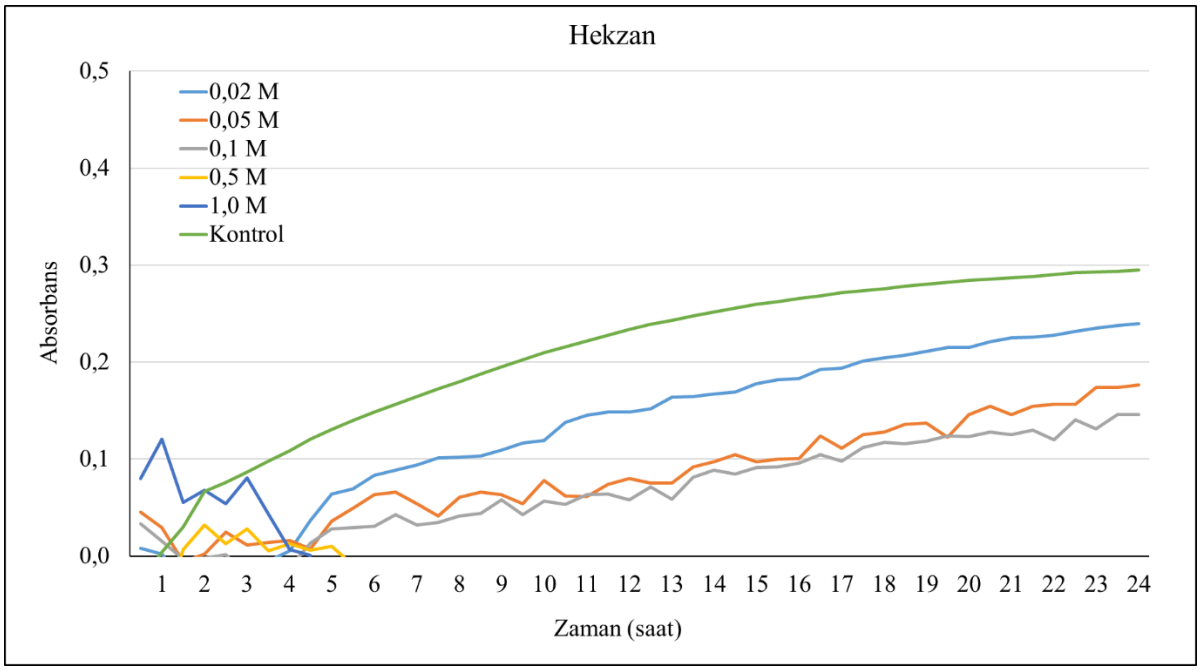
Maya hücrelerinin büyüme ve inhibisyon testi, bazı modifikasyonlarla daha önce bildirilen protokole göre yapıldı (Hung ve ark., 2018). Çalışmada BY4741 (MATa, *his3Δ1; leu2Δ0; met15Δ0; ura3Δ0*) yaban tip *S. cerevisiae* maya suşu kullanıldı. Maya hücreleri YNBD-HLMU minimal sıvı üreme ortamında (%0.67 yeast nitrogen base, %2 dextrose, histidin (40 mg/L), lösin (60 mg/L), methionin (40 mg/L), urasil (40 mg/L)) sabit sıcaklıkta (30 °C) ve çalkalamada (120 rpm) logaritmik faza kadar (OD_{600}: 0,8-0,9) üretildi. Maya hücreleri 0,02M, 0,05M, 0,1M, 0,5M ve 1,0M konsantrasyonlardaki bitki yaprak ektraktları (hegzan, aseton, metanol ve su) ile süspanse edildi ve elde edilen süspansiyonlardan 200'er µl alınarak 96 kuyucuklu plakalara transfer edildi. Daha sonra plakalar Multiskan™ FC Microplate Photometer cihazı kullanılarak 24 saat inkübasyona bırakıldı. Her 30 dakikada OD_{600} değeri ölçülerek inkübasyon sonrası elde edilen verilerin analizi yapıldı. . Her bir ekstrakt için üç tekrarlı okuma yapıldı ve tüm sıvı kültür analizleri üç kez tekrarlandı. Elde edilen sonuçlar üç kez ölçülen üç bağımsız denemeye ait ortalama değerlerin sonucu olarak verildi.

BULGULAR

Çalışamada mahlep yaprağının *S. cerevisiae* maya hücrelerinin çoğalması üzerindeki etkileri belirlendi. Bu amaçla yaprak örnekleri sırasıyla Hekzan (C_6H_{14}, KN:68,9 C), Aseton (CH_3COCH_3, KN: 56,2 C), Metanol (CH_3OH, KN: 65 C) ve distile su (dH_2O, KN: 100 C) ile muamele edildi. Hekzan non-polar bir çözücü iken metanol ve su polar çözücülerdir. Aseton ise hem polar hem de non-polar maddelerin özelliklerini sergilemektedir. Farklı polariteye

sahip çözücüler kullanılarak mahlep yaprağından farklı biyoaktif bileşenleri içeren özütlerin oluşturulması amaçlandı.

Genel olarak 0,5M ve 1,0M aseton özütleri hariç diğer tüm yaprak özütlerinde, maya hücrelerinin çoğalmasının yaklaşık 4 saatlik bir lag aşaması sonrasında başladığı gözlendi. Mahlep yaprağının 0,05M ve 0,1M hekzan özütlerinde maya hücrelerinin çoğalmasının kontrol grubuna göre %50 oranında ve 0,02M hekzan özütlerinde %25 oranında azaldığı gözlenirken 0,5M ve 1,0M hekzan özütlerinde maya hücrelerinin üremesinin tamamen baskılandığı ve hücrelerin çoğalamadığı tespit edildi (Şekil 1).

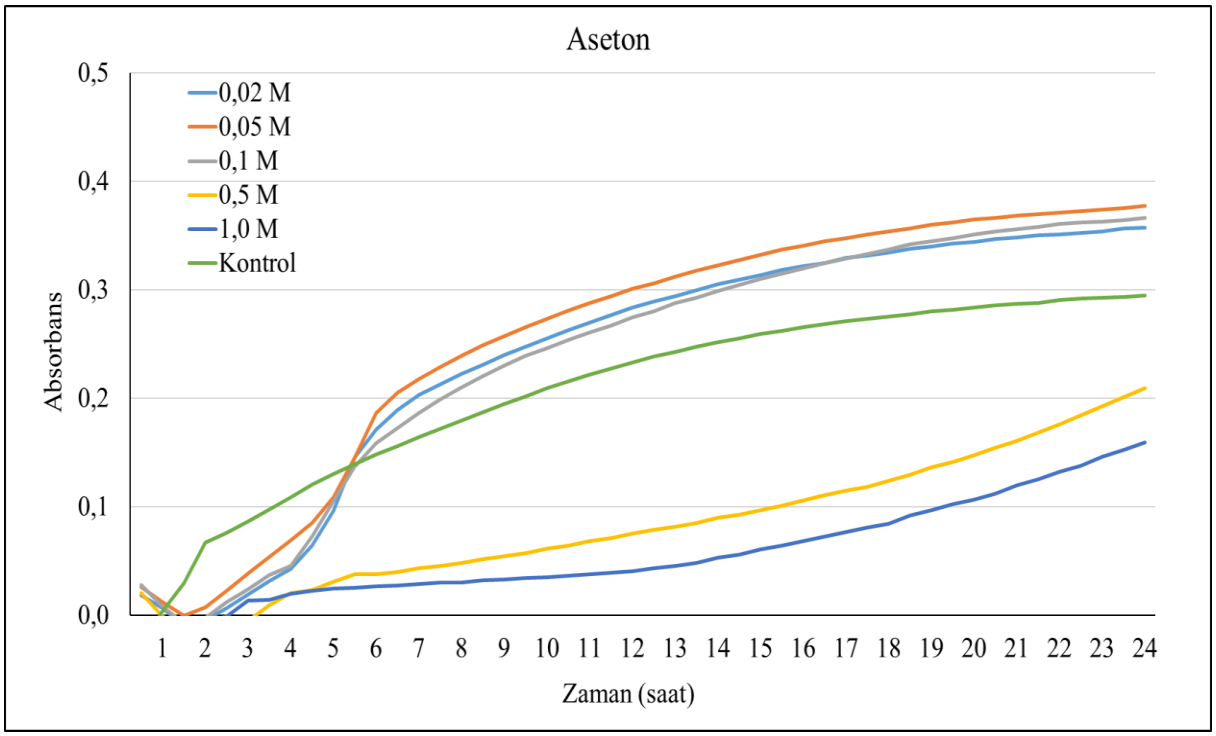


Şekil 1. Mahlep yaprağının hekzan özütünün maya hücrelerinin çoğalmasına etkisi

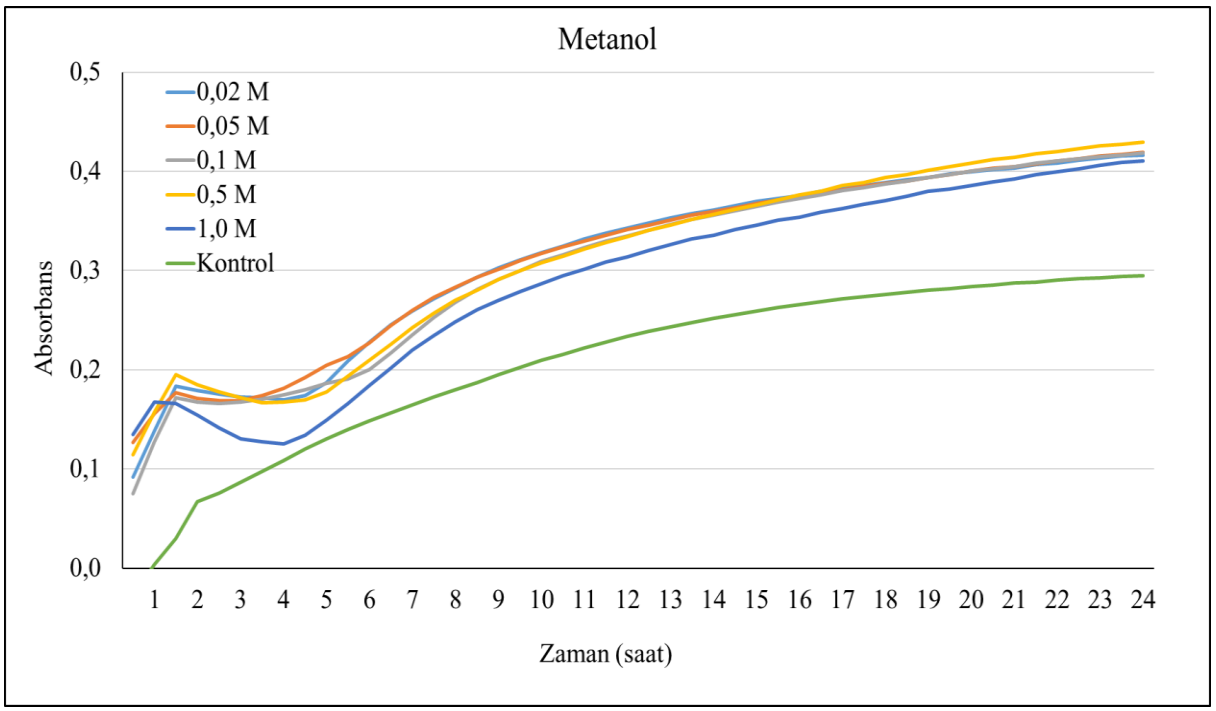
Mahlep yaprağının aseton özütlerinin maya hücrelerinin çoğalması üzerindeki etkisi Şekil 2'de verildi. 0,5M ve 1,0M aseton özütlerinde maya hücrelerinin çoğalması yaklaşık 13-15 saatlik bir lag aşaması sonrasında başladığı 24 saat sonunda maya hücrelerinin logaritmik olarak üremeye devam ettiği gözlendi. Ancak maya hücrelerinin çoğalma hızı 24 saat sonunda hala kontrol grubuna göre oldukça düşük seviyede olduğu belirlendi. Diğer aseton özütlerinin konsantrasyonlarında (0,02M, 0,05M ve 0,1M) ise maya hücrelerinin yaklaşık 3 saat sonra logaritmik aşamaya geçtiği ve maya hücrelerinin çoğalmasının kontrol grubuna göre yüksek seviyede olduğu belirlendi.

Mahlep yaprağının metanol özütlerinin maya hücrelerinin çoğalması üzerindeki etkisi incelendiğinde, kullanılan tüm metanol özütü konsantarsyonlarında maya hücrelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek çoğalma oranına sahip olduğu gözlendi (Şekil 3). Benzer şekilde

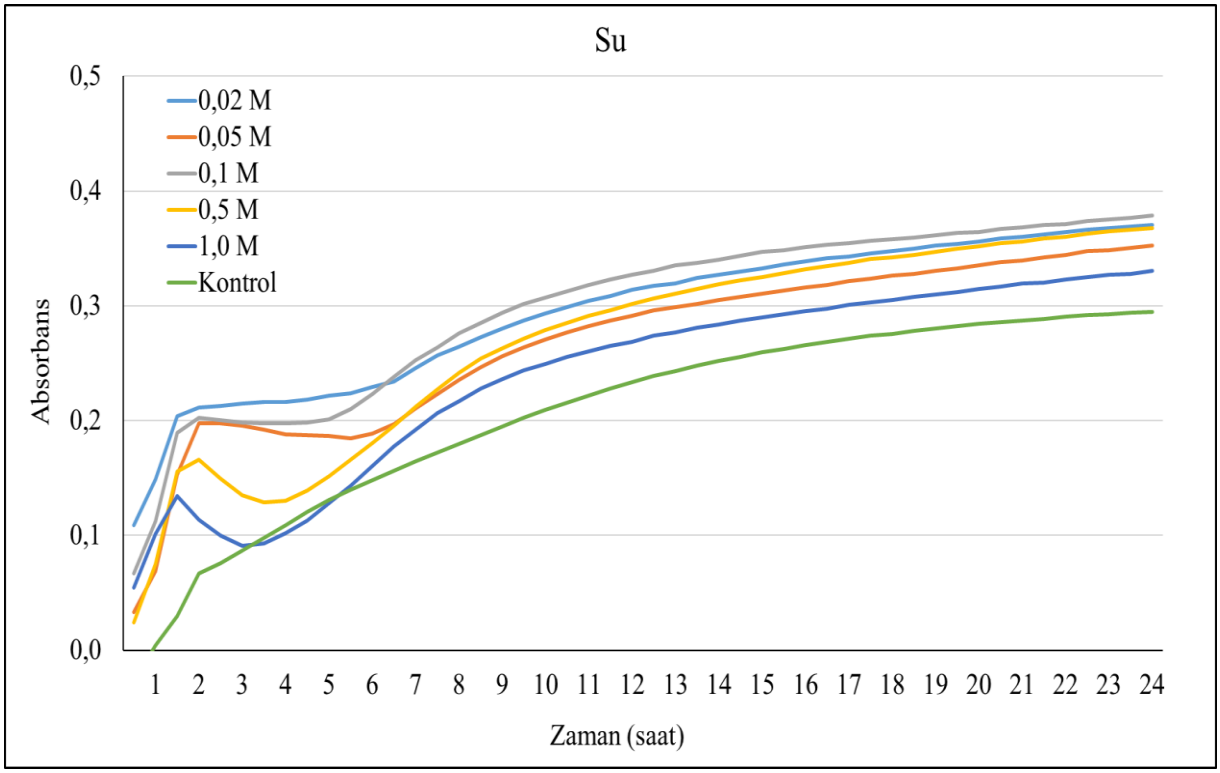
mahlep yaprağının su özütlerinde de maya hücrelerinin çoğalma oranının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi (Şekil 4).



Şekil 2. Mahlep yaprağının aseton özütünün maya hücrelerinin çoğalmasına etkisi



Şekil 3. Mahlep yaprağının metanol özütünün maya hücrelerinin çoğalmasına etkisi



Şekil 4. Mahlep yaprağının su özütünün maya hücrelerinin çoğalmasına etkisi

TARTIŞMA VE SONUÇ

Maya hücreleri uygun çevre koşullarında hızla çoğalabilen mikroorganizmalardır. Hücre içi ve dışı etkenler maya hücrelerinin hayatta kalma sürelerini pozitif veya negatif yönde değiştirebilirler. Maya hücrelerinin yaşam uzunluğunun negatif yönde etkilenmesi özellikle patojen mayalara karşı kullanılabilecek ilaçların geliştirilmesinde mayaların model sistem olarak kullanılmasını sağlarken, pozitif etkilenmesi yüksek eukaryotik canlılardaki yaşlanma mekanizmalarının araştırılmasında model sistem olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Bu nedenle son yıllarda doğal ve bitkisel kökenli geroprotektörlerin belirlenmesine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Çalışmamızda mahlep yaprağının maya hücrelerinin çoğalması ve dolaylı olarak yaşam uzunluğuna etkisi belirlenmeye çalışıldı. Yaprak örneklerinin hekzan, aseton, metanol ve su çözücüleri kullanılark elde edilen özütlerinin *S.cerevisiae* maya hücrelerinin çoğalması üzerine etkisi mikroplaka okuyucu ile belirlendi. Mahlep yaprağının hegzan çözücüsü ile elde edilen özütün 0,5M ve üzeri konsantrasyonlarında maya hücrelerinin üremesinin tamamen baskılandığı, aseton çözücüsü ile elde edilen özütün 0,5M ve üzeri konsantrasyonlarda maya hücrelerinin çoğalmasını yavaşlattığı tespit edildi. Mahlep yaprağının metanol ve su çözücüleri ile elde edilen özütlerinin ise maya hücrelerinin çoğalmasında pozitif artışa neden olduğu belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre mahlep yaprağının metanol ve su özütlerinin geroprotektif özelliğe sahip etken maddeleri içerdiği tahmin edilmektedir. Bu nedenle, mahlep yapraklarının geroprotektif özelliklerini belirlemek için, gelecekte maya

kronolojik yaşlanma deneyleri yapılması gerekmektedir. Ayrıca bu özütlerin analizinin yapılarak etken maddelerinin belirlenmesi ve alternatif canlılarda da denenmesi uygun olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi tarafından proje numarası: FDK-2019-1332 tarafından desteklenmiştir. Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

Akrayi, H.F.S., & Abdulrahman, Z.F.A. (2013). Evaluation of the antibacterial efficacy and the phytochemical analysis of some plant extracts against human pathogenic bacteria. *Journal of Pharmacy and Clinical Sciences*, 7, 25-39.

Belinha, I., Amorim, M.A., Rodrigues, P., de Freitas V., Moradas-Ferreira, P., Mateus, N., & Costa, V. (2007). Quercetin increases oxidative stress resistance and longevity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2446-2451. DOI: https://doi.org/10.1021/jf063302e

Hung, C.W., Martínez-Márquez, J.Y., Javed, F.T., & Duncan, M.C. (2018). A simple and inexpensive quantitative technique for determining chemical sensitivity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Scientific Reports*, 8(1), 11919. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-018-30305-z

Ieri, F., Pinelli, P., & Romani, A. (2012). Simultaneous determination of anthocyanins, coumarins and phenolic acids in fruits, kernels and liqueur of *Prunus mahaleb* L. *Food Chemistry*, 135(2), 2157-2162. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.07.083

Kourtis, N., & Tavernarakis, N. (2011). Cellular stress response pathways and ageing: Intricate molecular relationships. *EMBO Journal*, 30(13), 2520-31. DOI: 10.1038/emboj.2011.162

Liao, V. H., Yu, C.W., Chu, Y.J., Li, W.H., Hsieh, Y.C., & Wang, T.T. (2011). Curcumin-mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 132(10), 480-487. DOI: 10.1016/j.mad.2011.07.008

Lutchman, V., Medkour, Y., Samson, E., Arlia-Ciommo, A., Dakik, P., Cortes, B., Feldman, R., Mohtashami, S., McAuley, M., Chancharoen, M., Rukundo, B., Simard, É., & Titorenko, V.I. (2016). Discovery of plant extracts that greatly delay yeast chronological aging and have different effects on longevity-defining cellular processes. *Oncotarget*, 7(13), 16542-16566. DOI: 10.18632/oncotarget.7665

Mariod, A.A., Ibrahim, R.M., Ismail, M., & Ismail, N. (2010). Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. *Food Chemistry*, 118(1), 120-127. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.085

Matuo, R., Sousa, F.G., Soares, D.G., Bonatto, D., Saffi, J., Escargueil, A.E., Larsen, A.K., Henriques, J.A.P. (2012). *Saccharomyces cerevisiae* as a model system to study the response to anticancer agents. *Cancer Chemother Pharmacol*, 70(4), 491-502. DOI: 10.1007/s00280-012-1937-4

Moskalev, A., Chernyagina, E., de Magalhaes, J.P., Barardo, D., Thoppil, H., Shaposhnikov, M., Budovsky, A., Fraifeld, E. V, Garazha, A., Tsvetkov, V., Bronovitsky, E., Bogomoloy, V., Scerbacov, A., Kuryan, O., Gurinovich, R., Jellen, C.L., Kennedy, B., Mamoshina, P., Dobrovolskaya, E., Aliper, A., Kaminsky, D., & Zhavoronkov, A. (2015). Geroprotectors.org: A New, structured and curated database of current therapeutic interventions in aging and age-related disease. *Aging (Albany NY)*, 7(9), 616–628. DOI: 10.18632/aging.100799

Oshi, M.A.M., Abdelkareem, A.M., & Eltohami, M.S.H. (2013). Phytochemical and antimicrobial activity of *Monechma ciliatum* (black mahlab) seed extracts. *Journal of Herbal Drugs*, 4(1), 15-22.

Özbey, A., Öncül, N., Yıldırım, Z., & Yıldırım, M. (2011). Mahlep ve Mahlep Ürünleri. *GOÜ, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 153-158.

Özçelik, B., Koca, U., Alpaslan, D. A., & Sekeroglu, N. (2012). Evaluation of the in vitro bioactivities of mahaleb cherry (*Prunus mahaleb* L.). *Romanian Biotechnological Letters*, 17(6), 7863-7872.

Plouvier, V. (1960). Some bark constituents of *P. mahaleb*. *Compte Rendu Hebdomadaire des Seances de l'Academie des Sciences*, 250(3), 594-596.

Rattan, S.I.S. (2008). Increased molecular damage and heterogeneity as the basis of aging. *Biological Chemistry*, 389(3), 267-72. DOI: 10.1515/BC.2008.030

Dröge W. (2003). Oxidative stress and aging. In: R.C. Roach, P.D. Wagner & P.H. Hackett (Eds), *Hypoxia: Through The Lifecycle*, (pp. 191-200). Kluwer Academic Plenum Publishers, New York.

Seyyednejad, S.M., Maleki, S., Damab, N.M., & Motamedi, H. (2008). Antibacterial activity of *Prunus mahaleb* and parsley (*Petroselinum crispum*) against some pathogen. *Asian Journal of Biological Sciences*, 1(1), 51-55. DOI: 10.3923/ajbs.2008.51.55

Sohal, R.S., & Weindruch, R. (1996). Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science*, 273(5271), 59-63. DOI: 10.1126/science.273.5271.59

Taghizadeh, S.F., Asgharzadeh, A., Asili, J., Sahebkar, A., & Shakeri, A. (2015). Evaluation of total phenolic content and antioxidant activity in ten selected mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) genotypes. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 2(2), 187-197. DOI: 10.22059/IJHST.2015.56435