T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ROSA DAMASCENA MILL. FARMAKOPE STANDARTLARININ BELİRLENMESİ, MATRİKS METALLOPROTEİNAZ (MMP) İNHİBİTÖR ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Uzm. Bio. Osman Tuncay AĞAR

Farmakognozi Programı
DOKTORA TEZİ

ANKARA
2018

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ROSA DAMASCENA MILL. FARMAKOPE STANDARTLARININ BELİRLENMESİ, MATRİKS METALLOPROTEİNAZ (MMP) İNHİBİTÖR ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Uzm. Bio. Osman Tuncay AĞAR

Farmakognozi Programı
DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. L. Ömür DEMİREZER

ANKARA
2018

Rosa damascena Mill. Farmakope Standartlarının Belirlenmesi, Matriks metalloproteinaz (MMP) İnhibitör Etkinliklerinin Araştırılması

Uzm. Bio. Osman Tuncay Ağar

Bu çalışma 12.02.2018 tarihinde jürimiz tarafından "Farmakognozi Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	*Prof. Dr. A. Ahmet Başaran* *(Hacettepe Üniversitesi)*
Tez Danışmanı:	*Prof. Dr. L. Ömür Demirezer* *(Hacettepe Üniversitesi)*
Üye:	*Prof. Dr. Funda N. Yalçın* *(Hacettepe Üniversitesi)*
Üye:	*Prof. Dr. Ayşegül Köroğlu* *(Ankara Üniversitesi)*
Üye:	*Prof. Dr. Betül Demirci* *(Anadolu Üniversitesi)*

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

08 Mart 2018

Prof. Dr. Diclehan Orhan

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini
Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

o **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**
(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)

x **Tezimin/Raporumun 09.03.2020 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**
(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)

o **Tezimin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

o **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

08 /03/2018

Osman Tuncay Ağar

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. L. Ömür DEMİREZER danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Osman Tuncay AĞAR

TEŞEKKÜR

Sıkıntılı süreçler yaşadığım akademik hayatımdaki tüm olumsuzlukları bir çırpıda silen, bilimsel çalışmalarımda ve hayata dair birçok konuda yeni bir bakış açısı ve vizyona sahip olmamı sağlayan çok değerli hocam Prof. Dr. L. Ömür Demirezer'e;

Yeri gelince bir dost yeri gelince bir abla yeri gelince bir sırdaş olan, idari işlerden önce insanlığı ön planda tutan kıymetli hocam Prof. Dr. İ. İrem Çankaya'ya;

Babası okulda geç saatlere kadar deney yaparken sabırla eve gelmesini bekleyen, eve girdiğimde (henüz uyuyakalmamışsa) heyecanla boynuma sarılan, en güzel dakikalarını ayrı geçirmek zorunda kaldığım canım kızım Umay'ıma;

Sadece iş hayatımda değil hayatımın her aşamasında bana güvenli gözlerle bakan, tüm dağınıklığıma rağmen sıkılmadan usanmadan hep arkamı toplayan, umutlarımın tükenmeye başladığı her anımda beni cesaretlendirip umut aşılayan biricik eşim Şulem'e;

Tez çalışmalarımı gerçekleştirdiğim Farmakognozi Anabilim Dalı imkanlarını kullanmama imkân sağlayan Anabilim Dalı Başkan'ı Prof. Dr. Funda Nuray Yalçın'a;

Doktora programına geçişim sırasında emeklerini esirgemeyen başta Prof. Dr. Ahmet Başaran olmak üzere tüm Farmakognozi AbD öğretim üyesi hocalarıma;

Yurt dışından temin edilen gül örneklerindeki katkılarından dolayı Avrupa Farmakope Komisyonu 13/B grubu delegelerinden Dr. Andreas Hoffman ve Dr. Bernhard Klier'e;

Bilgi, tecrübe ve paylaşımlarını esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Betül Demirci'ye;

Değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Ayşegül Köroğlu hocama;

HPLC çalışmalarımdaki katkıları için kıymetli hocam Doç. Dr. Emirhan Nemutlu'ya;

HPTLC çalışmalarımdaki katkıları için değerli hocam Doç. Dr. Alper Gökbulut'a;

Desteklerinden dolayı arkadaşlarım Yağmur, Ceren, Golshan, Çiğdem, Nadire, Mine, Yasin, Seçil, Merve, Zeynep, Zühal ve Ekrem hocam başta olmak üzere tüm Farmakognozi ve Farmasötik Botanik Anabilim Dalı personeline, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesindeki arkadaşlarım Hale, Gözde, Damla ve Emre'ye;

Her konuda desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili İhsan Karadavut'a;

ve bu günlere gelmemde her türlü desteği veren ve varlıklarıyla beni güçlü kılan kıymetli annem, babam ve ağabeyime;

Tezime maddi destek sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne (Proje no: THD-2017-15631);

En içten duygularımla teşekkür ederim.

ÖZET

Ağar, O.T., *Rosa damascena* Mill. Farmakope Standartlarının Belirlenmesi, Matriks Metalloproteinaz (MMP) İnhibitör Etkinliklerinin Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Programı, Doktora Tezi, Ankara, 2018. Bu tez botanik, fitokimyasal, analitik ve biyolojik aktivite başlıkları altında toplanmıştır. Çalışmanın botanik kısmında *Rosa damascena* Mill. (Rosaceae) petallerinin morfolojik ve anatomik karakteristikleri aydınlatılmıştır. Farmakope standartlarını belirleme çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen analitik çalışmalarda yararlanılmak üzere işaretleyici bileşikler kemferol 3-*O*-galaktozit ve kemferol 3-*O*-glukozit kromatografik yöntemler kullanılarak izole edilmiştir. Yine bu kapsamda, 10 farklı *R. damascena* numunesinden hazırlanan metanollü ekstre için İTK, HPTLC ve HPLC yöntem optimizasyonları ve HPLC metot validasyonu gerçekleştirilmiştir. Farklı kaynaklardan temin edilen *R. damascena* numunelerinden hazırlanan ekstre, uçucu yağ ve yağ altı suları ile posa suyunun Matriks metalloproteinaz enzim ailesi (MMPs) üyelerinden kollojenazlar grubundan MMP-1, MMP-8, MMP-13, jelatinazlar grubundan MMP-2, MMP-9 ve stromelisinler grubundan MMP-3 enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri araştırılmıştır. Ekstrelerin *β*-Karoten-linoleik asit, CUPRAC, FRAP ve fosfomolibdat yöntemleri ile antioksidan kapasiteleri; DPPH, ABTS ve NO yöntemleri ile radikal süpürücü kapasiteleri tayin edilmiştir. Ekstrelerin güneşten koruyucu faktörleri (SPF) spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Yapılan çalışmalar sonucunda *R. damascena* bitkisinin cilt yaşlanmasını geciktirici etkiye sahip olduğu, osteoartrit tedavisi için alternatif olabileceği, kuvvetli antioksidan ve radikal süpürücü kapasiteye ve etkin bir güneşten koruyucu faktöre sahip olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Rosa damascena*, HPLC, Antioksidan, SPF, MMP

Destekleyen Kuruluşlar: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (Proje No: THD-2017-15631)

ABSTRACT

Ağar, O.T., Determination of *Rosa damascena* Mill. Pharmacopoeia Standards, Investigation of Matrix Metalloproteinases (MMPs) Inhibitory Effects, Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Pharmacognosy Program, PhD Thesis, Ankara, 2018. This thesis is summarized as botanical, phytochemical, analytical and biological activity titles. The morphological and anatomical characteristics of *Rosa damascena* Mill. (Rosaceae) petals have been described in the botanical section of the study. Biomarker compounds, kaempferol 3-*O*-galactoside and kaempferol 3-*O*-glucoside, were isolated using chromatographic techniques for analytical studies carried out within the scope of pharmacopoeia standard studies. In this context, TLC, HPTLC and HPLC method optimizations and HPLC method validation for methanolic extracts prepared from 10 different *R. damascena* samples, were performed. The inhibitory effects of extracts, volatile oil, rose water and pulp water on collagenase class MMP-1, MMP-8, MMP-13, gelatinase class MMP-2, MMP-9 and stromelysin class MMP-3 enzymes were investigated. The antioxidant capacities of the extracts were determined by *β*-carotene-linoleic acid, CUPRAC, FRAP and phosphomolybdate methods; radical scavenging capacities were determined by DPPH, ABTS and NO methods. Sun protection factors (SPF) of extracts were measured spectrophotometrically. As a result of the studies, it was found that *R. damascena* petals has skin anti-aging effect and can be an alternative for osteoarthritis treatment, has significant antioxidant and radical scavenging capacity and effective sun protection factor.

Key words: *Rosa damascena*, HPLC, Antioxidant, SPF, MMP

Supporter Foundations: Hacettepe University Scientific Researches Coordination Unit (Project Number: THD-2017-15631)

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI iv
ETİK BEYAN v
TEŞEKKÜR vi
ÖZET vii
ABSTRACT viii
İÇİNDEKİLER ix
SİMGELER VE KISALTMALAR xiii
ŞEKİLLER xvii
TABLOLAR xxiv
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 7
2.1. Botanik Bilgiler 7
2.1.1. Rosaceae Familyası 7
2.1.2. *Rosa* L. Cinsinin Taksonomideki Yeri 7
2.1.3. Türkiye Florasındaki *Rosa* L. Taksonları 7
2.1.4. *Rosa damascena* Mill. 8
2.2. *Rosa damascena* Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar 9
2.2.1. Fenolik Bileşikler 9
2.2.2. Kumarinler 14
2.2.3. Terpenik ve Uçucu Bileşikler 15
2.2.4. Fenil propanoitler 20
2.2.5. Bitki asitleri 21
2.3. *Rosa damascena*'nın Kullanılışı ve Biyolojik Aktiviteleri 22
2.3.1. *Rosa damascena*'nın Geleneksel Kullanılışı 22
2.3.2. *Rosa damascena*'nın *in vitro* Biyolojik Etkileri 23
2.3.3. *Rosa damascena*'nın *in vivo* Biyolojik Etkileri 30
2.3.4. *Rosa damascena*'nın *ex vivo* Biyolojik Etkileri 42
2.3.5. *Rosa damascena* ile Yapılan Klinik Çalışmalar 43
3. GEREÇ VE YÖNTEM 46
3.1. *Rosa damascena* Mill., Rosae oleum, Rosae aqua Temini 46

3.2. Anatomik ve Morfolojik Çalışmalar 47
3.3. Kimyasal Malzemeler 47
3.4. Kullanılan Alet ve Gereçler 48
3.5. Ekstraksiyon 49
3.5.1. İzolasyon çalışmaları için ekstraksiyon 49
3.5.2. İTK, HPTLC ve HPLC çalışmaları için ekstraksiyon 50
3.5.3. Biyolojik etki çalışmaları için ekstraksiyon 50
3.6. Fitokimyasal ve Analitik Çalışmalar 51
3.6.1. İşaretleyici (Biomarker) Bileşiklerin İzolasyonu 51
3.6.2. İTK Yöntem Optimizasyonu 53
3.6.3. HPTLC Yöntem Optimizasyonu 54
3.6.4. HPLC Çalışmaları 55
3.7. Uçucu yağ elde edilmesi ve analizi 61
3.7.1. Mikrodistilasyon 61
3.7.2. Hidrodistilasyon 62
3.7.3. Katı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemi (SPME) 63
3.7.4. Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) ile uçucu yağınların kimyasal analizi 63
3.8. Matriks Metalloproteinaz İnhibitör Etki Çalışmaları 64
3.8.1. MMP-1 İnhibitör Etki Tayini 65
3.8.2. MMP-2 İnhibitör Etki Tayini 66
3.8.3. MMP-3 İnhibitör Etki Tayini 68
3.8.4. MMP-8 İnhibitör Etki Tayini 69
3.8.5. MMP-9 İnhibitör Etki Tayini 71
3.8.6. MMP-13 İnhibitör Etki Tayini 72
3.9. Antioksidan Kapasite Çalışmaları 74
3.9.1. β-karoten Linoleik Asit Yöntemi 74
3.9.2. Demir Redükleyici Antioksidan Kapasite (FRAP) Yöntemi 75
3.9.3. Bakır İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi 76
3.9.4. Fosfomolibdat Antioksidan Kapasite Tayini 76
3.10. Radikal süpürücü Kapasite Çalışmaları 77
3.10.1. DPPH Radikalini Süpürücü Kapasite Tayini 77

3.10.2. ABTS Radikalini Süpürücü Etki Tayini 78
3.10.3. Nitrik Oksit Radikalini Süpürücü Etki Tayini 79
3.11. Güneşten Koruyucu Faktör Çalışmaları 79
4. BULGULAR **81**
4.1. Botanik Çalışmalara Ait Bulgular 81
4.1.1. *Rosa damascena* Mill. 81
4.2. Fitokimyasal ve Analitik Çalışmalara Ait Bulgular 83
4.2.1. İşaretleyici Olarak Belirlenen Bileşiklerin İzolasyonu ve Yapı Tayini 83
4.2.2. İTK Yöntem Optimizasyonu 87
4.2.3. HPTLC Yöntem Optimizasyonu 89
4.2.4. HPLC Çalışmaları 92
4.3. Uçucu Yağ Analizi 112
4.3.1. Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometresi (GC-MS) 112
4.4. Matriks Metalloproteinaz İnhibitör Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular 125
4.4.1. MMP-1 İnhibitör Aktivite Tayini 125
4.4.2. MMP-2 İnhibitör Aktivite Tayini 128
4.4.3. MMP-3 İnhibitör Aktivite tayini 132
4.4.4. MMP-8 İnhibitör Aktivite tayini 136
4.4.5. MMP-9 İnhibitör Aktivite tayini 140
4.4.6. MMP-13 İnhibitör Aktivite tayini 144
4.5. Antioksidan Kapasite Çalışmalarına Ait Bulgular 148
4.5.1. β-karoten linoleik asit yöntemi 148
4.5.2. Demir Redükleyici Antioksidan Kapasite (FRAP) 156
4.5.3. Bakır Redükleyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) 159
4.5.4. Fosfomolibdat Antioksidan Kapasite Tayini 161
4.6. Radikal Süpürücü Kapasite Çalışmalarına Ait Bulgular 164
4.6.1. DPPH Radikalini Süpürücü Kapasite 164
4.6.2. ABTS Radikalini Süpürücü Kapasite Tayini 171
4.6.3. Nitrik Oksit Radikalini Süpürücü Kapasite 178
4.7. Güneşten Koruyucu Faktör (SPF) Çalışmaları için Bulgular 185
5. TARTIŞMA **194**
6. SONUÇ VE ÖNERİLER **213**

7. KAYNAKLAR **215**

8. ÖZGEÇMİŞ

SİMGELER VE KISALTMALAR

A_s : Pik asimetrisi

Abs : Absorbans

ABTS : 2,2'-Azino-bis (3 etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)

ALP : Alkalin fosfataz

Anti-HMG-CoA : Anti-3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A

ASK : Askorbik asit

ASKE : Askorbik asit ekivalan

Astragalin : Kemferol 3-*O*-glukozit

BHA : Bütil hidroksi anisol

BSS : Bağıl standart sapma

CH_3COOH : Asetik asit

CH_2Cl_2 : Diklorometan

CCl_4 : Karbon tetraklorür

CUPRAC : Bakır redükleyici antioksidan kapasite

ÇS : Çözücü sistemi

DHA : Dokosahekzaenoik asit

dk : Dakika

DPPH : 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil

ECM : Ekstrasellüler matriks

ECoG : Elektrokortikografi

ELISA : Enzim-bağlı immünosorbent deneyi

EtOAc : Etil asetat

EtOH : Etanol

% 70 EtOH : Etanol:Su (70:30)

f: : Wx alanındaki doruk noktası ve pik önü arasında kalan mesafe

FDA : Food Drug Administation

Fr. : Fraksiyon

FRAP : Demir redükleyici antioksidan kapasite

FTC : Ferrik tiyosinat

GA : Gallik asit

GAE : Gallik asit ekivalan
GC : Gaz Kromatografisi
GC/MS : Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
GOT : Glutamin okzaloasetat transaminaz
GPT : Glutamin piruvat transaminaz
GTCS : Jeneralize tonik klonik nöbet
HD : Hidrodistilasyon
H_2O_2 : Su
H_2O_2 : Hidrojen peroksit
H_2SO_4 : Sülfürik asit
HCOOH : Formik asit
HeLa : Servikal kanser hücre dizisi
HPLC : Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HPTLC : Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi
HS : Headspace (tepe boşluğu)
ICH : The International Conference on Harmonisation
i.p. : İntraperitonal
IL-1 : İnterlökin-1
IL-8 : İnterlökin-8
İTK : İnce tabaka kromatografisi
k' : Kapasite faktörü
$K_3Fe(CN)_6$: Potasyum ferrisiyanit
K3GAL : Kemferol 3-*O*-galaktozit
K3GLU : Kemferol 3-*O*-glukozit
L-NAME : N(ω)-nitro-L-arjinin metil ester
LOD : Teşhis sınırı
LOQ : Tayin alt sınırı
MCS : Minimal klonik nöbet
MD : Mikrodistilasyon
MeOH : Metanol
MMP : Matriks metalloproteinaz
N : Teorik tabaka sayısı

n : Analiz sayısı, Enjeksiyon sayısı

***n*-BuOH** : *n*-bütanol

***n*-hkzn** : *n*-hekzan

NH_4AC : Amonyum asetat

NO : Nitrik oksit

OS : Oda sıcaklığı

PTZ : Pentilentetrazol

R_s : Ayırıcılık

R. damascena : *Rosa damascena*

RD-1 : *R. damascena*-1 (Isparta - TİTCK)

RD-1 Kuru : Kurutulmuş *R. damascena-1* petali

RD-1 Dond. : 6 ay derin dondurucuda saklanmış taze *R. damascena*-1 petali

RD-2 : *R. damascena*-2 (İran-Kamu)

RD-2 Kuru : Kurutulmuş *R. damascena*-2 petali

RD-3 : *R. damascena*-3 (İran-Nurabad)

RD-3 Kuru : Kurutulmuş *R. damascena*-3 petali

RD-4 : *R. damascena*-4 (İran)

RD-4 Kuru : Kurutulmuş *R. damascena-2* petali

RD-5 : *R. damascena*-5 (İran) - Batch Number: 152344

RD-6 : *R. damascena*-6 (İran) - Batch Number: 152067

RD-7 : *R. damascena*-7 (İran) - Batch Number: 161137

RD-8 : *R. damascena*-8 (İran) - Batch Number: 1560A15901

RD-9 : *R. damascena*-9 (İran) - Batch Number: 1690A160308

RD-10 : *R. damascena*-10 (Pakistan) - Batch Number: 1568A150420

RD-11 : *R. damascena*-11 (Isparta - Gül üreticisi)

RD-11 Kuru : Kurutulmuş *R. damascena*-11 petali

RD-11 Taze : Taze *R. damascena*-11 petali

RD-TCUY : *R. damascena* ticari uçucu yağ

RD-TCGS : *R. damascena* ticari gül suyu

RO-1 : İzole edilen kemferol 3-*O*-galaktozit

RO-2 : İzole edilen kemferol 3-*O*-glukozit

Roksilozit A : Kemferol-3-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→4)-*β*-D-ksilopiranozit

ROS : Reaktif oksijen türleri

SH : Standart hata

SOD2 : Manganez süperoksit dismutaz

SPF : Güneşten koruyucu faktör

SPME : Katı faz mikroekstraksiyon

SS : Standart sapma

STD : Standart, standart karışımı

t_0 : Ölü hacim

t_R : Analitin alıkonma zamanı

t_w : Pik taban genişliği

TBA : Tiyobarbitürik asit

TCA : Trikloroasetikasit

Trifolin : Kemferol 3-*O*-galaktozit

TRLE : Troloks ekivalan

TRL : Troloks

Troloks : 6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit

USP : United States Pharmacopeia

UV : Ultraviyole

UVR : Ultraviyole radyasyon

VERO : Afrika yeşil maymun böbrek epitel hücre dizisi

W_x : Pik yüksekliğinin tabandan % 5 veya % 10 olan pik genişliği

ŞEKİLLER

Şekil

1.1. ROS, SOD2, MMP ve hastalıkların ilişkisi. 3

1.2. Yıllara göre deri kalınlaşması grafiği. 4

1.3. UV radyasyonla MMP salınımını indükleme modeli. 5

3.1. *Rosa damascena* petal n-BuOH ekstresi izolasyon şeması. 52

3.2. Sistem uygunluk parametreleri hesaplarında kullanılan ölçütler. 58

3.3. Pik asimetri oranının hesaplanması. 59

4.1. *Rosa damascena* Mill. genel görünüşü. 81

4.2. *Rosa damascena* anatomik karakterler. 83

4.3. Fr.D'den saf olarak izole edilen bileşiklerin İTK kromatogramı. 84

4.4. İzole edilen Kemferol 3-*O*-galaktozit bileşiğinin HPLC kromatogramı. 84

4.5. Kemferol 3-*O*-galaktozit standart bileşiğinin HPLC kromatogramı. 85

4.6. İzole edilen RO-1 bileşiği üzerine Kemferol 3-*O*-galaktozit standart bileşiği ilavesi. 85

4.7. İzole edilen Kemferol 3-*O*-glukozit bileşiğinin HPLC kromatogramı. 86

4.8. Kemferol 3-*O*-glukozit standart bileşiğinin HPLC kromatogramı. 86

4.9. İzole edilen RO-2 bileşiği üzerine Kemferol 3-*O*-glukozit standart bileşiği ilavesi. 87

4.10. *Rosa damascena* metanol ekstreleri İTK kromatogramı (254 nm). 88

4.11. *Rosa damascena* metanol ekstreleri İTK kromatogramı (366 nm) 88

4.12. *Rosa damascena* metanol ekstreleri İTK kromatogramı (% 1 vanilin H_2SO_4 püskürtüldükten sonra; 366 nm). 89

4.13. *Rosa damascena* metanol ekstreleri İTK kromatogramı (% 1 vanilin H_2SO_4 püskürtüldükten sonra; beyaz ışık). 89

4.14. *Rosa damascena* metanol ekstreleri HPTLC kromatogramı (254 nm). 90

4.15. *Rosa damascena* metanol ekstreleri HPTLC kromatogramı (366 nm). 90

4.16. *Rosa damascena* metanol ekstreleri HPTLC kromatogramı (% 1 vanilin H_2SO_4 püskürtüldükten sonra; 366 nm). 91

4.17. *Rosa damascena* metanol ekstreleri HPTLC kromatogramı (% 1 vanilin H_2SO_4 püskürtüldükten sonra; beyaz ışık). 91

4.18. Kersetin 3-*O*-galaktozit ve Kersetin 3-*O*-glukozit bileşikleri karışımı HPLC kromatogramı. 92

4.19. RD-1'den izole edilen Kemferol 3-*O*-galaktozit HPLC kromatogramı. 93

4.20. Kemferol 3-*O*-galaktozit HPLC kromatogramı. 93

4.21. Kersetin 3-*O*-ramnozit HPLC kromatogramı. 94
4.22. Kemferol 3-*O*-glukozit HPLC kromatogramı. 94
4.23. RD-1'den izole edilen Kemferol 3-*O*-glukozit. 95
4.24. Kemferol 3-*O*-ramnozit HPLC kromatogramı. 95
4.25. Standart madde karışımının HPLC kromatogramı. 96
4.26. RD-1 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı. 96
4.27. RD-2 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı. 97
4.28. RD-3 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı. 97
4.29. RD-4 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı. 98
4.30. RD-5 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı. 98
4.31. RD-6 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı. 99
4.32. RD-7 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı. 99
4.33. RD-8 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı. 100
4.34. RD-9 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı. 100
4.35. RD-10 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı. 101
4.36. Kemferol 3-*O*-galaktozit standart eğrisi. 101
4.37. Kemferol 3-*O*-glukozit standart eğrisi. 102
4.38. RD-1, RD-2, RD-3, RD-4, RD-8 ve RD-9 parmak izi analizleri. 103
4.39. RD-5, RD-6, RD-7 ve RD-10 parmak izi analizleri. 103
4.40. RD-1 ile standart Kersetin 3-*O*-galaktozit ve Kersetin 3-*O*-glukozit karışımı kromatogramlarının parmak izi karşılaştırması. 103
4.41. Kersetin 3-*O*-galaktozit ve Kersetin 3-*O*-glukozit karışımının RD-1 metanol ekstresine eklenmesi ile elde edilen kromatogramı. 104
4.42. RD-1 kromatogramı ile standart Kemferol 3-*O*-galaktozit kromatogramlarının parmak izi karşılaştırması. 104
4.43. Kemferol 3-*O*-galaktozit'in RD-1 metanol ekstresine eklenmesi ile elde edilen HPLC kromatogramı. 105
4.44. RD-1 kromatogramı ile standart ile Kersetin 3-*O*-ramnozit karşılaştırılması. 105
4.45. Kersetin 3-*O*-ramnozit'in RD-1 metanol ekstresine eklenmesi ile elde edilen HPLC kromatogramı. 106
4.46. RD-1 kromatogramı ile standart Kemferol 3-*O*-glukozit karşılaştırılması. 106
4.47. Kemferol 3-*O*-glukozit'in RD-1 metanol ekstresine eklenmesi eklenmesi ile elde edilen HPLC kromatogramı. 107
4.48. RD-1 kromatogramı ile standart Kemferol 3-*O*-ramnozit kromatogramlarının parmak izi karşılaştırması. 107

4.49. Kemferol 3-*O*-ramnozit'in RD-1 metanol ekstresine eklenmesi ile elde edilen HPLC kromatogramı. 108

4.50. K3GLU için elde edilen kalibrasyon eğrisi grafiği. 110

4.51. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-1 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 125

4.52. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70'lik EtOH ekstrelerinin MMP-1 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 126

4.53. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-1 inhibisyon yüzdeleri. 127

4.54. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-1 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 128

4.55. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-2 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 129

4.56. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-2 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 130

4.57. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-2 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 131

4.58. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-2 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 132

4.59. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-3 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 133

4.60. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-3 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 134

4.61. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-3 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 135

4.62. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-3 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 136

4.63. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-8 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 137

4.64. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-8 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 138

4.65. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-8 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 139

4.66. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-8 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 140

4.67. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-9 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 141

4.68. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-9 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 142

4.69. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-9 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 143

4.70. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-9 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 144

4.71. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-13 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 145

4.72. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-13 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 146
4.73. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-13 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 147
4.74. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-13 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 148
4.75. RD-1 petal ekstrelerinin toplam antioksidan kapasitesi. 149
4.76. RD-1 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi. 150
4.77. RD-2 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi. 150
4.78. RD-3 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi. 151
4.79. RD-4 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi. 151
4.80. RD-5 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi. 151
4.81. RD-6 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi. 152
4.82. RD-7 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi. 152
4.83. RD-8 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi. 152
4.84. RD-9 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi. 153
4.85. RD-10 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi. 153
4.86. Gallik asit standart eğrisi. 154
4.87. RD-1 petal ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri. 155
4.88. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri. 155
4.89. Askorbik asit standart eğrisi. 156
4.90. GA standart eğrisi. 157
4.91. RD-1 petal ekstreleri demir redükleme kapasiteleri. 158
4.92. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin demir redükleme kapasiteleri. 158
4.93. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri. 159
4.94. RD-1 petal ekstrelerinin bakır redükleme kapasiteleri. 160
4.95. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin bakır redükleme kapasiteleri. 160
4.96. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri. 161
4.97. Askorbik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (695 nm). 162
4.98. RD-1 petal ekstreleri toplam antioksidan kapasiteleri. 163
4.99. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri. 163
4.100. RD-1 petal ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü kapasiteleri. 164

4.101. RD-1 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi. 165
4.102. RD-2 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi. 165
4.103. RD-3 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi. 166
4.104. RD-4 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi. 166
4.105. RD-5 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi. 166
4.106. RD-6 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi. 167
4.107. RD-7 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi. 167
4.108. RD-8 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi. 167
4.109. RD-9 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi. 168
4.110. RD-10 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi. 168
4.111. Gallik asit standart eğrisi. 169
4.112. RD-1 petal ekstreleri DPPH radikal süpürücü kapasiteleri. 170
4.113. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü kapasiteleri. 170
4.114. RD-1 petal ekstrelerinin ABTS radikalini süpürücü kapasiteleri. 171
4.115. RD-1 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi. 172
4.116. RD-2 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi. 172
4.117. RD-3 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi. 173
4.118. RD-4 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi. 173
4.119. RD-5 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi. 173
4.120. RD-6 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi. 174
4.121. RD-7 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi. 174
4.122. RD-8 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi. 174
4.123. RD-9 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi. 175
4.124. RD-10 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi. 175
4.125. Troloks standart eğrisi. 176
4.126. Gallik asit standart eğrisi. 176
4.127. RD-1 petal ekstreleri ABTS radikal süpürücü kapasiteleri. 177
4.128. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin ABTS radikal süpürücü kapasiteleri. 177
4.129. RD-1 petal ekstrelerinin NO radikalini süpürücü kapasiteleri 178
4.130. RD-1 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi. 179
4.131. RD-2 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi. 179
4.132. RD-3 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi. 180

4.133. RD-4 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi. 180
4.134. RD-5 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi. 180
4.135. RD-6 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi. 181
4.136. RD-7 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi. 181
4.137. RD-8 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi. 181
4.138. RD-9 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi. 182
4.139. RD-10 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi. 182
4.140. Askorbik asit standart eğrisi. 183
4.141. Gallik asit standart eğrisi. 183
4.142. RD-1 petal ekstreleri NO radikal süpürücü kapasiteleri. 184
4.143. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin NO radikal süpürücü kapasiteleri. 184
4.144. Çeşitli RD-1 ekstrelerinin SPF değerleri. 188
4.145. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin SPF değerleri. 193
5.1. *Rosa damascena* metanol ekstreleri İTK kromatogramı (254 nm). 195
5.2. *Rosa damascena* metanol ekstreleri HPTLC kromatogramı (% 1 vanilin H_2SO_4 püskürtüldükten sonra; 366 nm). 195
5.3. RD-1 (Kr-1), RD-2 (Kr-2), RD-3 (Kr-3), RD-4 (Kr-4), RD-8 (Kr-5) ve RD-9 (Kr-6) parmak izi analizleri. 196
5.4. RD-5 (Kr-1), RD-6 (Kr-2), RD-7 (Kr-3) ve RD-10 (Kr-4) parmak izi analizleri. 196
5.5. RD-1 ekstrelerinin ve farklı RD petallerinden elde edilen % 70'lik EtOH ekstrelerinin 200 µg/mL konsantrasyonda MMP-1 inhibisyon yüzdeleri. 204
5.6. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 200 µg/mL konsantrasyonda MMP-1 inhibisyon yüzdeleri. 204
5.7. RD-1 ekstrelerinin ve farklı RD petallerinden elde edilen % 70'lik etanollü ekstrelerin 100 µg/mL konsantrasyonda MMP-2 inhibisyon yüzdeleri. 205
5.8. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 100 µg/mL konsantrasyonda MMP-2 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 205
5.9. RD-1 ekstrelerinin ve farklı RD petallerinden elde edilen % 70'lik EtOH ekstrelerinin 100 µg/mL konsantrasyonda MMP-3 inhibisyon yüzdeleri. 206
5.10. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 100 µg/mL konsantrasyonda MMP-3 inhibisyon yüzdeleri grafiği. 206
5.11. RD-1 ekstrelerinin ve farklı RD petallerinden elde edilen % 70'lik EtOH ekstrelerinin 200 µg/mL konsantrasyonda MMP-8 inhibisyon yüzdeleri. 207
5.12. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 400 µg/mL konsantrasyonda MMP-8 inhibisyon yüzdeleri. 207

5.13. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 200 µg/mL konsantrasyondaki MMP-13 inhibisyon yüzdeleri. 208

5.14. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 50 µg/mL konsantrasyondaki MMP-9 inhibisyon yüzdeleri. 208

5.15. MMP-1, MMP-8, MMP 13 karşılaştırması. 209

5.16. MMP-2, MMP-9, MMP 3 karşılaştırması. 210

5.17. RD-1 % 70 EtOH ekstresinin tüm antioksidan ve radikal süpürücü kapasite yöntemlerinde karşılaştırılması. 212

TABLOLAR

Tablo

2.1. *Rosa* L. cinsinin sınıflandırılması. 7

2.2. Türkiye'de doğal olarak yetişen *Rosa* L. türleri. 8

2.3. *Rosa damascena*'dan izole edilen flavonol aglikonları 9

2.4. *Rosa damascena*'dan izole edilen flavonol glikozitleri 10

2.5. *Rosa damascena*'dan izole edilen flavon aglikonlar 11

2.6. *Rosa damascena*'dan izole edilen izoflavonoitler 11

2.7. *Rosa damascena*'dan izole edilen flavan 3-ol'ler. 12

2.8. *Rosa damascena*'dan izole edilen auronlar. 12

2.9. *Rosa damascena*'dan izole edilen kalkonlar. 14

2.10. *Rosa damascena*'dan izole edilen antosiyaninler. 14

2.11. *Rosa damascena*'dan izole edilen kumarinler. 14

2.12. *Rosa damascena*'dan izole edilen siklik monoterpenler. 15

2.13. *Rosa damascena*'dan izole edilen asiklik monoterpenler. 16

2.14. *Rosa damascena*'dan izole edilen seskiterpenler. 17

2.15. *Rosa damascena*'dan izole edilen hidrokarbonlar. 18

2.16. *Rosa damascena*'dan izole edilen benzenoitler. 18

2.17. *Rosa damascena*'dan izole edilen diterpenik bileşikler. 19

2.18. *Rosa damascena*'dan izole edilen triterpenik bileşikler. 19

2.19. *Rosa damascena*'dan izole edilen steroidal bileşikler. 20

2.20. *Rosa damascena*'dan izole edilen fenil propanoitler. 20

2.21. *Rosa damascena*'dan izole edilen bitki asitleri. 21

3.1. Temin edilen *Rosa damascena* numuneleri. 46

3.2. Silikajel kolon sistemi 51

3.3. Preparatif İTK sistemi 52

3.4. İTK yöntem optimizasyonu için denenen ekstraksiyon yöntemleri. 53

3.5. İTK yöntem optimizasyonu için denenen hareketli faz çözücü sistemleri. 53

3.6. İTK yöntem optimizasyonu için denenen standart maddeler. 54

3.7. HPTLC koşulları. 54

3.8. *Rosa damascena* petallerinden elde edilen metanol ekstresinin ayrımı için kullanılan HPLC yöntemi. 56

3.9. *Rosa damascena* petallerinden elde edilen metanol ekstresinin ayrımı için geliştirilen HPLC yönteminde basamaklı gradient elüsyon sistemi. 57

3.10. Sistem uygunluk testleri için sınır değerler. 57
3.11. Mikrodistilasyon ile uçucu yağ elde edilen numuneler. 62
3.12. Uçucu bileşiklerin analizinde kullanılan numuneler ve yüzde verimleri. 62
3.13. GC Analiz Koşulları. 64
3.14. GC/MS Analiz Koşulları. 64
3.15. MMP inhibitör etkileri çalışılan numuneler. 65
3.16. MMP-1 enzim kiti içeriği ve saklama koşulları. 65
3.17. MMP-2 enzim kiti içeriği. 67
3.18. MMP-3 enzim kiti içeriği. 68
3.19. MMP-8 enzim kiti içeriği. 70
3.20. MMP-9 enzim kiti içeriği. 71
3.21. MMP-13 enzim kiti içeriği. 73
3.22. Antioksidan kapasite çalışmalarında kullanılan ekstreler. 74
3.23. Radikal süpürücü kapasite çalışmaları yapılan numuneler. 77
4.1. İzole edilen bileşiklerin ve standart maddelerin alıkonma zamanları. 84
4.2. Belirlenen HPLC yönteminde tespit edilen bileşikler. 92
4.3. Kemferol 3-*O*-galaktozit ve Kemferol 3-*O*-glukozit miktar tayinleri. 102
4.4. Sistem uygunluk parametreleri. 108
4.5. K3GLU kısa dönem karalılık bulguları 109
4.6. K3GLU için uzun dönem kararlılık bulguları. 109
4.7. K3GLU için elde edilen doğrusallık bulguları. 110
4.8. Doğruluk parametresi bulguları. 111
4.9. Cihaz enjeksiyon tekrarlanabilirliği. 111
4.10. Gün içi kesinlik bulguları. 111
4.11. Günler arası kesinlik bulguları. 112
4.12. Geliştirilen HPLC yönteminin sağlamlık parametreleri. 112
4.13. Mikrodistilasyon ile elde edilen uçucu bileşikler. 113
4.14. Hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu bileşikler. 116
4.15. SPME ile gül sularından elde edilen uçucu bileşikler. 120
4.16. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-1 inhibisyon yüzdeleri. 125
4.17. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70'lik EtOH ekstrelerinin MMP-1 inhibisyon yüzdeleri. 126
4.18. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-1 inhibisyon yüzdeleri. 127

4.19. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-1 inhibisyon yüzdeleri. 128
4.20. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-2 inhibisyon yüzdeleri. 129
4.21. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-2 inhibisyon yüzdeleri. 130
4.22. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-2 inhibisyon yüzdeleri. 131
4.23. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-2 inhibisyon yüzdeleri. 132
4.24. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-3 inhibisyon yüzdeleri. 133
4.25. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-3 inhibisyon yüzdeleri. 134
4.26. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-3 inhibisyon yüzdeleri. 135
4.27. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-3 inhibisyon yüzdeleri. 136
4.28. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-8 inhibisyon yüzdeleri. 137
4.29. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-8 inhibisyon yüzdeleri. 138
4.30. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-8 inhibisyon yüzdeleri. 139
4.31. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-8 inhibisyon yüzdeleri. 140
4.32. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-9 inhibisyon yüzdeleri. 141
4.33. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-9 inhibisyon yüzdeleri. 142
4.34. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-9 inhibisyon yüzdeleri. 143
4.35. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-9 inhibisyon yüzdeleri. 144
4.36. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-13 inhibisyon yüzdeleri. 145
4.37. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-13 inhibisyon yüzdeleri. 146
4.38. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-13 inhibisyon yüzdeleri. 147
4.39. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-13 inhibisyon yüzdeleri. 148
4.40. RD-1 petal ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri (%). 149
4.41. RD-1 - RD-10 % 70 EtOH petal ekstrelerinin toplam antioksidan kapasitesi. 150
4.42. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (470 nm). 154
4.43. RD-1 petal ekstreleri toplam antioksidan kapasiteleri. 154
4.44. RD-1 - RD-10 petal ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri. 155

4.45. Askorbik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (700 nm). 156
4.46. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (700 nm). 157
4.47. RD-1 petal ekstrelerinin demir redükleme kapasiteleri. 157
4.48. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin demir redükleme kapasiteleri. 158
4.49. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (450 nm). 159
4.50. RD-1 petal ekstrelerinin bakır redükleme kapasiteleri. 159
4.51. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin bakır redükleme kapasiteleri. 160
4.52. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (695 nm). 161
4.53. Askorbik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (695 nm). 162
4.54. RD-1 petal ekstreleri toplam antioksidan kapasiteleri. 162
4.55. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri. 163
4.56. RD-1 petal ekstrelerinin DPPH radikalini süpürme kapasiteleri. 164
4.57. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü kapasiteleri. 165
4.58. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (520 nm). 169
4.59. RD-1 petal ekstreleri DPPH radikal süpürücü kapasiteleri. 169
4.60. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü kapasiteleri. 170
4.61. RD-1 petal ekstrelerinin ABTS radikalini süpürücü kapasiteleri. 171
4.62. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin ABTS radikal süpürücü kapasiteleri. 172
4.63. Troloks konsantrasyona karşı absorbans değerleri (734 nm). 176
4.64. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (734 nm). 176
4.65. RD-1 petal ekstreleri ABTS radikal süpürücü kapasiteleri. 176
4.66. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin ABTS radikal süpürücü kapasiteleri. 177
4.67. RD-1 petal ekstrelerinin NO radikalini süpürücü kapasiteleri. 178
4.68. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin NO radikal süpürücü kapasiteleri. 179
4.69. Askorbik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (546 nm). 183
4.70. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (546 nm). 183
4.71. RD-1 petal ekstreleri NO radikal süpürücü kapasiteleri. 183

4.72. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin NO radikal süpürücü kapasiteleri. 184
4.73. RD-1 *n*-hekzan ekstresinin SPF değerleri. 185
4.74. RD-1 diklorometan ekstresinin SPF değerleri. 185
4.75. RD-1 etilasetat ekstresinin SPF değerleri. 186
4.76. RD-1 etanol ekstresinin SPF değerleri. 186
4.77. RD-1 % 70 etanol ekstresinin SPF değerleri. 187
4.78. RD-1 *n*-butanol ekstresinin SPF değerleri. 187
4.79. RD-2 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri. 188
4.80. RD-3 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri. 189
4.81. RD-4 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri. 189
4.82. RD-5 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri. 190
4.83. RD-6 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri. 190
4.84. RD-7 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri. 191
4.85. RD-8 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri. 191
4.86. RD-9 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri. 192
4.87. RD-10 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri. 192
5.1. Mikrodistilasyon ve hidrodistilasyon ile elde edilen ve gül sularında SPME ile adsorblanan uçucu bileşik miktarlarının karşılaştırılması. 200
5.2. Fitzpatrick fototipleri ve tavsiye edilen SPF değerleri. 209

1. GİRİŞ

Bitkilerden elde edilen droglar antik çağlardan bu yana çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Modern tıpta gözlenen büyük ilerlemelere rağmen tıbbi bitkiler önemini hiç yitirmeyip hala sağlık hizmetine önemli katkılar sunmaya devam etmektedir (1). Son yıllarda toplumların her geçen gün doğal tedavi seçeneklerine daha fazla yönelmesi ise bunun en büyük kanıtıdır.

Çeşitli sağlık problemlerinde tedavi edici olarak kullanılan *Rosa damascena* Mill. (Rosaceae) çiçeklerinden hazırlanan dekoksiyonlardan, İran, Fas, Suriye, Kuzey Afrika, Yakın Doğu ülkeleri ve Kuzey Amerika'da geleneksel olarak âdet kanamaları (2), karın ağrısı (3) uykusuzluk (4), kabızlık, genel halsizlik, soğuk algınlığı, öksürük, grip (5), sindirim sistemi, boşaltım sistemi, sinir sistemi, solunum sistemi rahatsızlıkları ve deri hastalıklarının tedavisinde (6) yararlanılmaktadır. Türkiye'de folklorik tedavide kullanılışına rastlanılmamıştır. EMA'da (European Medicine Agency) oral ve farengeal mukozadaki hafif iltihaplar ile hafif cilt iltihapları üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir (7). *R. damascena* üzerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* deneyler sonucunda, cilt yaşlanması üzerinde (8), antienflamatuvar ve sitoprotektif (9), antimikrobiyal (10), anti-HIV (11), antiparazitik (12), antiproliferatif ve sitotoksik (13), antikolinesteraz (14), antioksidan ve radikal süpürücü (15), güneşten koruyucu (16), kardiyovasküler (17), pankreatik lipaz inhibitör (18), antidiyabetik (8), antikonvülzan ve nöroprotektif (19), antiparaziter (20), hafıza performans artıcı (21), hepatoprotektif (22), hipnotik (23), laksatif (24), nefroprotektif (25), gevşetici ve antidepresan (26), intraabdonimal adezyon üzerinde inhibitör (27) etkileri tespit edilmiştir.

Klinik çalışmalarla aftöz stomatit (28), dismenore (29), postoperatif ağrı (30) ile yanıklı hastalarda pansuman sonrası oluşan ağrı (31) üzerine etkileri kanıtlanmıştır.

Son yıllarda Avrupa ve diğer bazı ülkelerde *R. damascena* petallerinden elde edilen ekstrelerden hazırlanan ürünlere ve gül çayına ilgi artmıştır. İlginin artması, üreticilerin ürünlerinin belirli spesifikasyonlara sahip olması gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle, EDQM (European Directory Quality of Medicine) 13/B uzmanlar grubu "Rosae flos" ekstre monografının hazırlanması ve Avrupa Farmakopesinde yer almasına karar vermiştir. Türk Farmakopesi çalışmaları kapsamında da "*Rosa damascena* petale" nin yer alması kararlaştırılmıştır.

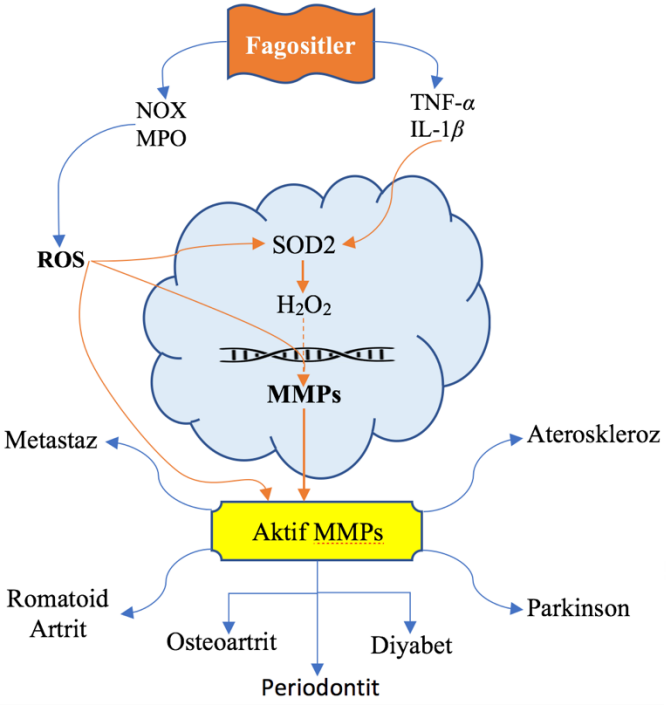
Spesifikasyonların belirlenmesinde, ince tabaka kromatografisi (İTK), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (HPTLC), kütle spektrometri (MS), kızılötesi spektroskopisi, ultraviyole / görünür spektrofotometri vb. yöntemler tek başına veya kombine halde, hem hammadde hem de bitmiş ürün için başarıyla uygulanmaktadır (1).

Öte yandan *R. damascena* çiçeklerinden elde edilen Rosae oleum (gül yağı) ve Rosae aqua (gül suyu) kozmetik sektöründe cilt yaşlanmasını geciktirici olarak çok tercih edilen ürünlerdendir (32,33).

Cilt yaşlanması, 2 şekilde oluşmaktadır, bunlardan biri yaşlanmaya bağlı olarak gelişen kronolojik cilt yaşlanması, diğeri ise ultraviyole (UV) ışınlarının ya da çevrenin etkisi ile oluşan fotoyaşlanma veya premature yaşlanmadır (34). Cilt yaşlanmasında matriks metalloproteinaz enzimleri (MMP-1, 8 ve 13) kollajen ve elastini yıkmak suretiyle, ciltteki kollajenin azalmasına neden olmakta ve bunun sonucu olarak cildin gerginliği, sıkılığı, canlılığı, pürüzsüzlüğü dolayısı ile genç görünümü azalmaktadır (35).

Matriks metalloproteinazlar (MMPs); kollajenazlar, stromelisinler, jelatinazlar, membran tip MMP'ler ve henüz gruplandırılmamış MMP'ler olmak üzere toplam 26 üyesi bulunan bir enzim ailesidir. Kollajenazlar; fibriler kollajenlerin yıkımından sorumlu olan gruptur. Jelatinazlar denatüre kollajen ile bazal membranın yıkımından sorumludurlar. Bu grupta yer alan enzimler periferal sinir, endotelyal, epitelyal, kas ve yağ hücrelerinin ekstraselüler matriksinin (ECM) yıkımından sorumludurlar. Stromelisinler ise tüm ekstraselüler matriksi yıkıma uğratabilmektedirler. Buna ilaveten stromelisin-1 (MMP-3) enziminin birçok kollajenazı yıkıma uğrattığı bilinmektedir (36).

Metastaz dahil romatoit artrit, osteoartrit, periodontit, diyabet, aterosklerozis ve Parkinson gibi bazı hastalıkların patogenezinde ve cilt yaşlanmasında rol alan matriks metalloproteinazlar reaktif oksijen türleri (ROS) ile aktifleşirler (Şekil 1.1.) (37).



Şekil 1.1. ROS, SOD2, MMP ve hastalıkların ilişkisi.

Osteoartrit, sinovyal enflamasyon ile kıkırdak ve subkondral kemiğin aktif yıkım ve tamirinin görüldüğü kronik bir eklem bozukluğudur. Proteinazlar ve proenflamatuvar sitokinler kıkırdak bozulmasına yol açabilmektedir (38).

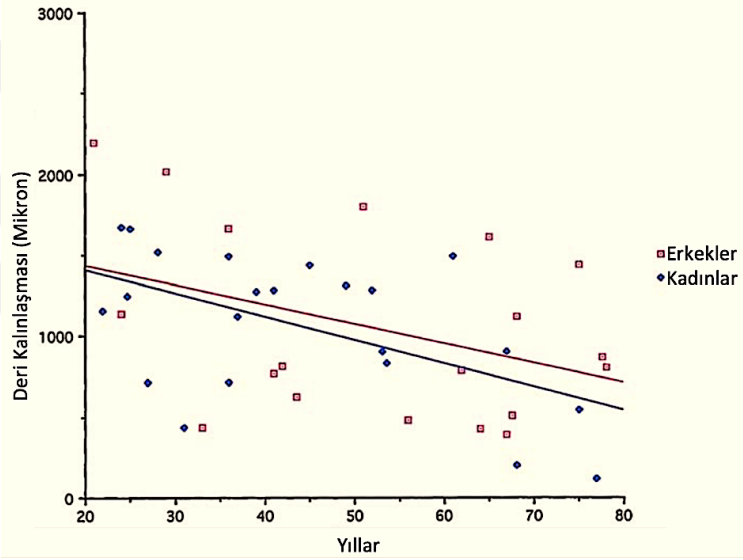
Osteoartritte, kollajenaz-1 (MMP-1), kollajenaz-2 (MMP-8) ve kollajenaz-3 (MMP-13), tip II ve tip X kıkırdağı parçalayan enzimlerdir. Bu enzimler IL-1 ve diğer kondrosit kaynaklı sitokinler tarafından aktive edilmektedir. Stromelisin-1 (MMP-3) en fazla sinovyal hücrelerde bulunmaktadır, kıkırdak bozulması ile ilişkili enzimlerdir, kollajenazı aktive eder ve kollajen ürünleri ve tip IX kollajeni parçalar. Jelatinaz A (MMP-2 ve MMP-9) ise tip I kıkırdağı parçalar (39,40).

Normal eklem kıkırdağı (tip II ve tip X), kollajen ve proteoglikanları içeren ekstraselüler matriksten oluşmaktadır. Eklem kıkırdağının major yapısal bileşenlerinden olan proteoglikanlardan agrekan, çok sayıda kondroitin sülfat ve keratan sülfat glikozaminoglikan zincirlerinin bağlandığı merkezi bir proteindir ve hiyaluronik asite bağlanırlar. Kıkırdağa elastikiyet ve sıkılaşma gibi fonksiyonel özelliklerini kazandırırlar. Kondrositler, osteoartritik sürecin en önemli hücreleridir; kıkırdak matriksin üretimi, devamı ve yıkımından sorumludurlar. Hastaların çoğunda normal eklem kıkırdağının fiziksel kuvvetlerle hasarı söz konusudur. Makrotravma

veya tekrarlayan mikrotravmalarla eklem kıkırdağı zarar görür, kondrositler bu hasara parçalayıcı enzimlerini salarak ve yetersiz tamir cevabı ortaya çıkararak reaksiyon verirler (41).

Yaşlanan kıkırdak, glikozaminoglikanların kısalması, dolayısı ile kollajen ağında bozulma ile karakterizedir. Sonuç olarak yaşlanan kıkırdak daha az su içerir, bu onun biyomekanik özelliklerini değiştirir, kondrosit sayısı düşer ve ECM bileşenlerinin sentezinde niceliksel ve niteliksel azalma görülür (42).

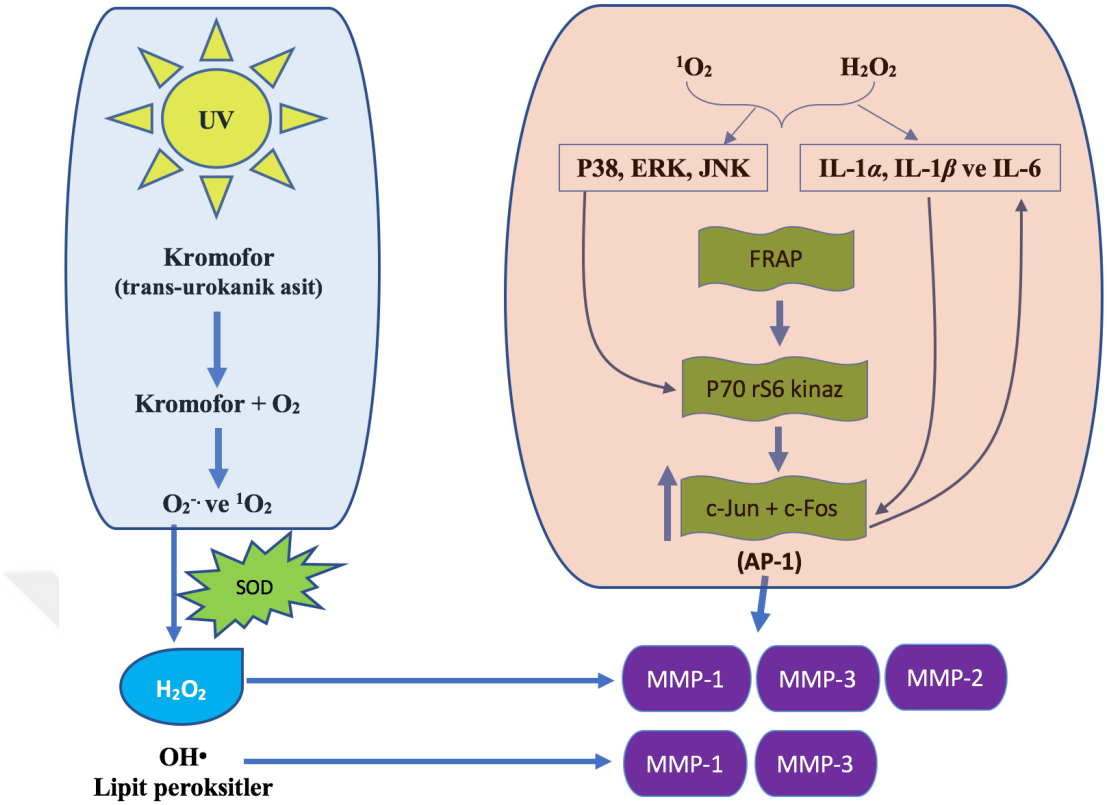
Genç bir ciltte % 80 oranında kollajen tip I ve % 15 oranında kollajen tip III bulunmaktadır ve yarı ömrü 15 yıldır. Yani 30 yaşından sonra cilt yaşlanması başlamaktadır (Şekil 1.1.) (43).



Şekil 1.2. Yıllara göre deri kalınlaşması grafiği

Eklem kıkırdağındaki kollajenin (tip II) yarı ömrü ise 117 yıldır. Eklemlerin yanlış kullanılması sonucu kıkırdak ömrü azalmaktadır (43).

İnsan cildi, kendi metabolizmamızın reaktif oksijen türlerinin (ROS) yanı sıra serbest radikallerin oluşumunu sağlayabilen havaya, güneş radyasyonuna, çevre kirleticilerine veya diğer mekanik ve kimyasal saldırılara karşı doğrudan ve sürekli olarak maruz kalmaktadırlar. Ekstrinsik cilt hasarı, iyonize radyasyon, şiddetli fiziksel ve psikolojik stres, alkol tüketimi, yetersiz beslenme, aşırı yeme, çevre kirliliği ve UV radyasyonuna (UVR) maruz kalma gibi birçok faktöre bağlı olarak gelişmektedir. Bu çevresel faktörlerin % 80'ini oluşturduğu tahmin edilmektedir (44). UV radyasyonla MMP salınımını indükleme modeli aşağıdaki şemada verilmiştir (Şekil 1.3.).



Şekil 1.3. UV radyasyonla MMP salınımını indükleme modeli.

Güneş radyasyonunun zararlı etkilerine çoğunlukla üç bölgeye ayrılan elektromanyetik spektrumun UV bölgesi neden olmaktadır. UV-A, 320-400 nm; UV-B, 290-320 nm ve UV-C, 200-290 nm arasındadır. UV-C radyasyonu, yeryüzüne ulaşmadan atmosfer tarafından filtre edilir. UV-B radyasyonu, ozon tabakası tarafından tamamen filtrelenemediği için güneş yanıklarına neden olur. UV-A radyasyonu epidermisin ve cildin alt tabakalarına ulaşarak cildin erken yaşlanmasına sebebiyet verir. Ultraviyole ışınları aynı zamanda deri kanserinin etkin bir faktörü olarak bilinmektedir (45). UV-A ve UV-B radyasyonu tip 1 ve tip 3 prokollajen gen ekspresyonunu azaltarak MMP enzimlerinin (kollajenazlar) artışına neden olmaktadır (46).

Bu tezde çalışmalarımız, botanik, fitokimyasal, analitik ve biyolojik aktivite başlıkları altında toplanmıştır.

Halk tarafından kullanılan tıbbi bitkilerin güvenli olarak tüketilebilmesi açısından teşhislerinin kesin ve doğru yapılması gerekmektedir. Morfolojik özellikler yanında anatomik özellikler, bitkilerin teşhisi ve taksonomisi için vazgeçilmez olup Avrupa Farmakopesi de dahil olmak üzere pek çok Farmakope'de tıbbi bitkilerin

anatomik özelliklerine yer verilmektedir. Tez çalışmasında *Rosa damascena* bitkisinin petal morfolojisi ve anatomisinin araştırılması ve ayırıcı karakterlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Farmakope standartlarını belirleme çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen analitik çalışmalarda yararlanılmak üzere işaretleyici bileşiklerin kromatografik yöntemler kullanılarak izole edilmesi amaçlanmıştır.

Farklı bölgelerde yetiştirilen *R. damascena* petallerinden hazırlanan ekstrelerin kimyasal profilinin İTK, HPTLC ve HPLC; uçucu yağın ve gül suyunun kimyasal profillerinin de GC ve GC/MS ile belirlenmesi ve karşılaştırmalı olarak verilmesi hedeflenmiştir.

Bu bağlamda, Avrupa Farmakopesinde ve Türk Farmakopesinde yer alacak Rosae flos monografı için kaliteli drog ya da ürün spesifikasyonlarının, Türkiye, İran ve Pakistan'dan temin edilen toplam 10 örnek üzerinde İTK, HPTLC ve HPLC için metot geliştirilmesi ve HPLC metot validasyonu amaçlanmıştır.

Farklı lokasyonların içeriğe olan etkilerinin belirlenmesi amacıyla Türkiye, İran ve Pakistan kaynaklı 10 gül numunesinin flavonoit profillerinin HPLC kromatogramlarının karşılaştırmalı olarak verilmesi amaçlanmıştır.

Analitik çalışmalarımızın devamında, Türkiye ve İran güllerine ait bitki petallerinin uçucu yağlarının hidrodistilasyon ile elde edilmesi, uçucu yağların ve yağ altı sularının uçucu bileşenlerinin GC ve GC-MS ile profillerinin belirlenmesi ve sonuçlarının karşılaştırmalı olarak tartışılması amaçlanmıştır.

Biyolojik aktivite çalışmaları kapsamında *R. damascena* numunelerinden elde edilen ekstre, gül yağı, gül suyu ve posa suyunun kollajenazlar grubundan MMP-1, MMP-8, MMP-13 enzimleri, jelatinazlar grubundan MMP-2 ve MMP-9 ile stromelisinler grubundan MMP-3 enzimleri üzerindeki inhibe edici etkilerinin çalışılması planlanmıştır. Aynı numunelerin, matriks metalloproteinaz enzimlerinin artışına neden olan serbest radikaller üzerindeki süpürücü etkilerinin ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Cildin UV ışınlarından korunmasında güneşten koruyucu faktör (SPF) içeren ürünlerin önemi nedeniyle numunelerin böyle bir etkiye sahip olup olmadığının tespiti planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Rosaceae Familyası

Rosaceae, 91 cins ve 2950 tür içeren çiçekli bir bitki familyasıdır (47). Dryadoideae, Rosoideae ve Amygdaloideae olmak üzere üç alt familyaya ayrılmıştır (48).

2.1.2. *Rosa* L. Cinsinin Taksonomideki Yeri

Kuzey yarımkürenin ılıman ve subtropikal bölgelerinde yaygın olarak bulunan *Rosa* L. cinsi Dünya genelinde 150-200 türle temsil edilmektedir *Rosa* cinsi Rosaceae familyası ve Rosoideae alt familyasında yer almaktadır (Tablo 2.1.) (49,48)

Tablo 2.1. *Rosa* L. cinsinin sınıflandırılması.

Alem **:** Plantae
Şube **:** Tracheophyta
Bölüm **:** Spermatophyta
Alt Bölüm **:** Angiospermae
Sınıf **:** Magnoliopsida
Üst takım **:** Rosanae
Takım **:** Rosales
Familya **:** Rosaceae
Alt familya **:** Rosoideae
Cins **:** *Rosa* L.

2.1.3. Türkiye Florasındaki *Rosa* L. Taksonları

Rosa cinsi ülkemizde doğal olarak yetişen toplam 24 türle (27 takson) temsil edilmektedir (Tablo 2.2.). Tez çalışmasının gerçekleştirildiği *Rosa damascena* Mill. bitkisi *R. gallica* L.ve *R. phoenicia* Boiss. türlerinin doğal bir hibriti olup, başta Isparta olmak üzere, Burdur, Afyon, Denizli, Konya ve Antalya'nın bir bölümünü içine alan Göller Yöresinde kültüre alınmaktadır (50,51).

Tablo 2.2. Türkiye'de doğal olarak yetişen *Rosa* taksonları:

1.	*R. sempervirens* L.
2.	*R. phoenicia* Boiss.
3.	*R. arvensis* Huds.
4.	*R. pisifornis* (Christ) D. Sosn.
5.	*R. beggeriana* Schrenk
6.	*R. foetida* J. Herrm.
7.	*R. hemisphaerica* J. Herrm.
8.	*R. pimpinellifolia* L.
9.	*R. elymaitica* Boiss. & Hausskn.
10.	*R. gallica* L.
11.	*R. villosa* L. subsp. *villosa* L.
12.	*R. villosa* L. subsp. *mollis* (Sm.) Keller & Gams
13.	*R. hirtissima* Lonacz.
14.	*R. tomentosa* Smith
15.	*R. jundzillii* Besser
16.	*R. micrantha* Sm.
17.	*R. agrestis* Savi
18.	*R. pulverulenta* Bieb.
19.	*R. sicula* Tratt.
20.	*R. horrida* Fischer
21.	*R. iberica* Stev
22.	*R. montana* Chaix subsp. *woronowii* (Lonacz.) Ö. Nilsson
23.	*R. canina* L.
24.	*R. dumalis* Bechst. subsp. *boissieri* (Crepin) Ö. Nilsson var. *boissieri* (Crepin) Ö. Nilsson
25.	*R. dumalis* Bechst. subsp. *boissieri* (Crepin) Ö. Nilsson var. *antalyensis* (Manden.) Ö. Nilsson
26.	*R. heckeliana* Tratt. subsp. *vanheurckiana* (Crepin) Ö. Nilsson
27.	*R. heckeliana* Tratt. subsp. *orientalis* (Dupont) Meikle

2.1.4. *Rosa damascena* Mill.

Vatanı İran olan *Rosa damascena*'nın, doğal yayılış alanı Kuzey Yarımküre olup, Türkiye ve Bulgaristan başta olmak üzere, Fransa, Lübnan, Hindistan, Rusya, Çin, Fas, Meksika, İtalya ve diğer Avrupa ülkelerinde kültürü yapılır (52,53). *R. damascena; R. gallica* L. ve *R. phoenicia* Boiss. bitkilerinin hibritleşmesi ile oluşan çok dikenli, az katmerli ve pembe çiçekli bir bitkidir (54).

Bitkinin deskripsiyonu şu şekildedir: 1-2 metre yüksekliğe kadar ulaşan, geniş, gösterişli ve renkli çiçekli çok yıllık çalılar; yapraklar bileşik, 5-7 yaprakçıklı, imparipennat; çiçek durumu birkaç çiçekten oluşmuş korimbus; çiçekler pediselli, pembemsi-sarı, sepaller, petaller ve stamenler tabanda reseptakulum ile pedisele bağlı;

pedisel 0.6-3.5 cm boyunda, açık yeşil, ince, çok sayıda diken ve tüy ile kaplı; reseptakulum 1.0-1.8 cm uzunluğunda, çok sayıda diken ve tüyle kaplı; sepaller 5, 1.3-2.4 cm uzunluğunda, eşit değil, yaprak benzeri, üst kısım krem-yeşil ve alt kısım sarımsı-yeşil renkte, salgı tüylü; petaller çok sayıda, pembemsi sarı, 1.5-4.2 cm uzunluğunda, hafif obovattan sub-kordata; stamenler çok sayıda, serbest, eşit değil, dorsifiks bağlı, koyu kahverengi, filament 0.3-0.5 mm uzunluğunda, karpeller çok sayıda, serbest, ovaryum alt durumlu; stilus lateral, tüylü, serbest; stigma terminaldir. Haziran ve Temmuz aylarında çiçeklenir (4,54–56).

2.2. *Rosa damascena* Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

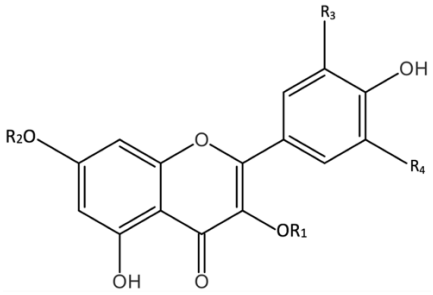
2.2.1. Fenolik Bileşikler

Flavonoitler

Flavonol aglikonları

Rosa damascena bitkisinden izole edilen flavonol aglikonları Tablo 2.3.'te verilmiştir.

Tablo 2.3. *Rosa damascena*'dan izole edilen flavonol aglikonları

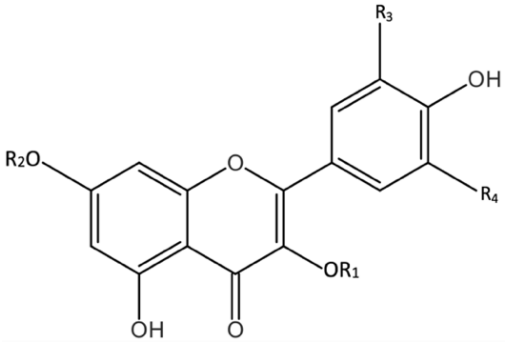


Bileşik	R1	R2	R3	R4	Kaynak
Kemferol	H	H	H	H	(57)
Kersetin	H	H	OH	H	(57)
Mirsetin	H	H	OH	OH	(58)

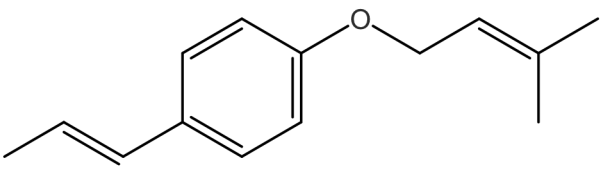
Flavonol glikozitleri

Rosa damascena bitkisinden izole edilen flavonol glikozitleri Tablo 2.4.'te verilmiştir.

Tablo 2.4. *Rosa damascena*'dan izole edilen flavonol glikozitleri



Bileşik	R1	R2	R3	R4	Kaynak
Afzelin	Ram	H	H	H	(59)
Astragalin	Glu	H	H	H	(60)
Trifolin	Gal.	H	H	H	(61)
Juglanin	Arb	H	H	H	(59)
Kemferol-3-*O*-(6-*O*-trans-*p*-kumaroil)-*β*-D-glukopiranozit	Glu-kumaroil	H	H	H	(57)
Roksilozit	Ksi-Glu	H	H	H	(17)
Kemferol-3-*O*-galaktozil-arabinozit	Arb-Gal	H	H	H	(62)
Kempferol-3-*O*-glukozil-arabinozit	Arb-Glu	H	H	H	(62)
Kempferol-3-*O*-ramnozil-galaktozit	Gal-Ram	H	H	H	(62)
Kemferol-3-*O*-ramnozil-glukozit	Glu-Ram	H	H	H	(62)
Kempferol-3-*O*-rutinozil-7-*O*-arabinozit	Arb-Rut	H	H	H	(62)
Tribulozit	Glu-Kumaroil	H	H	H	(61)
Populnin	H	Glu	H	H	(57)
Kersitrin	Ram	H	OH	H	(58)
İzokersitrin	Glu	H	OH	H	(62)
Kersetin 3-*O*-arabinozit	Arb	H	OH	H	(60)
Kersetin-3-*O*-*β*-D-glukozil-galaktozit	Gal-Glu	H	OH	H	(62)
Kersetin 3-*O*-galaktozit	Gal	H	OH	H	(63)
Kersetin 3-*O*-glukozit	Glu	H	OH	H	(63)
Kersetin 3-*O*-rutinozit	Rut	H	OH	H	(63)
Kersetin gentiobiyozit	Gen	H	OH	H	(17)
Kersetin 3-*O*-ramnozit	Ram	H	OH	H	(63)
Kemferol 3-*O*-*β*-D-ksilopiranozit	Ksi	H	OH	H	(63)
Kersimeritrin	H	Glu	OH	H	(57)
Rutin	Rut	H	OH	H	(58)

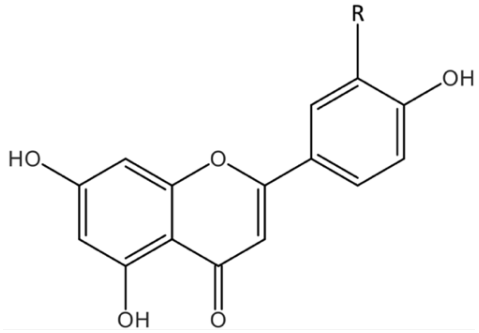


Foenikulin (62)

Flavon aglikonlar

Rosa damascena bitkisinden izole edilen flavon aglikonları Tablo 2.5.'de verilmiştir.

Tablo 2.5. *Rosa damascena*'dan izole edilen flavon aglikonlar.

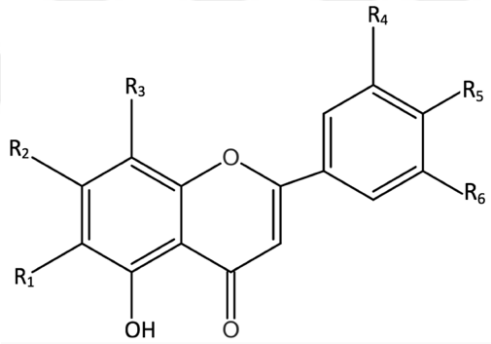


Bileşik	R	Kaynak
Apigenin	H	(58)
Luteolin	OH	(64)

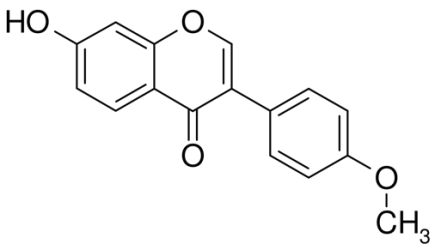
İzoflavonoitler

Rosa damascena bitkisinden izole edilen izoflavonoitler Tablo 2.6.'da verilmiştir.

Tablo 2.6. *Rosa damascena*'dan izole edilen izoflavonoitler.



Bileşik	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Kaynak
5,6,4′-Trihidroksi-7,8-dimetoksi flavon	OH	OCH_3	OCH_3	H	OH	H	(65)
5,3′-Dihidroksi-7,8-dimetoksi flavon	H	OCH_3	OCH_3	OH	H	H	(65)
5-Hidroksi-6,7,8,3′,4′-pentametoksi flavon	OCH3	OCH_3	OCH_3	H	OCH_3	OCH_3	(65)

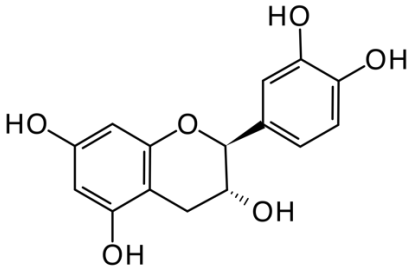


Formononetin (65)

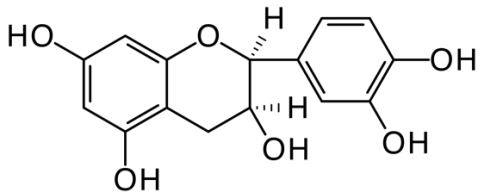
Flavan 3-ol'ler

Rosa damascena bitkisinden izole edilen flavan 3-ol'ler Tablo 2.7.'de verilmiştir.

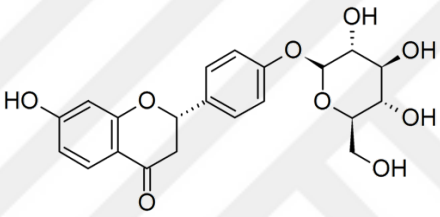
Tablo 2.7. *Rosa damascena*'dan izole edilen flavan 3-ol'ler.



Kateşin (58)



Epikateşin (58)

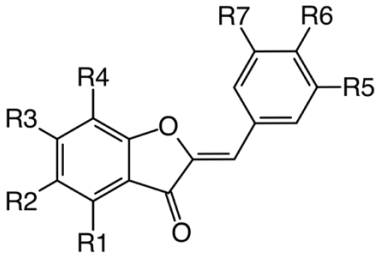


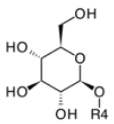
Likiritin (60)

Auronlar

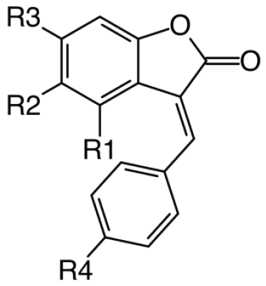
Rosa damascena bitkisinden izole edilen auronlar Tablo 2.8.'de verilmiştir.

Tablo 2.8. *Rosa damascena*'dan izole edilen auronlar.

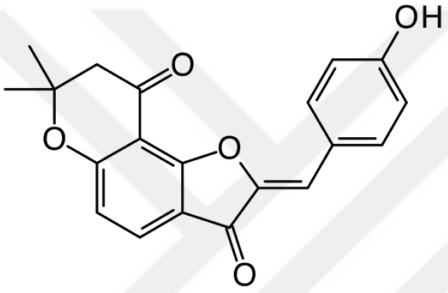


Bileşik	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Kaynak
Maritimein	H	H	OGlu	OH	OH	OH	H	(66)
6,7,3′,4′ Tetrahidroksiauron	H	H	OH	OH	OH	OH	H	(66)
rugauron B	OH	H	OCH3	H	H	OH	H	(67)
(*E*)-3′-*O*-*β*-D-Glukopiranozil-4,5,6,4'-tetrahidroksi-7,2′-dimetoksiauron	OH	OH	OH	OCH3	OH	OGlu	OCH3	(67)
Sernuozit	H	OH	H		OH	OH	H	(66)

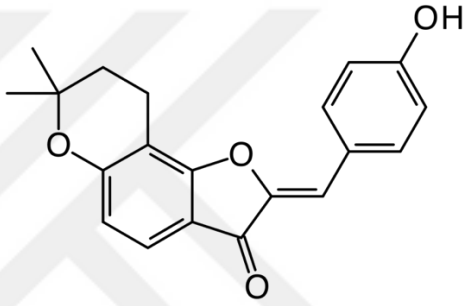
Tablo 2.8. (devam) *Rosa damascena*'dan izole edilen auronlar.



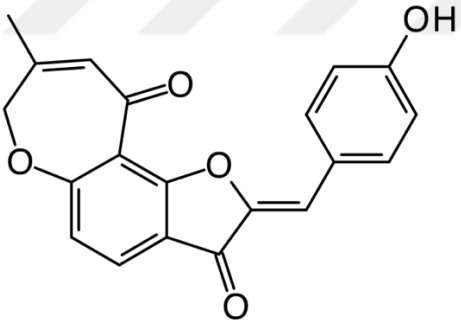
Bileşik	R1	R2	R3	R4	Kaynak
Damauron B	H	OH	OH	OGlu	(66)
4′,6-dihidroksi-4-metoksiizoauron	OCH3	H	OH	OH	(66)
siamauron A	OCH3	H	OGLU	OH	(67)



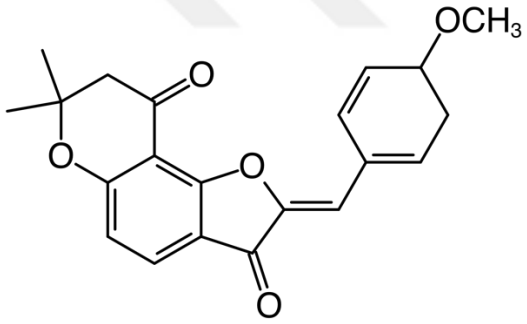
Damauron C (67)



Damauron D (67)



Damauron E (67)

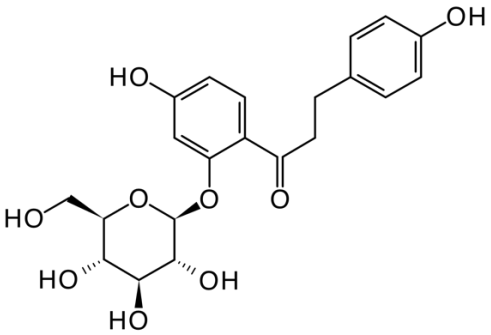


(*Z*)-2-(4-metoksibenziliden)-7,7-dimetil-7,8-dihidro-2*H*-furo[2,3-f]kromen-3,9-dion (13)

Kalkonlar

Rosa damascena bitkisinden izole edilen kalkonlar Tablo 2.9.'da verilmiştir.

Tablo 2.9. *Rosa damascena*'dan izole edilen kalkonlar.

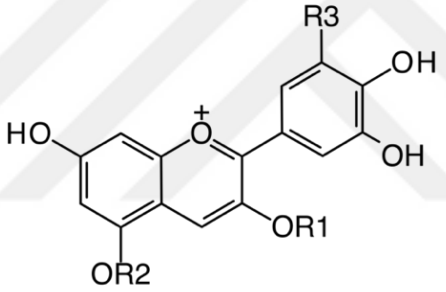


Davidiozit (60)

Antosiyaninler

Rosa damascena bitkisinden izole edilen antosiyaninler Tablo 2.10.'da verilmiştir.

Tablo 2.10. *Rosa damascena*'dan izole edilen antosiyaninler.

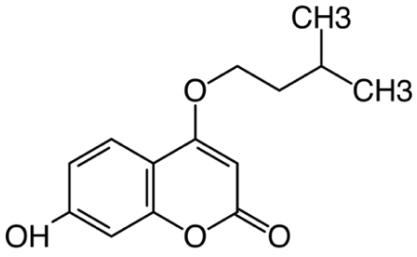


Bileşik	R1	R2	R3	Kaynak
Delfinidin	H	H	OH	(65)
Siyanidin-3-*O*-*β*-glukozit	Glu	OH	H	(17)
Siyanidin-3,5-di-*O*-*β*-D-glukozit	Glu	Glu	OH	(62)

2.2.2. Kumarinler

Rosa damascena bitkisinden izole edilen kumarinler Tablo 2.11.'de verilmiştir.

Tablo 2.11. *Rosa damascena*'dan izole edilen kumarinler.



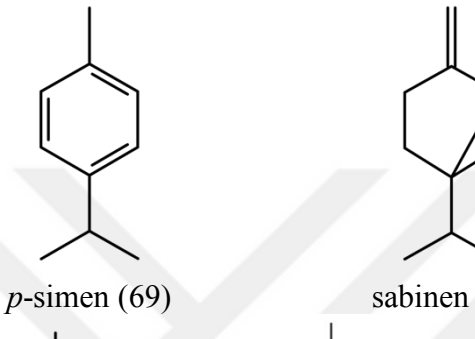
rozakumarin (68)

2.2.3. Terpenik ve Uçucu Bileşikler

Siklik Monoterpenler

Rosa damascena bitkisinden izole edilen monoterpenler Tablo 2.12. ve Tablo 2.13.'te verilmiştir.

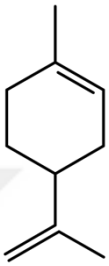
Tablo 2.12. *Rosa damascena*'dan izole edilen siklik monoterpenler.



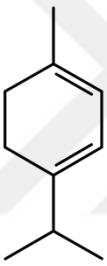
p-simen (69)



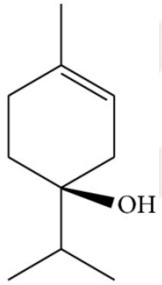
sabinen (69)



limonen (69)



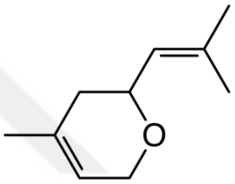
terpinen (69)



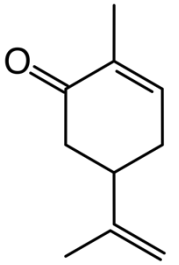
terpinen-4-ol (70)



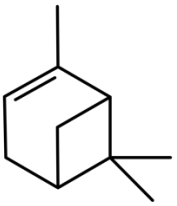
terpinolen (69)



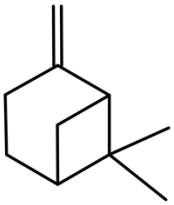
nerol oksit (69)



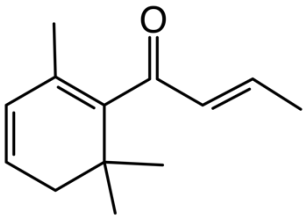
karvon (71)



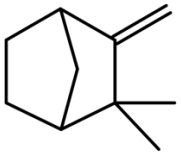
α-pinen (72)



β-pinen (72)



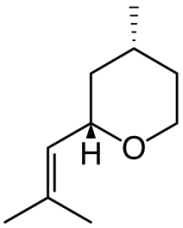
β-damaskenon (73)



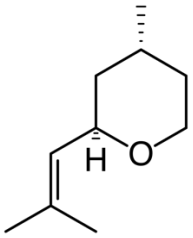
kamfen (74)



1,8-sineol (69)

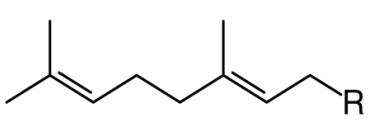


cis-rozoksit (72)

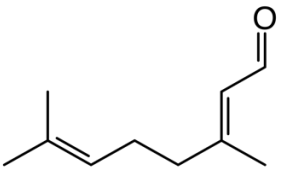


trans-rozoksit (70)

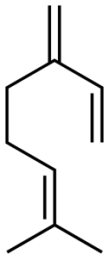
Tablo 2.13. *Rosa damascena*'dan izole edilen asiklik monoterpenler.



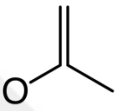
R: OH
geraniol (59)



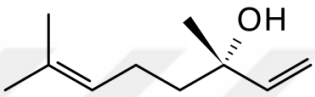
geranial (69)



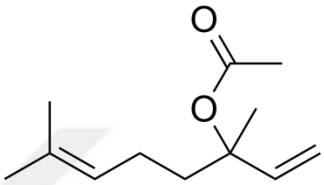
mirsen (59)



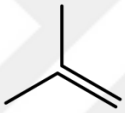
R:
geranil asetat (59)



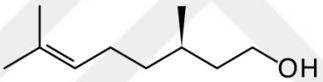
linalol (69)



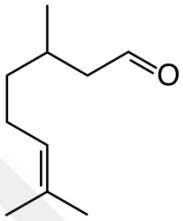
linalil asetat (59)



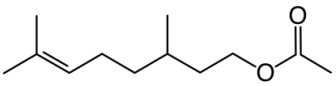
R:
geranil aseton (75)



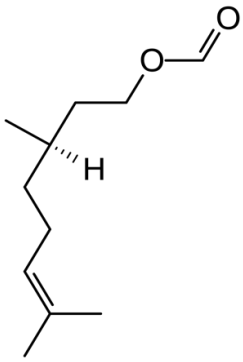
sitronellol (76)



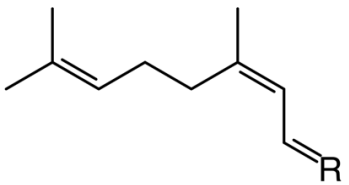
sitronellal (76)



sitronellil asetat (72)



sitronellil format (76)

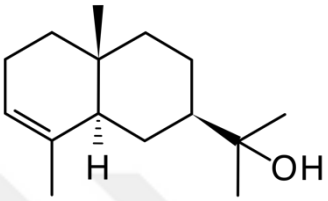


neral **R:** O (76)
nerol **R:** OH (59)

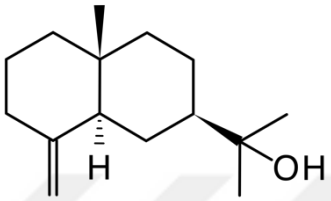
Seskiterpenler

Rosa damascena bitkisinden izole edilen seskiterpenler Tablo 2.14.'de verilmiştir.

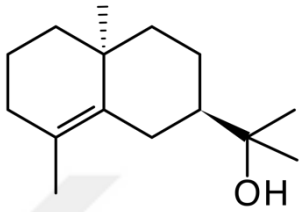
Tablo 2.14. *Rosa damascena*'dan izole edilen seskiterpenler.



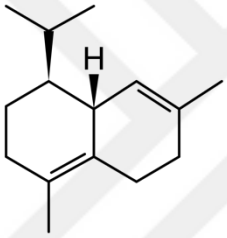
α-ödesmol (69)



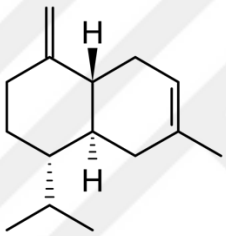
β-ödesmol (77)



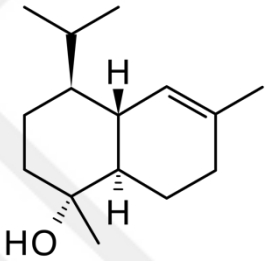
10-epi-γ-ödesmol (78)



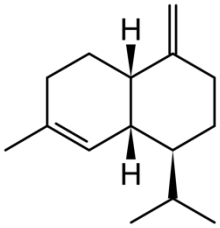
δ-kadinen (72)



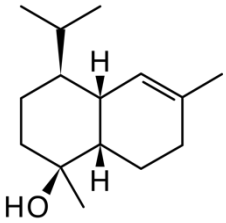
γ-kadinen (70)



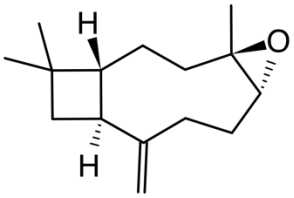
α-kadinol (69)



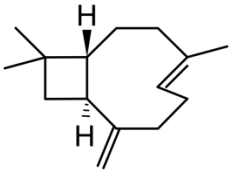
γ-murolen (70)



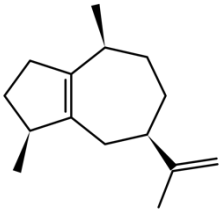
t-murolol (79)



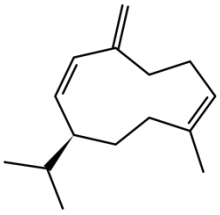
Karyofillen oksit (69)



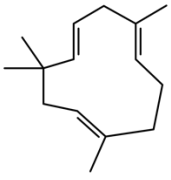
β-karyofillen (69)



α-guayen (69)



Germakren D (69)

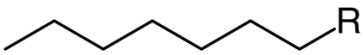


α-humulen (69)

Hidrokarbonlar

Rosa damascena bitkisinden izole edilen hidrokarbonlar Tablo 2.15.'de verilmiştir.

Tablo 2.15. *Rosa damascena*'dan izole edilen hidrokarbonlar.

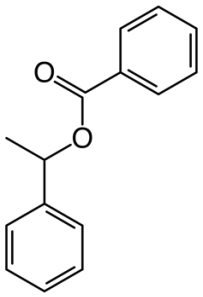


Bileşik	R	Kaynak
1-heptanol	OH	(69)
hekzadekan	C_9H_{20}	(72)
1-heptadeken	$C_{10}H_{20}$	(69)
heptadekan	$C_{10}H_{22}$	(59)
1-oktadeken	$C_{11}H_{22}$	(76)
oktadekan	$C_{11}H_{24}$	(59)
1-nonadeken	$C_{12}H_{24}$	(76)
nonadekan	$C_{12}H_{26}$	(59)
(*E*)-9-eikosen	$C_{13}H_{26}$	(69)
eikosan	$C_{13}H_{28}$	(59)
1-heneikosen	$C_{14}H_{28}$	(69)
heneikosan	$C_{14}H_{30}$	(76)
dokosan	$C_{15}H_{32}$	(76)
trikosan	$C_{16}H_{34}$	(59)
tetrakosan	$C_{17}H_{36}$	(69)
pentakosan	$C_{18}H_{38}$	(59)
heptakosan	$C_{20}H_{42}$	(59)
hekzatriakontan	$C_{29}H_{60}$	(59)
nonanal	C_2H_4O	(69)
undekanal	C_4H_8O	(76)
1-undekanol	$C_4H_{10}O$	(76)
dodekanoik asit	$C_5H_{10}O_2$	(70)
tetradekanoik asit	$C_7H_{14}O_2$	(80)
hekzadekanoik asit	$C_9H_{18}O_2$	(80)

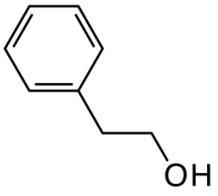
Benzenoitler

Rosa damascena bitkisinden izole edilen benzenoitler Tablo 2.16.'da verilmiştir.

Tablo 2.16. *Rosa damascena*'dan izole edilen benzenoitler.



fenil etil benzoat (80)

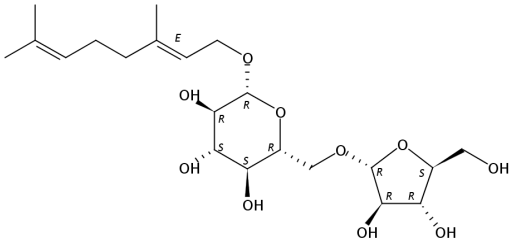


fenil etil alkol (59)

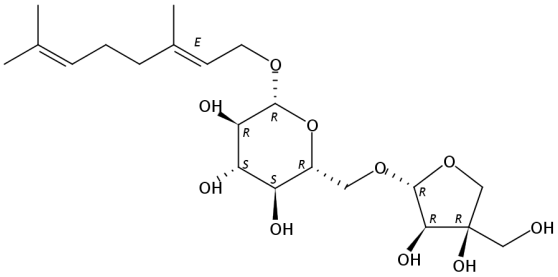
Diterpenik Bileşikler

Rosa damascena bitkisinden izole edilen diterpenik bileşikler Tablo 2.17'de verilmiştir.

Tablo 2.17. *Rosa damascena*'dan izole edilen diterpenik bileşikler.



geranil-6-*O*-*α*-L-arabinofuranozil-*β*-D-glukopiranozit (81)

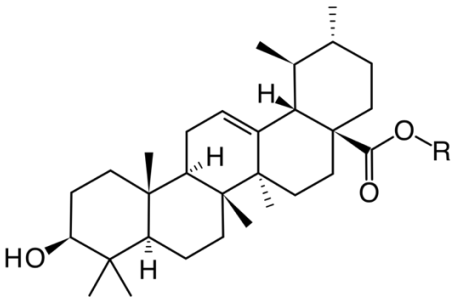


geranil-6-*O*-*β*-L-arabinofuranozil-*β*-D-glukopiranozit (81)

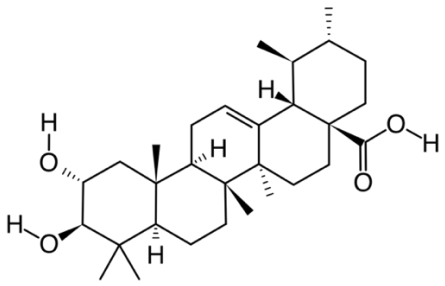
Triterpenik bileşikler

Rosa damascena bitkisinden izole edilen triterpenik bileşikler Tablo 2.18.'de verilmiştir.

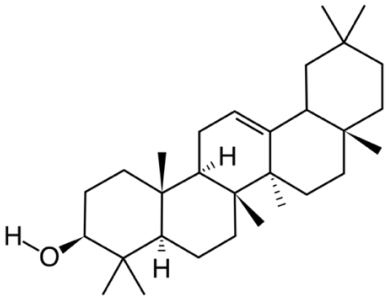
Tablo 2.18. *Rosa damascena*'dan izole edilen triterpenik bileşikler.



R: H ursolik asit (82)
R:CH3 ursolik asit metil ester (83)



2-hidroksi ursolik asit (83)

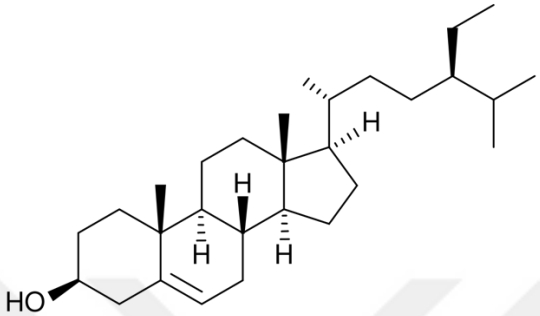


β-amirin (83)

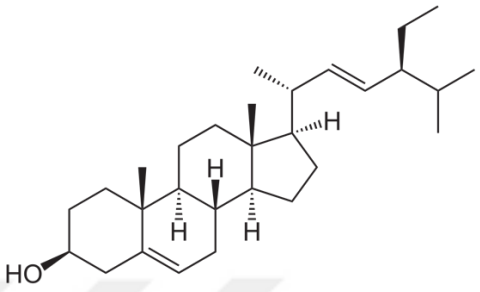
Steroidal Bileşikler

Rosa damascena bitkisinden izole edilen steroidal bileşikler Tablo 2.19'da verilmiştir.

Tablo 2.19. *Rosa damascena*'dan izole edilen steroidal bileşikler.



β-sitosterol (82)

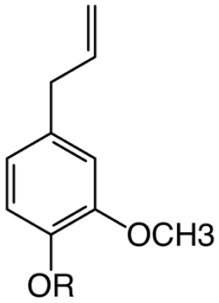


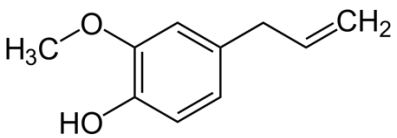
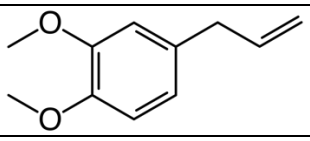
Stigmasterol (82)

2.2.4. Fenil propanoitler

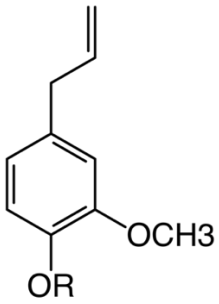
Rosa damascena bitkisinden izole edilen fenil propanoitler Tablo 2.20.'de verilmiştir.

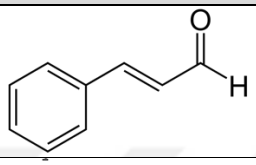
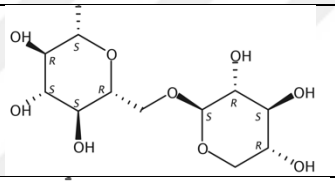
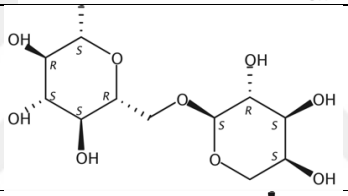
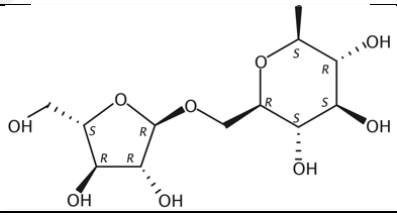
Tablo 2.20. *Rosa damascena*'dan izole edilen fenil propanoitler.



Bileşik	R	Kaynak
Öjenol		(59)
Öjenol metil ester		(71)

Tablo 2.20. (devam) *Rosa damascena*'dan izole edilen fenil propanoitler.

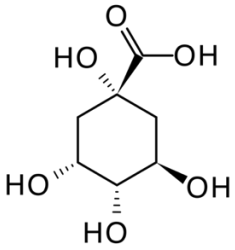


Bileşik	R	Kaynak
Sinnamaldehit		(71)
Öjenol-*β*-D-ksilopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit		(84)
Öjenol-*α*-L-arabinopiranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit		(84)
Öjenol-*α*-L-arabinofuranozil-(1→6)-*β*-D-glukopiranozit		(84)

2.2.5. Bitki asitleri

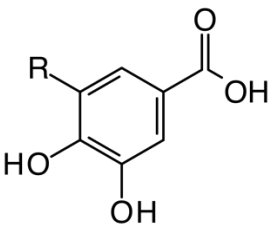
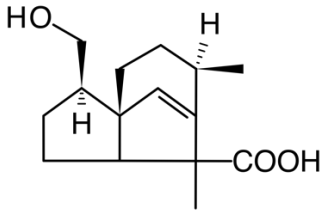
Rosa damascena bitkisinden izole edilen bitki asitleri Tablo 2.21.'de verilmiştir.

Tablo 2.21. *Rosa damascena*'dan izole edilen bitki asitleri.



Kinik asit (57)

Tablo 2.21. (devam) *Rosa damascena*'dan izole edilen bitki asitleri.

			
R:	OH	Gallik Asit	rozasedrenoik asit (sedr-6-en-12-ol-14-oik asit) (85)
R:	H	3,4-dihidroksi benzoik asit	

2.3. *Rosa damascena*'nın Kullanılışı ve Biyolojik Aktiviteleri

2.3.1. *Rosa damascena*'nın Geleneksel Kullanılışı

İran'da geleneksel olarak *Rosa damascena* çiçeklerinden hazırlanan dekoksiyonlar göğüs ve karın ağrısı şikayetleri, âdet kanamaları, sindirim sistemi rahatsızlıkları, kabızlık şikayetleri gibi rahatsızlıkların giderilmesinde ve kalbi güçlendirmek için kullanılır. Gül suyunun geleneksel olarak göz yıkanmasında antiseptik olarak ve ağız için dezenfektan olarak kullanımının yanı sıra; karın ağrısı, bronşiyal ve göğüs tıkanıklıkları gibi rahatsızlıkların tedavisi için kas gevşetici olarak kullanımı da bulunmaktadır. Kurutulmuş gül petallerinden hazırlanan dekoksiyonlar idrar söktürücü olarak kullanılır. Gül tohumlarının kan temizleyici olarak reçete edilmesinin yanı sıra halk tarafından ekmek yapımında kullanılışı da mevcuttur (52). İran'da çiçek, petal ve meyveleri geleneksel olarak uykusuzluk tedavisi için kullanılır (4). Fas'ta *R. damascena* çiçekleri karın ağrısı şikayetlerini gidermek için kullanılmaktadır (3). Suriye'de *R. damascena* çiçeklerinin geleneksel olarak müshil, idrar söktürücü, ferahlatıcı olarak kullanılmasının yanı sıra genel halsizlik, soğuk algınlığı, öksürük, grip, karın ağrısı, safra kesesi taşları gibi rahatsızlıkların giderilmesinde de kullanıldığı belirtilmiştir (5). Ürdün'de *R. damascena* çiçek tablası ve tohumlarından hazırlanan demlemeler, geleneksel olarak antibakteriyel amaçla ve bağırsak kanseri ile kalp rahatsızlıkları gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (86). Kuzey Afrika ve Yakın Doğu Ülkeleri'nde *R. damascena* yaprak ve çiçekleri sindirim sistemi, boşaltım sistem, sinir sistemi, solunum sistemi rahatsızlıklarının ve deri hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (6). Eski tıp tarihinde *R.*

damascena'nın karın ve göğüs ağrısı, âdet sancısı ve sindirim problemleri gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığı; ayrıca kalbi güçlendirmek, özellikle boyunda oluşan yangıyı azaltmak için reçete edildiği bilinmektedir. Kuzey Amerika yerli kabilelerinde *R. damascena* kökünden hazırlanan dekoksiyonlar çocuklarda öksürüğü hafifletmek için kullanılmıştır. Bitkinin ayrıca hafif müshil olarak kullanımı da bilinmektedir. Gül yağı, depresyon, üzüntü, sinirsel stres ve tansiyon problemlerini iyileştirmek için kullanılır. Susuzluğun dindirilmesi, uzamış öksürüğün ve kadın hastalıkları şikayetlerinin azaltılması, yaraların iyileşmesi ve deri hastalıklarının tedavisi için kullanılır. Gül yağı buharı kullanılarak yapılan tedavinin bazı alerjiler, baş ağrısı ve migren için yararlı olduğu rapor edilmiştir (55). Gül yağı; depresyon ve stresle ilişkili durumların ve kalp hastalıklarının tedavisinde aromaterapi şeklinde de kullanılmaktadır. *R. damascena* lezzet artırıcı olarak birçok mutfakta geleneksel olarak kullanılmaktadır. Gül suyu sıklıkla birçok et yemeğine katılmaktadır. Ayrıca dondurma, reçel, puding, kek, yoğurt gibi gıdalara lezzet vermesi bakımından ilave edildiği de bildirilmiştir (53).

Türkiye'de halk arasında geleneksel olarak tedavide kullanılışına rastlanmamıştır.

2.3.2. *Rosa damascena*'nın *in vitro* Biyolojik Etkileri

Antimikrobiyal etki

Rosa damascena petallerinden hazırlanan etanollü ve metanollü ekstrelerin, kuyu difüzyon yöntemi ile farklı konsantrasyonlarda dental bir patojen olan *Streptococcus mutans* üzerindeki antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Etanollü ekstre, 300 µL konsantrasyonda 23±1.632 mm inhibisyon zonu oluştururken; metanollü ekstre, aynı konsantrasyonda 25±1.632 mm inhibisyon zonu oluşturarak antibakteriyel etki göstermişlerdir (10). *R. damascena* çiçeklerinden hazırlanan sulu ve etanollü ekstreler ile etanollü ekstrenin partisyonu ile elde edilen kloroformlu, etil asetatlı ve butanollü fraksiyonların ve uçucu yağın disk difüzyon yöntemi ile çeşitli Gram negatif bakteriler üzerindeki etkileri tespit edilmiştir. Uçucu yağ, *Streptococcus pyogenes* (MİK= 0.25 mg/mL), *Bacillus subtilis* (MİK= 0.25 mg/mL) ve *Staphylococcus aureus* (MİK= 0.25 mg/mL) üzerinde antibakteriyel etki göstermiştir. Sulu ekstre, *B. subtilis* (MİK= 0.25 mg/mL) ve *S. aureus* (MİK= 0.25 mg/mL); etanollü ekstre, *S. pyogenes*

(MİK= 0.125 mg/mL), *B. subtilis* (MİK= 0.5 mg/mL) ve *S. aureus* (MİK= 0.5 mg/mL); kloroformlu fraksiyon, *B. subtilis*: (MİK= 0.125 mg/mL); etil asetatlı fraksiyon, *S. pyogenes* (MİK= 0.125 mg/mL), *B. subtilis* (MİK= 0.125 mg/mL), *S. aureus* (MİK= 0.125 mg/mL) ve *Mycobacterium phlei* (MİK= 0.25 mg/mL); butanollü fraksiyon, *B. subtilis* (MİK= 0.25 mg/mL) ve *S. aureus* (MİK= 0.5 mg/mL) üzerinde antibakteriyel etki göstermiştir (87). *R. damascena* petallerinden hazırlanan etanollü ekstrenin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile çeşitli bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkileri araştırılmış ve bu amaçla MİK, MBK ve inhibisyon zon çapı (İZÇ) değerleri tespit edilmiştir. Etanollü ekstre için; *Pseudomonas aeruginosa* MİK ve MBK değerleri 62.5 µg/mL olarak bulunmuş ve İZÇ 34 mm olarak ölçülmüştür. Ekstrenin *Escherichia coli*'de MİK ve MBK değerleri 62.5 µg/mL olarak bulunmuş ve İZÇ 30 mm olarak ölçülmüştür (88). % 2'lik standardize *R. damascena* etanollü ekstresinin (Barij essence) sıvı makrodilüsyon yöntemi kullanılarak bazı endodontik mikroorganizmalar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sonuçta ekstrenin *Enterococcus faecalis* (MİK= % 0.06), *Actinomyces naeslundii* (MİK= % 0.03), *Porphyromona gingivalis* (MİK= % 0.03), *Fusobacterium nucleatum* (MİK= % 0.06) üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği rapor edilmiştir (89). *R. damascena* taze çiçeklerinden ve distilasyonla uçucu yağ elde edildikten sonra kalan çiçeklerden (tüketilmiş çiçek) hazırlanan metanollü ekstrenin, agar kuyu difüzyon yöntemi ile çeşitli mikroorganizmalar üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Ekstre, *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Enterobacter aerogenes, Enterococcus feacalis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium smegmatis, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* ve *Yersinia enterocolitica* üzerinde etkili bulunmuştur ($p<$ 0.05). *R. damascena* taze çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstre için en yüksek etki % 10'luk konsantrasyonda *S. enteritidis* (inhibisyon zonu= 21 mm) üzerinde gözlenmiştir. Tüketilmiş çiçeklerden elde edilen ekstre ise aynı konsantrasyonda 16 mm inhibisyon zonu göstermiştir. Taze çiçek ekstresi % 10'luk konsantrasyonda *M. smegmatis* üzerinde 15 mm inhibisyon zonu; tüketilmiş çiçek ekstresi ise aynı konsantrasyonda 21 mm inhibisyon zonu oluşturarak antimiktobiyal etki göstermişlerdir (90).

Anti-HIV etki

Rosa damascena kuru petallerinden hazırlanan sulu ve metanollü ekstreler ile metanollü ekstreden izole edilen 9 saf bileşik XTT-formazan yöntemi ile HIV-1_{MN} ile enfekte olmuş C8166 insan T lenfoblastoid hücre dizisi ve HIV-1_{IIIB} ile kronik olarak enfekte olmuş H9 insan T-hücreli lenfoma hücre dizisi üzerinde anti-HIV etki bakımından incelenmiştir. Sulu ve metanollü ekstreler, enfekte C8166 hücre dizisi üzerinde 10 µg/mL EC_{50} değeri ile orta derecede anti-HIV etki gösterirken; kemferol, kemferol-3-*O*-*β*-D-glukopiranozit ve kemferol-3-*O*-(6-*O*-*trans*-*p*-kumaroil)-*β*-glukopiranozit isimli saf bileşikler sırasıyla EC_{50}= 4 µg/mL, EC_{50}= 8 µg/mL ve EC_{50}= 8 µg/mL değerleri ile yüksek anti-HIV aktivitesi göstermişlerdir. Aynı zamanda kemferol ve kersetin bileşiklerinin enfekte H9 hücre dizisi üzerinde sırasıyla EC_{50}= 0.8 µg/mL ve EC_{50}= 10 µg/mL değerleri ile HIV etkisini azaltıcı oldukları ve bu etkinin Gp120'nin CD4'e bağlanmasının önlenmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (57).

Antiparazitik etki

Rosa damascena çiçeklerinden izole edilen 9 bileşik Subeki ve ark. (91) tarafından verilen yöntemle, anti-babesyial etki açısından araştırılmış; 2-feniletil 6-*O*-galloyil-*β*-D-glukopiranozit, gallik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit ve kersetin 3-*O*-*β*-D-(6-*O*-asetil)-glukopiranozil-(1→4)-*α*-L-ramnopiranozit bileşikleri sırasıyla 11.78 µg/mL, 15.74 µg/mL, 78.00 µg/mL, 90.88 µg/mL IC_{50} değerleri ile pozitif sonuç göstermişlerdir (12).

Antienflamatuvar ve sitoprotektif etki

Rosa damascena çiçeklerinden hazırlanan % 70 etanollü ekstrenin, *Helicobacter pylori* ile enfekte olmuş gastrik epitel hücrelerindeki antienflamatuvar ve sitoprotektif etkilerini belirlemek için, interlökin-8 (IL-8) sekresyonu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu araştırılmıştır. Ekstrenin anti-*Helicobacter pylori* aktivitesi ve sitotoksik etkileri sırasıyla seri dilüsyon yöntemi ve DNA fragmantasyon testi ile değerlendirilmiştir. *Helicobacter pylori* ile enfekte olmuş hücrelerde IL-8 salınımı ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu değerlendirmek için enzim-bağlı immünosorbent

deneyi (ELISA) ve akım sitometri yöntemleri uygulanmıştır. *R. damascena* ekstresi 50 µg/mL ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda IL-8 sekresyonuna karşı sırasıyla orta şiddetli (IL-8 sekresyonu= 1000-2000 pg/mL) ve kuvvetli (IL-8 sekresyonu= <1000 pg/mL) inhibisyon göstermiştir. Minimum bakterisidal konsantrasyon değerinden 5 kat daha küçük olan 100 µg/mL ekstre varlığında *Helicobacter pylori* canlılığı % 90 CFU (koloni oluşturan birim) olarak ölçülmüştür. DNA fragmantasyonu 100 µg/mL konsantrasyonda ölçülmüş ve ekstrenin, kontrol (% 4.5±0.8) ile karşılaştırıldığında DNA fragmantasyonunda anlamlı bir indüksiyon göstermediği (% 7.4±0.9) tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre ekstrenin *Helicobacter pylori*/hücre ortak kültür sistemi üzerindeki etkisinin, *Helicobacter pylori* canlılığı üzerindeki değişikliklerden veya hücrelere toksisitesinden kaynaklanmadığı belirlenmiştir (9).

Antiproliferatif ve sitotoksik etki

Rosa damascena çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin insan HeLa servikal kanser hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkisi, MTT kolorimetrik yöntem ile değerlendirilmiş ve sonuçlar normal Afrika yeşil maymun böbrek epitel hücre dizisi (Vero) ile karşılaştırılmıştır. Ekstrenin HeLa hücre dizisi üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği belirtilmiş ve ekstrenin HeLa hücre dizisi için IC_{50}= 265 µg/mL; Vero hücre dizisi için IC_{50}= >1000 µg/mL değerleri ile, HeLa servikal kanser hücre dizisine karşı sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir (92). *R. damascena*'nın kurutulmuş çiçeklerinden izole edilen auron yapısındaki (*Z*)-2-(4- metoksibenziliden)-7,7-dimetil-7,8-dihidro-2*H*-furo[2,3-f] kromen-3,9-dion isimli bileşiğin NB4, A549, SHSY5Y, PC3 ve MCF7 hücre dizilerine karşı potansiyel sitotoksisitesi, Gao ve ark. (93) tarafından geliştirilen yönteme göre değerlendirilmiştir. Bileşiğin NB4 ve SHSY5Y hücre dizilerine karşı sırasıyla IC_{50}= 4.8 µM ve IC_{50}= 3.4 µM değerleriyle sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (13).

Antioksidan ve radikal süpürücü kapasite

Rosa damascena çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin radikal süpürücü etkisi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi ile ve lipit peroksidasyonu üzerindeki etkisi ferrik tiyosiyanat (FTC) ve tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemi ile araştırılmıştır. Ekstrenin, standartlar ile karşılaştırıldığında (BHA= % 89.49±4.63,

Vitamin E= % 72.01±5.85, Askorbik asit= % 96.78±0.24) % 95.67±0.6 ile yüksek seviyede DPPH radikal süpürücü etki gösterdiği belirlenmiştir. Ekstrenin, standart olarak kullanılan vitamin E ve BHA ile karşılaştırıldığında FTC yönteminde, % 84.27, TBA yönteminde % 92.93 inhibisyon ile kuvvetli antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirtilmiştir (94). *R. damascena* petallerinden hazırlanan % 50'lik metanollü ekstreden elde edilen *n*-butanollü fraksiyon DPPH, ABTS, FRAP, OH, O_2^-, $ONOO^-$ ve NO yöntemleri kullanılarak ve standart maddelerle karşılaştırılarak antiradikal etkinlik açısından araştırılmıştır. Fraksiyon, DPPH yönteminde IC_{50}= 8.231±0.056 µg/mL (Std-Kersetin: IC_{50}= 3.21±0.11 µg/mL); ABTS yönteminde IC_{50}= 3.315±0.55 µg/mL (Std-Kersetin: IC_{50}= 1.34±0.08 µg/mL); OH yönteminde IC_{50}= 8.24±0.77 µg/mL (Std-Kersetin: IC_{50}= 7.42±0.32 µg,/mL); O_2^- yönteminde IC_{50}= 39.56±0.85 µg/mL (Std-Kersetin: IC_{50}= 41.98±0.95 µg/mL); $ONOO^-$ yönteminde IC_{50}= 590.57±2.78 µg/mL (Std-Gallik asit: IC_{50}= 820.12±27.34 µg/mL) ve NO yönteminde IC_{50}= 209.4±0.69 µg/mL (Std-Kersetin: IC_{50}= 19.23±0.42 µg/mL) değerleri ile radikal süpürücü etki ve FRAP yönteminde 4.23±0.06 mmol Fe^{2+}/g değeri ile antioksidan etki göstermiştir (95). *R. damascena* petallerinden hazırlanan metanollü ekstre, DPPH yönteminde 1698.3 µg/mL IC_{50} değeri ile standart olarak kullanılan gallik asite yakın radikal süpürücü etki göstermiştir (54). *R. damascena* taze petallerinden hazırlanan metanollü-sulu (80:20) ekstrenin DPPH yöntemi ile antiradikal etkisi araştırılmış ve standartlarla karşılaştırıldığında (BHT= 110.98±8.25 µg/mL, vitamin E= 22.72±1.91 µg/mL) ekstrenin gösterdiği IC_{50}= 2.24 µg/mL değeri ile kuvvetli radikal süpürücü etkisi olduğu belirtilmiştir (59). *R. damascena* taze çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin (IC_{50}= 21.4±0.52 µg/mL) standart olarak kullanılan L-askorbik asit (IC_{50}= 30.0±0.08 µg/mL) ile karşılaştırıldığında DPPH yöntemi ile kuvvetli antiradikal etki gösterdiği bildirilmiştir (96). *R. damascena* taze çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin DPPH yöntemi ile 100 ppm'de % 74.51±1.65 radikal süpürücü etki gösterdiği ve fosfomolibden metodu ile 372.26±0.96 mg/g değeri ile antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir (90). *R. damascena* taze petallerinden elde edilen asetonlu fraksiyonun; süperoksit radikal oluşumu, hidroksil radikali oluşumu ve lipit peroksit oluşumu üzerindeki etkileri araştırılmış ve sonuçlar standart (std) olarak kullanılan kurkumin ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir. *R. damascena* taze petallerinin havanda ezilerek suyu çıkartılmış, süzülmüş ve süzüntü distile su ile dilüe edildikten sonra

liyofilize toz haline getirilmiştir. Bu liyofilize tozdan kolon kromatografisi ile elde edilen asetonlu fraksiyon süperoksit radikal oluşumu testinde gösterdiği IC_{50}= 13.75±0.86 µg/mL (std-kurkumin: IC_{50}= 6.25±0.27 µg/mL) değeriyle; hidroksil radikal oluşumu testinde gösterdiği IC_{50}= 135±0.75 µg/mL (std-kurkumin: 2.3±0.05 µg/mL) değeriyle ve lipit peroksit oluşumu testinde gösterdiği IC_{50}= 410±0.74 µg/mL (std-kurkumin: IC_{50}= 20±0.58 µg/mL) değeriyle antiradikal ve antioksidan etkili olarak bulunmuştur (97). *R. damascena* kurutulmuş çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin troloks eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) yöntemi ile antioksidan etkisi araştırılmıştır. Ekstrenin; troloks (TEAC= 1) ile karşılaştırıldığında, gösterdiği IC_{50}= 25.10 µg/50µL (TEAC= 0.38) değeri ile antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirtilmiştir (98). *R. damascena* yeşil yapraklarından hazırlanan sıcak ve soğuk metanollü ekstrelerin; DPPH yöntemi ile radikal süpürücü etkileri ve FRAP yöntemi ile antioksidan kapasiteleri araştırılmıştır. Ekstrelerin 50 g/mL konsantrasyonda (sıcak: % 84,56±0.27; soğuk: % 88.58±0.80), troloks (% 82.96±0.30), BHA (% 65.23±0.57) ve BHT (% 35.55±0.04) gibi sentetik antioksidanlar ile karşılaştırıldığında, daha fazla radikal süpürücü etki gösterdiği bildirilmiştir. Yaprakların soğuk ekstresinin; FRAP yöntemi ile standarda (BHA= 1.79 ve 2.37 µg/mL) en yakın antioksidan etkiyi 100 ve 150 µg/mL konsantrasyonlarda (sırasıyla 1.04±0.06 ve 1.44±0.14 µg/mL) gösterdiği rapor edilmiştir (99). *R. damascena* toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanollü ekstrenin DPPH yönteminde gösterdiği IC_{50}= 287.9±5.68 µg/mL değeriyle, standart olarak kullanılan gallik asitten (IC_{50}= 25.32±5.59 µg/mL) daha yüksek bir radikal süpürücü etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (15).

Güneşten koruyucu etki

Rosa damascena kurutulmuş çiçeklerinden elde edilen sulu-etanollü (50:50), etilasetatlı-etanollü (80:20) ve eterli ekstrelerin, ultraviyole absorpsiyon kabiliyetlerinin ölçülmesi suretiyle, antisolar ajan olarak kullanılıp kullanılamayacağı spektrofotometrik olarak araştırılmıştır. Üç ekstrenin de 200-400 nm bandı arasında UV radyasyonunu etkili bir şekilde absorbe ettikleri gözlenmiştir. Üç ekstre için maksimum absorpsiyon aralığı sırasıyla 200-320, 250-360 ve 230-370 nm olarak ölçülmüştür. Kremlerin SPF ölçümleri için Diffey ve Robson (100) tarafından

kullanılan yöntem modifiye edilmiş ve yöntemi standardize etmek için FDA standartı (% 8 homosalat) kullanılmıştır. Ekstreler % 5 ve % 8'lik (a/a) iki konsantrasyonda hazırlanan su bazlı kremlere eklenerek SPF ölçümleri yapılmıştır. % 5'lik ve % 8'lik kremlerde yapılan ölçümlere göre en yüksek SPF değerini sulu etanollü ekstre (sırasıyla 5.73 ± 0.76 μL/cm^2; 7.35±1.09 μL/cm^2) göstermiştir. Etilasetatlı etanollü ekstre için SPF değerleri % 5'lik kremde 2.39±0.11 μL/cm^2 ve % 8'lik kremde 3.64 ± 0.28 μL/cm^2 olarak ölçülmüştür. % 8'lik eterli ekstre içeren krem 5.22 ± 0.85 μL/cm^2 SPF değeri gösterirken; yapılan fizikokimyasal çalışmalar sonucuna göre % 5'lik eterli ekstre içeren kremin 4.24±0.24 μL/cm^2 değeri ile en uygun görüntü ve stabiliteye sahip olduğu belirtilmiştir (16).

Kardiyovasküler etki

Rosa damascena çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin anti-3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (anti-HMG-CoA) etkisi spektrofotometrik olarak, NADPH oksidasyonunun ölçümü yapılarak belirlenmiştir. HMG-CoA'nın substrat olarak kullanıldığı yöntemde ekstrenin enzim aktivitesi üzerinde % 70.0 inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. HMG-CoA redüktaz'ın kinetik özellikleri HMG-CoA'nın çeşitli konsantrasyonlarında (0.3, 0.6, 0.9 ve 1.2 mmol/L) ve *R. damascena* ekstresinin iki konsantrasyonunda (0.05 ve 0.15 mg/mL) Lineweaver-Burk plot analizi ile 340 nm'de belirlenmiş ve ekstrelerin kompetitif olmayan inhibisyonlar gösterdiği bildirilmiştir. 0.15 mg/mL konsantrasyonda ekstre enzim karışımına eklendiğinde V_{max} değeri 0.0031 mM/dak olarak saptanmıştır (101). *R. damascena* bitkisinin tomurcuklarından izole edilen kemferol-3-*O*-*β*-D-glukopiranozil-(1→4)-*β*-D-ksilopiranozit (Roksilozit A), izokersitrin, afzelin, siyanidin-3-*O*-*β*-D-glukozit ve kersetin gentiobiyozit bileşiklerinin HMG-CoA redüktaz etkisi Kleinsek ve ark. (102) tarafından belirtilen yöntemde küçük değişiklikler yapılarak ve Anjiotensin I-dönüştürücü enzim etkisi Cushman ve Cheung (103) tarafından belirtilen yöntemde küçük değişiklikler yapılarak araştırılmıştır. Siyanidin-3-*O*-*β*-D-glukozit dışındaki tüm bileşikler sırasıyla 47.1, 80.6, 80.1, 50.6 μM IC_{50} değerleri ile yüksek seviyede HMG-CoA redüktaz etkisi göstermişlerdir. Siyanidin-3-*O*-*β*-D-glukozit, 138.8 μM IC_{50} değeri ile anjiotensin I-dönüştürücü enzim aktivitesini önemli ölçüde durdurmuştur (17).

Diğer etkiler

Rosa damascena sulu-metanollü ekstresi (1:1; h/h) Ellman metodu ile antikolinesteraz etki bakımından değerlendirilmiş ve ekstrenin IC_{50}= 93.10 μg/mL değeri ile antikolinesteraz etki gösterdiği belirtilmiştir (14).

R. damascena çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin türbidimetri yöntemiyle pankreatik lipaz enzim inhibisyonu üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Ekstrenin, 0.05 ve 0.15 mg/mL konsantrasyon aralığında kullanıldığında pankreatik lipaz enzimini % 57.0 oranında inhibe ettiği rapor edilmiştir (18).

2.3.3. *Rosa damascena*'nın *in vivo* Biyolojik Etkileri

Antidiyabetik etki

Rosa damascena çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin antidiyabetik etkisi, normal ve diyabetik sıçanlar üzerinde *α*-glukozidaz inhibitörü olan akarboz ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. *R. damascena* ekstresinin hipoglisemik etkisini incelemek üzere 18 adet normal erkek sıçan 3 eşit gruba ayrılmıştır. Grup 1'de yer alan sıçanlar kontrol grubu olarak kullanılmış ve sadece maltoz (2 g/kg vücut ağırlığı) ile muamele edilmişlerdir. Grup 2'de yer alan sıçanlara maltoz (2 g/kg vücut ağırlığı) ve akarboz (50 mg/kg vücut ağırlığı) uygulanmıştır. Grup 3'de yer alan sıçanlara tek doz (1000 mg/kg vücut ağırlığı) *R. damascena* ekstresi uygulanmıştır. Kandaki glukoz seviyesi başlangıçta, 30., 60. ve 120. dakikalarda glukometri yardımıyla tanımlanmıştır. Aynı prosedür yine 3 eşit gruba dağıtılan 18 diyabetli sıçan için de uygulanmıştır. Diyabetli sıçanlardaki hipoglisemik aktivitenin değerlendirilmesi için 36 adet sıçan her biri 6 sıçan içeren 6 gruba bölünmüştür. İlk 2 gruba yukarıda verilen prosedürlerle aynı şekilde muamele yapılmıştır. Grup 3-6 maltoz (2 g/kg) ve artan dozlarda (sırasıyla; 100, 250, 500 ve 1000 mg/kg*) R. damascena* ekstresi ile muamele edilmiştir. Kandaki glukoz seviyesi aynı şekilde başlangıçta, 30., 60. ve 120. dakikalarda glukometri yardımıyla belirlenmiştir. Normal sıçanlardaki tokluk kan şekeri seviyesine bakıldığında; kontrol grubunda kandaki glukoz seviyesinin, diyet uygulanmasından 30 dakika sonra 83 mg/dL'den 148 mg/dL seviyesine yükseldiği ve daha sonra azaldığı gözlenmiştir. Bununla beraber yüksek maltoz diyetinin uygulanmasından sonra kandaki glukoz seviyesinin yükselişi *R. damascena* ekstresi

uygulaması ile önemli derecede ($p< 0.0001$) bastırılmıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan akarboz da tokluk kan şekeri seviyesinde anlamlı baskılama göstermesine karşın *R. damascena* ekstresi ile arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Diyabetli sıçanlardaki tokluk kan şekeri seviyesi incelendiğinde; *R. damascena* ekstresi ve akarboz uygulanan sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla tokluk kan şekeri seviyesi daha düşük bulunmuştur. Uygulamadan 30 dakika sonra kontrol grubunda, kandaki glukoz konsantrasyonunun 382 mg/dL'den 583 mg/dL'ye yükseldiği gözlenmiştir. *R. damascena* ekstresi ile muamele edilen sıçanlarda tokluk kan şekeri anlamlı derecede azalmıştır. Uygulamadan 30 dakika sonrasında kandaki glukoz seviyesi 398 mg/dL'den 432 mg/dL'ye değişmiş ve kontrol grubu ile arasında anlamlı bir fark oluşmuştur ($p< 0.0001$). Diyabetli sıçanlardaki tokluk kan şekeri seviyesinin farklı dozlarda *R. damascena* ekstresi uygulaması ile doza bağlı olarak düştüğü gözlenmiştir. Kontrol grubunda kandaki glukoz seviyesinin, sıçanlara maltoz yüklemesi (2.0 g/kg) yapıldıktan 30 dakika sonra 348 mg/dL'den 580 mg/dL'ye yükseldiği gözlenmiştir. Bununla birlikte, farklı dozlarda *R. damascena* ekstresi (100, 250, 500, 1000 mg/kg) ile muamele edilen sıçanlarda doza bağlı olarak kan şekeri seviyesi anlamlı olarak düşmüştür (8).

Antienflamatuvar etki

Rosa damascena çiçeklerinden hazırlanan % 70 etanollü ekstrenin ve uçucu yağın sıçanlarda asetik asit ile oluşturulan ülseratif kolit üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Erkek Wistar sıçanlara kolit yapılmadan 2 saat öncesinden farklı dozlarda ekstre (250, 500, 1000 mg/kg) ve uçucu yağ (100, 200, 400 µl/kg) oral ve/veya intraperitonal *(i.p.)* olarak 4 gün süreyle uygulanmış ve referans gruplarına oral yolla Prednizolon (4 mg/kg) ve *i.p.* yolla dekzametazon (1 mg/kg) verilmiştir. Islak doku ağırlık ve uzunlukları ölçülmüş ve dokuların miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçülerek makroskopik, histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelemeleri yapılmıştır. Oral yolla verilen ekstre incelenen tüm dozlarda (250, 500, 1000 mg/kg) ülser skoru 0-4 (2.83 ± 0.48, 2.50 ± 0.43, 1.50 ± 0.34), ülser alanı (4.68 ± 0.63, 4.15 ± 0.55, 2.70 ± 0.44 cm^2), ülser indeksi 0-12 (7.52 ± 1.06, 6.65 ± 0.64, 4.20 ± 0.66), ağırlık/uzunluk oranı (1.28 ± 0.07, 1.12 ± 0.07, 1.08 ± 0.08 g/cm); oral yolla verilen uçucu yağ en düşük dozda (100 µl/kg) ülser skoru 0-4 (2.33 ± 0.42), ülser alanı (3.42

± 0.54 cm^2), ülser indeksi 0-12 (5.75 ± 0.95), ağırlık/uzunluk oranı (1.34 ± 0.06 g/cm); *i.p.* olarak verilen % 70 lik etanollü ekstre en düşük dozda (125 mg/kg) ülser skoru 0-4 (2.67 ± 0.33), ülser alanı (5.05 ± 0.66 cm^2), ülser indeksi 0-12 (7.77 ± 0.84), ağırlık/uzunluk oranı (1.17 ± 0.12 g/cm) gibi parametrelerde MPO aktivitesinin yanı sıra tüm kolit indekslerini düşürmüştür (104).

Antikonvülzan ve nöroprotektif etki

Rosa damasecena kurutulmuş çiçeklerinden hazırlanan sulu, etanollü ve kloroformlu ekstrelerin; farelerde pentilentetrazol (PTZ) kaynaklı nöbetler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Fareler normal salin kontrol grubu ve diazepam grubu (3 mg / kg) olmak üzere 2'ye ayrılmış ve farelere, üç ekstre de, 100, 500 ve 1000 mg/kg dozlarda, PTZ enjeksiyonundan 30 dakika öncesinde *i.p.* olarak enjekte edilmiştir. Minimal klonik nöbet (MCS) ve jeneralize tonik klonik nöbet (GTCS) latans değerleri ve farelerdeki mortalite oranları hesaplanmıştır. Sulu ekstre üç dozda da MCS ve GTCS latans değerlerinde normal salin grubuna kıyasla anlamlı artışlar ($p< 0.05$ veya $p< 0.01$) göstermiştir. Etanollü ekstrenin 1000 mg/kg dozda MCS latansı ve 500, 1000 mg/kg dozlarda GTCS latansı, normal salin kontrol grubundakilere göre daha yüksek gözlenmiştir ($p< 0.05$, $p< 0.01$). Bu sonuçlara göre *R. damascena* sulu ve etanollü ekstrelerinin antikonvülzan etki gösterdiği ve epilepsi nöbetlerinin azalmasında etkili olduğu rapor edilmiştir (105). *R. damascena* kurutulmuş çiçeklerinden hazırlanan % 70'lik etanollü ekstrenin, sıçanlarda PTZ kaynaklı nöbetler üzerindeki anti-nöbet ve nöroprotektif etkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılacak sıçanlar 5 gruba bölünmüştür: Grup 1: Kontrol (salin verilmiş), Grup 2: PTZ 100 mg/kg, intraperitonal (*i.p.*), Grup 3: PTZ-Ekstre 50 mg/kg, Grup 4: PTZ-Ekstre 100 mg/kg ve Grup 5: PTZ-Ekstre 200 mg/kg. Sıçanlara *R. damascena* ekstreleri PTZ enjeksiyonundan bir hafta önce verilmiştir. Hayvanlar elektrokortikografi (ECoG) kaydı için incelendikten sonra beyinleri histolojik inceleme için çıkarılmıştır. Ekstre, nöbet ataklarının gecikmesini önemli derecede uzatmış ve PTZ enjeksiyonu ile meydana gelen epileptiform boşalma sıklığını ve genliğini azaltmıştır ($p< 0.01$ - $p< 0.001$) (19).

Antiparaziter etki

Rosa damascena çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin, Peters'in

baskılama testi ile albino farelerdeki *Plasmodium berghei* kaynaklı Nobeh humması ve/veya ateşlenme üzerine etkisi araştırılmıştır. Farelere 4 gün boyunca günde 10 mg/kg *i.p.* yolla enjekte edilen ekstrenin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farelerdeki parazitemiyi % 57.7 oranında azalttığı gözlenmiştir (20).

Hafıza performansı üzerine etki

Rosa damascena standardize ekstresinin sıçanlar üzerinde nörogenez ve sinaptogenez üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Ekstrenin mekânsal öğrenme ve hafıza üzerine olan etkisini belirlemek için kullanılan Morris su labirenti davranış testinde 60 sıçan rastgele 6 eşit gruba ayrılmıştır: Grup 1: kontrol, Grup 2: taklit, Grup 3: Alzheimer hastalığı + normal salin, Grup 4: Alzheimer hastalığı + 300 mg *R. damascena* ekstresi, Grup 5: Alzheimer hastalığı + 600 mg *R. damascena* ekstresi, Grup 6: Alzheimer hastalığı + 1200 mg *R. damascena* ekstresi olacak şekilde belirlenmiştir. *R. damascena* ekstresi verilmeden önce mekânsal bellek kullanılarak sıçanlarda öğrenme performansları çalışılmıştır. Amiloid-β uygulanmadan önce tüm gruplarda gizli platformları bulmak için ortalama latans süresi ($F_{5,54}$= 0.03, p= 1>0.05), ortalama yüzme mesafesi ($F_{5,54}$= 0.12, p= 0.9> 0.05) veya mekânsal edinim blokları (1-5) arasındaki ortalama yüzme hızı ($F_{5,54}$= 0.53, p= 0.7> 0.05) arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte, tüm gruplarda bloklar arasında kaçış latansı, yüzme mesafesi ve yüzme hızında anlamlı farklılıklar (Blok etkisi $F_{4,54}$= 629.26, p< 0.001; $F_{4,54}$= 718.47, p< 0.001; $F_{4,54}$= 54.55, p< 0.001) gözlenmiş ve bu, eğitim günleri boyunca tüm gruplardaki mekânsal edinim performansının anlamlı bir şekilde iyileştiğini göstermiştir. Çok değişkenli ANOVA analizi ilk prob testinde gruplar arasında anlamlı farklar (p< 0.001) olduğunu göstermiştir. Post hoc Tukey'in HSD analizi, operasyondan 21 gün sonra amiloid-$\beta_{1\text{-}42}$ enjekte edilen gruplarda (Grup3 ve Grup 6) hedef kadranda geçirilen ortalama zaman yüzdesinin, kontrol ve taklit gruplarına göre anlamlı olarak azaldığını (p< 0.001) göstermiştir. Ancak kontrol ve taklit gruplar arasında hedef kadranda harcanan ortalama zaman yüzdesi bakımından önemli bir farklılık görülmemiştir (p= 0.9). Bu sonuçlar, amiloid-$\beta_{1\text{-}42}$'nin sıçanlarda öğrenme ve hafıza bozukluğuna yol açtığını göstermiştir. Tüm gruplar arasında erişkin sinir kök hücrelerinin ve nöral progenitör hücrelerin çoğalmasını karşılaştırmak için proliferasyon belirteci olan BrdU (50 mg / kg vücut ağırlığı) 7 gün boyunca günde iki

kez enjekte edilmiş ve son enjeksiyondan 24 saat sonra incelemeler yapılmıştır. Post hoc Tukey'in HSD analizine göre, Grup 3'e oranla ekstre ile muamele edilen gruplarda (Gruplar 4-6 sırasıyla; 2.107 ± 19.68, 2.432 ± 2.,92, 2.703 ± 10.41) BrdU-pozitif hücreleri sayısında anlamlı bir artış (1.987 ± 21.46, $p< 0.001$) tespit edilmiştir. *R. damascena* ekstresi ile muamele edilen grupların tümünde, hipokampustaki sinir kök hücrelerinin ve nöral progenitör hücrelerin çoğaldığı gözlenmiştir. Sonuç olarak, *R. damascena*'nın; yetişkilerde nörogenezi, hipokampal hacim ve sinaptik plastisiteyi arttırdığı ve sıçanlarda amiloid-*β* kaynaklı oluşturulan Alzheimer hastalığındaki bellek anomalilerini tersine çevirdiği belirtilmiştir (106). *R. damascena* kurutulmuş taze çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrenin amiloid-*β* kaynaklı Alzheimer hastalığı olan sıçanlardaki davranış fonksiyonu üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Temel eğitim davranış performansının değerlendirilmesi için Morris su labirenti ve pasif sakınma testleri kullanılmıştır. Amiloid-*β*, hipokampus CA1 alanına bilateral olarak enjekte edilmiştir. Amiloid-*β* enjeksiyonundan 21 gün sonra, davranış testlerinin ilk prob testi, öğrenme ve bellek bozukluğunu saptamak için kullanılmıştır. Ekstrenin davranışsal görevler üzerindeki potansiyel etkilerini incelemek amacıyla ikinci prob testi *R. damascena* ekstresinin bir aylık uygulamasından sonra yapılmıştır. *R. damascena* ekstresi ile muamele edilen gruplarda doza bağlı olarak, orta (600 mg/kg) ve yüksek (1200 mg/kg) dozlarda mekânsal ve uzun süreli anıları anlamlı olarak ($p< 0.001$) geliştirdiği belirlenmiştir (107). *R. damascena* petallerinden hazırlanan % 50'lik etanollü ekstrenin sıçanlardaki skopolamin kaynaklı oluşan hafıza bozukluğundaki hafıza performansı üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışma için 32 adet yetişkin erkek sıçan kullanılmış ve sıçanlar 4 eşit gruba bölünmüşlerdir. Kontrol grubu (Grup 1) *R. damascena* ekstresi ve skopolamin olmaksızın salin ile muamele edilmiştir. Skopolamin grubuna (Grup 2) 2 hafta süreyle salin verilmiş ve en son Morris su labirenti testindeki her bir deneyden 30 dakika öncesinde skopolamin (1.5 mg/kg) ile muamele edilmiştir. Tedavi gruplarına (Grup 3 ve 4) 2 hafta süreyle sırasıyla skopolamin + 50 mg/kg *R. damascena* ekstresi ve skopolamin + 250 mg/kg *R. damascena* ekstresi verilmiş ve en son Morris su labirenti testindeki her deney öncesinde skopolamin *i.p.* olarak enjekte edilmiştir. Daha sonra sıçanların beyinleri biyokimyasal ölçümler için çıkartılmıştır. Skopolamin grubundaki gecikme zamanı ve yol uzunluğu kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur ($p< 0.01$-0.001). Tedavi

gruplarının her ikisi de skopolamin grubu ile karşılaştırıldığında daha kısa mesafe ve zaman gecikmesi göstermişlerdir ($p< 0.05$-0.001). Hedef kadranında skopolamin grubu tarafından harcanan zaman kontrol grubundan daha az olmasına karşın; Grup 4'ün hedef kadranda geçirdiği sürenin skopolamin grubuna göre daha uzun sürdüğü gözlenmiştir ($p< 0.05$). Skopolamin grubunun hipokampal ve korteks dokularındaki malondialdehit konsantrasyonları daha yüksek iken, tiyol konsantrasyonları kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ($p< 0.001$). Her iki dozda da muamele edilen ekstrelerin malondialdehit konsantrasyonunu düşürürken, tiyol konsantrasyonunu arttırdığı gözlenmiştir ($p< 0.05$-0.001) (108). *R. damascena* tomurcuklarından hazırlanan kloroformlu ekstrenin ve ondan aktif bileşen olarak izole edilen $C_{37}H_{64}O_2$ molekül formülüne sahip uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidinin amiloid-*β* (25-35) ile tetiklenen atrofi üzerine etkisi araştırılmıştır. Kloroformlu ekstrenin nörit büyüme etkinliğini önemli ölçüde tetiklediği ve amiloid-*β* (25-35) kaynaklı atrofi ve hücre ölümünü inhibe ettiği gözlenmiştir. İzole edilen yağ asidinin amiloid-*β* (25-35) kaynaklı dendritik atrofi üzerindeki protektif etkisi, sinir büyüme faktörü ve dokozahekzaenoik asit (DHA) ile karşılaştırılmış ve 1 μM dozda DHA'dan daha güçlü etki gösterdiği tespit edilmiştir (21).

Hepatoprotektif etki

Rosa damascena çiçeklerinden hazırlanan sulu ekstrenin asetaminofen (2 g/kg oral N-asetil-*p*-aminofenol) kaynaklı toksisiteye uğratılmış sıçanlarda farklı oral dozlarda (250, 500 ve 1000 mg/kg vücut ağırlığı) hepatoprotektif etkinliği araştırılmıştır. Asetaminofen uygulaması, serum transaminazları, serum alkalin fosfataz, laktat dehidrogenaz, albumin, bilirubin, üre ve kreatin, hepatik lipit peroksidasyonu ve düşük glutatyon seviyeleri dahil olmak üzere çeşitli biyokimyasal parametrelerde değişikliğe sebep olmuştur. Karaciğerdeki adenozin trifosfataz ve glikoz-6-fosfataz aktivitesi, asetaminofen uygulanan hayvanlarda belirgin şekilde azalmıştır. Bu değişikliklerin, ekstrenin 3 ayrı dozu ile muamele edildiğinde doza bağlı olarak anlamlı bir şekilde ($p \leq 0.05$) geri alındığı tespit edilmiştir. Ayrıca histopatolojik değişiklikler, hepatik dokuların asetaminofen kaynaklı nekrotik hasarına karşı ekstrenin koruyucu özelliğini ortaya koymaktadır (22). *R. damascena* çiçeklerinden hazırlanan sulu ekstrenin sıçanlarda CCl_4 ile oluşturulan hepatoselüler hasar

üzerindeki hepatoprotektif etkilerinin araştırmak üzere sıçanlara *i.p.* yolla 21 gün süreyle 0.15 mL/kg CCl_4 uygulanmıştır. Bu uygulamalar sonucunda kanda önemli biyokimyasal değişiklikler meydana gelmiş, ALT ve AST gibi enzimlerin seviyeleri önemli derecede yükselmiştir. Hepatik ve renal lipit peroksidasyonu önemli derecede artarken, enzimatik antioksidanlar (glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz) ve glutatyon düzeyinde azalma gözlenmiştir. Ayrıca anilin hidroksilaz, adenosin trifosfataz ve glukoz-6-fosfataz aktivitelerinde önemli bir düşüş gözlenirken, protein içeriğinde hafif bir yükselme tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak CCl_4 kaynaklı oluşturulan patolojik değişiklikler histopatolojik çalışmalarla değerlendirilmiştir. Sıçanlara 5 gün süreyle oral olarak 513 ve 1026 mg/kg dozlarda *R. damascena* ekstresi verildikten sonra bu değerler tekrar ölçülmüş ve 513 mg/kg dozda verilen ekstrenin kan değerlerini anlamlı ölçüde neredeyse normale döndürdüğü tespit edilmiştir (109). *R. damascena* taze petallerinden elde edilen liyofilize gül suyundan saflaştırılan asetonlu fraksiyonun sıçanlardaki karbon tetraklorür (CCl_4) kaynaklı hepatotoksik etkisi üzerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır. Taze petaller havanda ezilerek çıkan gül suyu filtre edilmiş ve distile su ile seyreltildikten sonra liyofilize edilmiş ve silika jel kolon ile asetonlu fraksiyon elde edilmiştir. *In vivo* çalışmalarda kullanılmak üzere 6 sıçan seçilmiş ve sıçanlar üç eşit gruba ayrılmıştır. Grup 1'de yer alan sıçanlar kontrol grubu olarak belirlenmiş ve herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Grup 2'de yer alan sıçanlara likit parafin içerisindeki CCl_4 (0.25 mL/100 g) (1:1) oral yolla verilmiştir. Grup 3'teki hayvanlara CCl_4'e ilaveten asetonlu fraksiyon (AF) (50 mg/kg vüc.ağ./gün) oral yolla verilmiştir. AF'nin 4. dozundan iki saat sonra, normal grup dışındaki tüm hayvanlara intraperitonal yolla CCl_4 enjeksiyonu yapılmış ve iki doz daha AF verilmiştir. Hayvanlar, CCl_4'ün akut dozundan 48 saat sonra öldürülmüştür. Grup 3'teki hayvanlarda serum alkalin fosfataz (ALP), glutamin piruvat transaminaz (GPT) ve glutamin okzaloasetat transaminaz (GOT) aktivitesi ve lipit peroksit düzeyi anlamlı bir şekilde ($p< 0.001$) azalmıştır (97).

Hipnotik etki

Rosa damascena'nın kurutulmuş çiçeklerinden hazırlanan etanollü, sulu ve kloroformlu ekstrelerin fareler üzerindeki hipnotik etkisi, pentobarbital kaynaklı uyku süresinin ekstreler tarafından potansiyalizasyonu belirlenerek incelenmiştir. Üç doz

ekstre (100, 500 ve 1000 mg/kg) *i.p.* olarak farelere enjekte edilmiş ve sonuçlar pozitif kontrol olarak diazepam (3 mg/kg) grubu, negatif kontrol olarak salin grubu ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Ekstrenin enjeksiyonundan 30 dakika sonra pentobarbital (30 mg/kg) enjekte edilmiş ve ekstrelerin uyku süresini arttırdığı kaydedilmiştir. Sonuçlar, diazepam ile karşılaştırıldığında, etanollü ve sulu ekstrelerin 500 ve 1000 mg/kg dozlarda pentobarbital kaynaklı uyku süresini anlamlı bir şekilde ($p< 0.001$) arttırdığını ortaya koymuştur (110). *R. damascena* çiçeklerinden elde edilen % 50 etanollü ekstrenin ve bu ekstreden partisyonla hazırlanan bazı fraksiyonların (sulu, etil asetatlı, ve *n*-butanollü), pentobarbital kaynaklı uzatılmış uyku zamanı üzerindeki hipnotik etkileri fareler üzerinde araştırılmıştır. Ekstre ve fraksiyonlar farelere *i.p.* yolla, 2 dozda (250 ve 500 mg/kg) enjekte edilmiştir. Sonuçlar; pozitif kontrol diazepam (3 mg/kg) grubu, negatif kontrol salin (10 mL/kg) grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Ekstre ve fraksiyonların enjeksiyonundan otuz dakika sonra, pentobarbital (30 mg/kg) enjekte edilmiş; ekstre ve fraksiyonlardan dolayı uyku süresindeki artışlar kaydedilmiştir. *R. damascena* etanollü ekstresinin ve fraksiyonlarının her iki dozda da farelerde pentobarbital kaynaklı uyku süresini uzattığı gözlenmiştir ($p< 0.05$-0.001). Tüm fraksiyonlar arasında en düşük hipnotik etkiyi sulu fraksiyon gösterirken, 500 mg/kg dozda en iyi hipnotik etkiyi etil asetatlı fraksiyonu göstermiştir (23).

Kardiyovasküler etki

Rosa damascena çiçeklerinden hazırlanan % 70'lik etanollü ekstrenin sıçanlar üzerindeki akut kardiyovasküler etkisi araştırılmıştır. Araştırma kapsamında kullanılan 32 Wistar sıçan eşit olarak rastgele 4 gruba bölünmüştür. Anestezi sonrası femoral artere bir kateter yerleştirilmiş, kan basıncı ve kalp atım hızı düzenli olarak kaydedilmiştir. Hayvanlara 3 doz ekstre (250, 500 ve 1000 mg/kg) *i.p.* yolla verilmiş ve 30 dakika sonra sistolik kan basıncı, ortalama arteriyal basınç ve kalp atım hızı değerleri kaydedilerek kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Ekstre ile kontrol grubu karşılaştırıldığında tüm dozlarda kalp atım hızında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ekstrenin tüm dozlarda sistolik kan basıncını doza bağlı olarak azalttığı ve maksimum cevabın salin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p< 0.01$-0.001). Farklı dozlarda uygulanan ekstrenin, kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında doza bağlı olarak ortalama arteriyel basınçtaki maksimum değişiklikleri azalttığı anlaşılmıştır. Ekstrenin yüksek dozlarda sistolik kan basıncı ve ortalama arteriyal basınç üzerine olan etkisi, düşük dozlarla karşılaştırıldığında daha anlamlı olarak gözlenmiştir ($p< 0.05$-0.001). Sonuç olarak, *R. damascena* ekstresinin hipotansif etkisinin kalp hızı üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle, *R. damascena*'nın kan basıncını kontrol altına almak için faydalı bir etkisi olduğu bildirilmiştir (111). *R. damascena* kurutulmuş çiçeklerinden hazırlanan sulu etanollü ekstrenin kobay kalplerindeki kalp hızı ve kontraktilite üzerine etkileri araştırılmıştır. İzole edilen kobay kalpleri Langendorff modeliyle aorta vasıtasıyla perfüze edilmiştir. Kalp atım hızı ve kontraktilite ekstre (% 0.1, 0.2, 0.4 ve 1.0 mg) ve izoprenalin (1, 10, 100 nM ve 1 μM) 4 farklı konsantrasyonunda propranolol varlığında ve yokluğunda başlangıç değerleri ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Ekstre; izoprenalin, kalp atış hızı ve kontraktilitede artışa neden olmuştur ($p< 0.05$-0.001). Propranolol yokluğunda izoprenalinin en son konsantrasyonuna bağlı olarak kalp hızındaki artış yüzdesi ekstreninkinden anlamlı bir şekilde ($p< 0.01$) daha yüksek görülmüştür. Propranolol hem kalp hızında hem de kontraktilitede anlamlı bir azalmaya (her iki durumda da $p< 0.05$) neden olmuştur. Ancak bu etki izoprenalin ve ekstre ile önemli ölçüde tersine dönmüştür ($p< 0.05$-0.001). Ekstrenin en son konsantrasyonuna bağlı kalp kontraktilitesindeki yüzde artış propranolol yokluğunda ve varlığında izoprenalinden anlamlı olarak daha yüksek (her iki durumda da $p< 0.05$) bulunmuştur. Hem kalp hızı hem de kalp kontraktilitesi ile izoprenalin ve ekstre konsantrasyonu arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmiştir ($p< 0.05$-0.001). Sonuç olarak *R. damascena* çiçeklerinden hazırlanan sulu etanollü ekstrenin, izole kobay kalpleri üzerinde güçlü inotropik ve kronotropik etki gösterdiği belirtilmiştir (112).

Laksatif etki

Rosa damascena kurutulmuş çiçeklerinin sıcak su içerisinde haşlanması ile hazırlanan ekstrenin (haşlanmış ekstre) sıçanlar üzerindeki laksatif ve prokinetik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılacak 14 sıçan 2 eşit gruba ayrılmış ve deney grubuna gavaj yoluyla ekstre verilirken diğer grupta yer alan 7 sıçan plasebo etkisinin araştırılması için kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Feçes sayısı, ağırlığı ve su yüzdesi 24. saate kadar ölçülmüştür. Ekstrenin olası ozmotik müshil etkilerini

değerlendirmek için anestezi uygulanmış sıçanlarda (n= 7) jejunum rastgele 4 cm'lik segmentlere bölünmüş ve her bir bölüme 0.5 mL ekstre, laktuloz veya salin enjekte edilmiştir. Her segmentin içeriğinin hacmi 1 saat sonrasında ölçülmüştür. Bağırsak geçiş süresini değerlendirmek için, ekstre aç sıçanlara ekstre veya plasebo, gavaj yoluyla uygulanmıştır. Son uygulamanın ardından 30 dakika sonra tüm sıçanlara gavaj yoluyla fenol kırmızısı ve metil selüloz (1.5 mL) verilmiştir. Deney grubu ve kontrol grubunda yer alan sıçanlar 4'lü gruplar halinde 30 dakika, 1, 2, ve 4 saat sonra öldürülüp gastrointestinal sistemin çeşitli yerlerindeki fenol kırmızısı miktarları ölçülmüştür. *R. damascena* ekstresi feçes miktarını ve su yüzdesini anlamlı olarak artırmıştır. Ancak bağırsağa geçiş zamanında hiçbir etkisi olmamıştır. Plasebo ile karşılaştırıldığında jejunum segmentlerindeki içerik hacminin ekstre ile birlikte anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. *R. damascena* ekstresinin, sıvıların ozmotik infiltrasyonu ile bağırsaklarda hafif müshil etki gösterdiği belirtilmiştir (24). *R. damascena* kurutulmuş çiçeklerinden hazırlanan ekstrenin köpekler üzerindeki laksatif etkileri araştırılmıştır. Beş grup hayvana (n=5) insanlardaki geleneksel kullanım için önerilen dozun (180 mg/kg) 0.5-8 katı dozlarda *R. damascena* çiçeklerinden hazırlanan haşlanmış ekstre verilmiştir. 6. grupta yer alan hayvanlar (n=4) negatif kontrol grubu olarak seçilmiş ve 12 mL/kg plasebo (distile su) verilmiştir. 7. grupta yer alan (n=4) hayvanlar pozitif kontrol grubu olarak seçilmiş ve günlük 300 mg/kg laktuloz verilmiştir. 10 gün boyunca köpeklerdeki fekal su içeriği ve diyare görülme sıklığı ölçülmüştür. Ayrıca köpeklerin ağırlıkları, EKG değerleri, kalp atım hızları, ateşleri ve solunumları kaydedilmiştir. Ekstrenin doza bağlı olarak diyareye neden olduğu tespit edilmiştir. Fekal su içeriğinde ise anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ekstrenin en yüksek dozda hayvanlarda sedasyon ve hafif kilo kaybına neden olduğu gözlenmiştir. Bu belirtiler haricinde hayvanlarda herhangi başka bir yan etkinin gözlenmediği belirtilmiştir (113).

Gevşetici ve antidepresan etki

Rosa damascena etanollü ekstresinin 4 kümülatif konsantrasyonunun (% 0.25, 0.5, 0.75 ve 1.0 g) ve uçucu yağının (% 0.25, 0.5, 0.75 ve 1.0 h/h) kobay trakeal zincirleri üzerindeki rölaksan etkileri, pozitif kontrol susuz teofilin (0.25, 0.5, 0.75 ve 1.0 mM) ve negatif kontrol salin (1 mL) ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada kullanılacak kobaylar 3 gruba bölünmüşlerdir: Grup 1'de 60 mM KCl ile kasılmış trakeal zincirler, Grup 2'de 10 μM metakolin hidroklorür ile kasılan inkübe edilmemiş trakeal zincirler ve Grup 3'de 1 μM propranolol ve 1 μM klorfeniramin ile inkübe edilmiş dokular incelenmiştir. Grup 1'de uçucu yağın ve teofilinin son iki konsantrasyonu ile etanollü ekstrenin son konsantrasyonu, salin ile karşılaştırıldığında rölaksan etki gözlenmiştir ($p< 0.01–0.001$). Grup 2'de etanollü ekstrenin ve teofilinin yüksek 3 konsantrasyonu ve uçucu yağın tüm konsantrasyonları, salin ile kıyaslandığında doza bağlı olarak rölaksan etki göstermişlerdir ($p< 0.05–0.001$). Bunlara ek olarak % 0.25 ve 0.5 h/h uçucu yağın etkisi teoflin ve etanollü ekstre ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p< 0.01$). Bununla beraber Grup 3'te ekstre ve uçucu yağ anlamlı bir rölaksan etki göstermemiştir. Grup 1 ve Grup 2'deki etanollü ekstre, uçucu yağ ve teofilin konsantrasyonları ve rölaksan etki arasında anlamlı korelasyonlar görülmüştür. Sonuç olarak *R. damascena*'nın kobay trakeal zincirleri üzerinde belirtilen konsantrasyonlarda teofiline kıyasla güçlü bir rölaksan etki gösterdiği belirtilmiştir (114). *R. damascena* kurutulmuş çiçeklerinden hazırlanan % 50 etanollü ekstreden partisyonla elde edilen sulu, etil asetatlı ve *n*-butanollü fraksiyonlar; kobay trakeal düz kasları üzerindeki rölaksan etkileri bakımından incelenmiştir. Salin ve üç kümülatif teofilin konsantrasyonu (0.1, 0.2 ve 0.4 mM) ve fraksiyonlar (% 0.1, 0.2 ve 0.4 g) 60 mM ile KCl (Grup 1, n = 5) ve 10 uM metakolin (Grup 2, n = 8) ile önceden kontrakte edilmiş kobay trakeal zincirleri üzerinde rölaksan etkileri bakımından araştırılmıştır. Grup 1'de, teofilin ve etil asetatlı fraksiyonun tüm konsantrasyonları ve n-butanollü fraksiyonun son iki konsantrasyonu salinle karşılaştırıldığında anlamlı rölaksan etki göstermiştir ($p< 0.05$-0.001). Grup 2'de, teofilin, etil asetatlı ve sulu fraksiyonların tüm konsantrasyonları salinle karşılaştırıldığında konsantrasyona bağlı olarak rölaksan etki göstermiştir ($p<$ 0.01-0.001). Buna ek olarak, etil asetatlı fraksiyonun Grup 1'deki etkisi teofilininkinden anlamlı derecede daha yüksek gözlenmiştir (p <0.05-0.001). Bununla birlikte, diğer fraksiyonların etkileri her iki gruptaki teofilinden anlamlı derecede düşüktür (p <0.01-0.001). Her iki grupta teofilin ve tüm fraksiyonlar (Grup 1'deki sulu fraksiyonlar hariç) için rölaksan etki ile konsantrasyonlar arasında anlamlı korelasyonlar görülmüştür. Sonuç olarak, *R. damascena* etil asetatlı fraksiyonun teofiline kıyasla trakeal düz kasında güçlü rölaksan etki gösterdiği belirtilmiştir (26).

Diğer etkiler

Rosa damascena petallerinden hazırlanan etanollü ekstrenin sıçanlardaki intraabdominal adezyon üzerindeki inhibitör etkisi araştırılmıştır. 30 adet sağlıklı sıçan 3 gruba ayrılmıştır. Grup A'daki sıçanlar % 1'lik, Grup B'deki sıçanlar % 5'lik *R. damascena* ekstresi ile muamele edilecek hayvanlar olarak belirlenmiştir. Grup C kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Anestezi uygulandıktan sonra sıçanların karın duvarları açılmış ve sağ duvar üzerinde 2 cm boyutunda sığ bir kesik yapılmıştır. Daha sonra abdominal duvarın sol tarafından peritoneal yüzeyden 2x2'lik bir kısım çıkarılmıştır ve karın boşluğuna 3 mL % 1'lik ve % 5'lik *R. damascena* ekstresi uygulanmıştır. Kontrol grubuna 3 mL distile su verilmiştir. Karın boşluğu dikilmiş ve 14 gün sonra oluşturulan adezyonlara Canbaz skalasına göre ikinci bir laparotomi yapılmıştır. Histopatolojik incelemeler sonrasında tüm veriler SPSS programı ile değerlendirilmiş ve $p< 0.05$ değeri istatiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir. A grubundaki adezyon miktarı (1.4±1.265) C grubundaki adezyon miktarına (3±0.816) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p= 0.007$). Histolojik incelemelerde A ve C grupları arasında fibrozis ($p= 0.029$) ve enflamasyon ($p= 0.009$) şiddeti arasında anlamlı farklılık gözlenmiş; B grubundaki tüm sıçanlar ölü bulunmuştur. Sonuç olarak % 1'lik *R. damascena* ekstresi kullanımının sıçanlarda laparotomi sonrası intraabdominal adezyonda belirgin bir düşüşe neden olduğu belirtilmiştir (27).

Rosa damascena çiçeklerinden hazırlanan sulu ekstrenin (250 ve 500 mg/kg) nefroprotektif etkisi, gentamisin (80 mg/kg) kaynaklı toksisiteye uğramış albino tavşanlar üzerinde, silimarin (200 mg/kg) ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. 0-21. günler arasında yapılan çalışmada 0., 7., 14. ve 21. günlerde toplanan kan örneklerinin biyokimyasal analizleri standart protokoller ve kit yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar iki yönlü varyans analizi ve Duncan çoklu aralık testi ile değerlendirilmiştir. Gentamisin; serum üre, kreatin ve kan üre azotu düzeylerinde anlamlı bir artışa ve serum albümin düzeylerinde anlamlı bir azalmaya sebep olmuştur ($p\leq 0.01$). Ekstrenin; gentamisin uygulanmamış, gentamisin kaynaklı toksisiteye uğramış ve silimarin uygulanmış kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, 250 ve 500 mg/kg dozlarda sırasıyla doza bağlı olarak serum üre (80 ± 8.37; 56 ± 4.59 mg/dL), kreatin ve kan üre azotu (37.38 ± 3.91; 26.17 ± 2.14 mg/dL) seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe, albümin (0.30 ± 0.30; 0.19 ± 0.19 g/dL) seviyelerinde

istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olduğu gözlenmiştir (25).

2.3.4. *Rosa damascena*'nın *ex vivo* Biyolojik Etkileri

Sindirim sistemi üzerine etki

Rosa damascena petallerinden hazırlanan % 70'lik etanollü ekstrenin Wistar sıçanlardaki ileum kontraksiyonu üzerine etkisi ve olası mekanizmaları araştırılmıştır. 48 adet erkek sıçan 6 gruba ayrılmıştır. Deney gününde sıçanlara kloroform ile anestezi uygulanmış ve ileumun distalinden izole edilen (son 2 cm hariç) segmentler iki paslanmaz çelik kanca arasına *tyrode* solüsyonu içeren doku banyolarına (50 mL) dik olarak yerleştirilmiştir. İleumun KCl uygulaması ile kontraksiyonu sağlanmış ve kontraksiyonların şiddeti artınca organ banyosuna *R. damascena* ekstresinin kümülatif konsantrasyonları (100, 500 ve 1000 mg/kg) eklenmiştir. Ekstrenin ileum üzerindeki etki mekanizmasını anlamak için 1 μM konsantrasyonda propranolol, 1 μM konsantrasyonda nalokson ve 100 μM konsantrasyonda L-NAME (N(ω)-nitro-L-arjinin metil ester) kullanılmıştır. *R. damascena* ekstresinin doza bağlı olarak ileum kontraksiyonlarını azalttığı gözlenmiştir (p> 0.0001). Propranolol ve nalokson, *R. damascena* ekstresinin ileumda oluşturulan KCl kaynaklı kontraksiyonlar üzerindeki inhibisyon etkisini önemli ölçüde azaltırken (p< 0.001), L-NAME anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Aynı zamanda kalsiyum, depolarize dokunun kontraksiyonuna neden olmuş ve bu etki, ekstrenin kümülatif konsantrasyonları ile anlamlı bir şekilde azalmıştır (p< 0.001) (115). *R. damascena* petallerinden hazırlanan % 80'lik etanollü ekstrenin; sıçanlardaki ileum motilitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sıçan ileumunun bir kısmı *tyrode* solüsyonu içeren organ banyosunda süspande edilmiştir. Doku; elektriksel alan stimulasyonu, KCl ve asetilkolin ile stimule edilmiştir. 37 ºC'de 1 g gerilim altında tutulmuş ve sürekli O_2 gazına maruz bırakılmıştır. *R. damascena* ekstresinin ileum kontraksiyonu üzerindeki etkisi atropin ile karşılaştırılarak verilmiştir. *R. damascena* ekstresi (10-100 μg/mL), sıçandan izole edilen ileumda bir kontraksiyon meydana getirirken, 1 mg banyo konsantrasyonunda sıçan ileumu üzerinde rölaksan etkisi olmuştur. *R. damascena* ekstresi (1-8 mg/mL), KCl (IC_{50}= 3.3±0.9 mg/mL), asetilkolin (IC_{50}= 1.4±0.1 mg/mL) ve elektriksel alan stimulasyonu (IC_{50}= 1.5±0.3 mg/mL) kaynaklı ileum kontraksiyonunu konsantrasyona bağlı olarak inhibe etmiştir. Taşıyıcı, ileum kontraksiyonları üzerinde anlamlı bir etki

göstermemiştir. *R. damascena* ekstresinin mikrogram konsantrasyonlarda ileum düz kasında uyarıcı etki yaptığı sonucuna varılmıştır. Ancak miligram konsantrasyonlarda inhibe edici bir etki göstermektedir (116). *R. damascena* çiçeklerinden hazırlanan sulu fraksiyonun, izole kobay ileumlarının kontraksiyonu üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Etil asetatlı ve *n*-butanollü fraksiyonlar uzaklaştırıldıktan sonra etanollü ekstreden bitkinin sulu fraksiyonu elde edilmiştir. Sulu fraksiyonun ileum kontraksiyonu üzerindeki etkisini belirleyebilmek için kobay ileumları çıkartılarak organ banyosuna yerleştirilmiş ve kontraksiyonu kaydedilmiştir. Sulu fraksiyonun çeşitli konsantrasyonlarda (0.66, 0.83 ve 1.3 mg/mL) ileum kontraksiyonu üzerindeki etkisi atropin varlığında/yokluğunda asetilkolin ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. İleumun 1 µg/mL asetilkoline cevabı % 100 yanıt olarak kabul edilmiştir. Sonuç olarak *R. damascena* sulu fraksiyonunun bazal kobay ileum kontraksiyonunu doza bağlı olarak artırdığı gözlenmiştir (p< 0.05-0.001). Fraksiyonun (1.3 mg/mL) maksimum kontraksiyonuna karşılık, asetilkolin % 23.4 değerle maksimum cevabı vermiştir. İleumun sulu fraksiyon ile kontraksiyonu, 0.001 µg/mL atropin varlığında anlamlı olarak azalmıştır (117).

2.3.5. *Rosa damascena* ile Yapılan Klinik Çalışmalar

Aftöz stomatit üzerine etki

Rosa damascena sulu ekstresinden hazırlanan ağız gargarasının, tekrarlayan aftöz stomatit tedavisindeki klinik etkinliğini değerlendirmek amacıyla randomize, çift kör, plasebo kontrollü klinik çalışma yapılmıştır. Deney için kullanılacak gargara, % 0.025 polisorbat, % 2 gliserin, % 0.5 sodyum karboksimetilselüloz, % 0.05 sakarin sodyum ve 20 mL'ye kadar distile su ve aktif madde olarak % 20 *R. damascena* ekstresi ile hazırlanmıştır. Plasebo grubu için hazırlanan gargarada aktif madde haricinde diğer maddeler aynıdır. Bunlara ek olarak rengi aynı yapmak için % 10 karamel ilave edilmiştir. Deney ve plasebo gruplarından; oral hijyen prosedürlerini uyguladıktan sonra verilen 5 mL gargara ile ağızlarını günde 4 kez çalkalamaları istenmiştir. Çalışma kapsamında ağız gargarasının ülserler üzerindeki ağrı, büyüklük ve sayıları bakımından klinik etkinliği 50 hasta üzerinde 2 hafta süreyle plasebo grubu ile karşılaştırmalı olarak 4, 7, 11 ve 14. günlerde değerlendirilmiştir. Başlangıçtaki ülser boyutu, aft sayısı ve ağrı medyan değerleri için iki grup arasında bir fark yokken, 4. ve

7. günlerde deney grubu ile plasebo grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<$ 0.05). Sonuç olarak tekrarlayan aftöz stomatit tedavisinde *R. damascena* ekstresi içeren gargara ile yapılan ağız yıkamasının plaseboya göre daha etkili olduğu rapor edilmiştir (28).

Dismenore üzerine etki

Rosa damascena meyvelerinden hazırlanmış % 70 etanollü ekstreden elde edilen kapsüllerin (200 mg), primer dismenore üzerine etkisi, çift kör çapraz randomize klinik çalışma ile araştırılmıştır. Yaşları 18-24 arasında değişen, vücut kitle indeksi 19-25 arasında olan, görsel analog skalada ağrı şiddeti 5-8 arasında ölçülen, 92 bekar öğrenci seçilmiş ve rastgele iki eşit gruba bölünmüşlerdir. Katılımcılara, aynı fiziksel özelliklere sahip Mefenamik Asit (250 mg) kapsülü ve *R. damascena* kapsülü (200 mg), çaprazlama şeklinde ardışık olarak 3 gün boyunca her 6 saatte bir verilmiştir. Birinci siklusta ilaçlar katılımcılara hangi kapsülü aldığını bilmeksizin rastgele verilmiştir. İkinci siklusta ilaçlar diğeri ile değiştirilerek aynı koşullarda verilmeye devam edilmiştir. Katılımcıların ağrı şiddetleri ilaç uygulamasından önce menstural ağrının olduğu zaman ve ağrı başladıktan sonraki 1-2-3-6-12-24-48-72. saatlerde ölçülmüştür. Veriler demografik özellikler anketi ve görsel analog skala kontrol listesi aracılığıyla toplanmıştır. İki ilacın da gruplardaki dismenore ağrı şiddetinin etkilerini belirlemek ve karşılaştırmak için SPSS programı aracılığıyla tanımlayıcı istatistikler, tekrarlı ölçüm testi ve bağımsız örneklem t testi kullanılmıştır. Her grupta birinci ve ikinci siklusun bitiminden sonra farklı saatlerde yapılan ölçümlerde ağrı şiddeti ortalamaları arasında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<$ 0.001). İki grubun da birinci ($p=$ 0.35) ve ikinci siklustaki ($p=$ 0.22) ağrı şiddetleri ortalamaları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Sonuç olarak *R. damascena* ve Mefenamik asitin primer dismenore ağrı şiddeti üzerine benzer etkileri olduğu gözlenmiştir (29).

Postoperatif ağrı üzerine etki

Rosa damascena meyvelerinin % 70'lik ekstresini taşıyan kapsüllerin elektif sezaryen operasyonları sonrasında oluşan ağrı üzerindeki etkileri çift kör plasebo kontrollü klinik çalışma ile araştırılmıştır. Çalışma için sezaryen uygulanan 92 hasta seçilmiş ve hastalar *R. damascena* ekstresi taşıyan kapsülleri alan deney grubu (Grup

A) ve plasebo grubu (Grup B) olmak üzere iki eşit gruba ayrılmıştır. Grup A'da yer alan hastalara spinal anestezi uygulanmasından 15 dakika öncesinde 400 mg'lık *R. damascena* kapsüllerinden 2 adet verilirken; Grup B'de yer alan hastalara aynı özelliklerde nişasta içeren kapsüller verilmiştir. Operasyon sonrası çeşitli saatlerde görsel analog skala kullanılarak ağrı şiddeti ölçülmüş ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Operasyon sonrası ağrıyı hafifletmek için kullanılan analjeziklerin toplam dozajı ve A grubundaki ağrı şiddeti, B grubundan daha düşük bulunmuştur. Her iki grupta da anlamlı bir yan etki gözlenmemiştir. Emzirmenin başlaması ve yeni doğanlar üzerindeki etkileri her iki grupta da aynı bulunmuştur (118).

Yanıklı hastalarda pansuman sonrası ağrı üzerine aromaterapötik etki

Rosa damascena bitkisinden elde edilen uçucu yağın, yanıkları bulunan hastalarda pansuman sonrası oluşan ağrı üzerindeki aroma terapötik etkileri randomize kontrollü klinik çalışma ile araştırılmıştır. Çalışma için 18-65 yaşları arasında konuşabilen, görme yeteneğine sahip, etkin iletişim kurabilen, ikinci ve üçüncü derece yanıkları olan 50 hasta seçilmiştir. Hastaların birinci ve ikinci gün pansuman odasına girmeden 30 dakika öncesinde başlangıç ağrıları ölçülmüştür. Deney grubundaki hastalara inhalasyon için distile su içerisine 5 damla % 40'lık gül yağı damlatılırken, kontrol grubuna plasebo olarak 5 damla distile su damlatılmıştır. Hastaların pansuman odasından çıktıktan 15 ve 30 dakika sonra ağrı şiddetleri görsel analog skala kullanılarak ölçülmüştür. Veriler SPSS programı vasıtasıyla tanımlayıcı ve çıkarımsal istatistikler kullanılarak değerlendirilmiştir. Pansuman sonrası 15 ve 30. dakikalarda müdahale öncesi ve sonrasındaki ağrı şiddeti ortalamaları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p< 0.001$). Ayrıca, deney grubunda aromaterapi öncesi ve sonrası ağrı şiddetinin azaltılmasında anlamlı bir farklılık da gözlenmiştir ($p< 0.05$). Aynı zamanda, kontrol grubuna kıyasla deney grubunda pansuman sonrası ağrı şiddetinde belirgin bir azalma olduğu belirtilmiştir ($p< 0.05$) (31).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. *Rosa damascena* Mill., Rosae oleum, Rosae aqua Temini

Tez kapsamında Türkiye, İran ve Pakistan kaynaklı 11 *Rosa damascena* Mill. (Gül) numunesi çalışılmıştır. Türkiye kaynaklı numuneler 2016 ve 2017 yıllarında Isparta'dan temin edilmiştir. 2016 yılında çiçeklenme döneminde T.C. Sağlık Bakanlığı, TİTCK, Farmakope birimi aracılığıyla S.S. Gül Gülyağı ve Yağlı Tohumlar Tarım Satış Kooperatifleri Birliği (Gülbirlik) üretim fabrikasından (RD-1), 2017 yılında çiçeklenme döneminde Gülbirlik üretim fabrikasına satış yapan bir üreticiden (RD-11) doğrudan temin edilmiştir. Türkiye dışından temin edilen diğer gül numuneleri Avrupa Farmakope Komisyonu 13/B grubu delegelerinden Dr. Andreas Hoffman ve Dr. Bernhard Klier tarafından sağlanmıştır (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Temin edilen *Rosa damascena* Numuneleri.

Numune	**Kısaltma**	**Lokasyon**	**Batch Number**	**Tedarikçi**
R. damascena-1	RD-1	Isparta	-	T.C. Sağlık Bakanlığı
R. damascena-2	RD-2	İran (Kamu)	-	Eusano GmbH & Co. KG
R. damascena-3	RD-3	İran (Nurabad)	-	Eusano GmbH & Co. KG
R. damascena-4	RD-4	İran	-	Phytos Labor für Analytik von Arzneimitteln GmbH & Co. KG
R. damascena-5	RD-5	İran	152344	Phytolab GmbH & Co. KG
R. damascena-6	RD-6	İran	152067	Phytolab GmbH & Co. KG
R. damascena-7	RD-7	İran	161137	Phytolab GmbH & Co. KG
R. damascena-8	RD-8	İran	1560A15901	Phytolab GmbH & Co. KG
R. damascena-9	RD-9	İran	1690A160308	Phytolab GmbH & Co. KG
R. damascena-10	RD-10	Pakistan	1568A150420	Phytolab GmbH & Co. KG
R. damascena-11	RD-11	Isparta	-	Gül üreticisi*

*: C3 Isparta: Merkez, Yakaören Yaylası, Davraz Dağı etekleri, y. 2000 m.

Uçucu yağ analiz çalışmaları ve MMP inhibitör etki çalışmalarında kullanılacak olan 1 adet yüksek kaliteli gül yağı (RD-TCGY) T.C. Sağlık Bakanlığı, TİTCK, Farmakope Birimi aracılığıyla, 4 farklı ticari gül suyu (RD-TCGS-1, RD-TCGS-2, RD-TCGS-3, RD-TCGS-4) da piyasadan satın alınarak temin edilmiştir.

Tezin ilerleyen kısımlarında anlatımı kolaylaştırmak adına bitkilerin isimleri yerine Tablo 3.1.'de verilen kısaltmaları kullanılacaktır.

3.2. Anatomik ve Morfolojik Çalışmalar

Anatomik ve morfolojik çalışmalar için bitkinin petalleri diğer kısımlarından ayrılmış ve toz edilmeden önce morfolojik olarak hem kabaca hem de stereomikroskop kullanılarak incelenmiştir. Anatomik çalışmalar için petaller toz edilmiş ve incelemeler toz numune üzerinden gerçekleştirilmiştir. Numuneler Kloral hidrat ve Sartur reaktifleri kullanılarak incelenmiştir. Anatomik yapıların fotoğrafları kameralı mikroskop kullanılarak çekilmiş ve belirleyici karakterlerin anatomik çizimleri yapılmıştır.

3.3. Kimyasal Malzemeler

Katı Maddeler

ABTS (2,2-Azino-bis (3-Etilbenztiazolin-6-sulfonik asit) (Sigma), Amonyum molibdat (Sigma), Askorbik asit (Sigma), *β*-karoten (Sigma), BHA (Bütil hidroksi anisol)(Sigma), Bakır 2-klorür ($CuCl_2$) (Sigma), Demir 3-klorür ($FeCl_3$) (Sigma), DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma), Sefadeks (Sigma), Gallik asit (Sigma), İTK Silika jel 60 F_{254} plak (Merck), Kemferol 3-*O*-glukozit (Sigma), N-(l-Naftil) Etilendiamindihidroklorid (Sigma), NaCl, Neokuprin (2,9-Dimetil-1,10-fenantrolin) (Sigma), Potasyum persülfat (Sigma), Potasyum ferrisiyanit ($K_3Fe(CN)_6$) (Sigma), Sodyum nitroprussid dihidrat (Sigma), Trikloroasetikasit (Sigma), Sülfanilamid (Sigma), Naftilendiamin dihidroklorid (Sigma), Troloks (6-Hidroksi-2,5,7,8-Tetrametilkroman-2-karboksilik asit) (Sigma), Urasil (Sigma).

Solvanlar

Asetonitril (HPLC gr.) (Merck) Diklorometan (Sigma), Etanol (Sigma), Etilasetat (Sigma), Fosforik asit (Merck), Kloroform (Sigma), Metanol (HPLC gr.)

(Merck), *n*-butanol (Sigma), *n*-hekzan (Sigma), Asetik asit (Sigma), Formik asit (Sigma).

Enzimler

MMP-1 enzim kiti (Abcam), MMP-2 enzim kiti (Abcam), MMP-3 enzim kiti (Abcam), MMP-8 enzim kiti (Abcam), MMP-9 enzim kiti (Abcam), MMP-13 enzim kiti (Abcam).

Revelatörler

Vanilin/H_2SO_4: Vanilinin derişik sülfürik asitteki %1'lik çözeltisi.

Tamponlar

Amonyum asetat tamponu, Fosfat tamponu, Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS), Sodyum fosfat tamponu.

Diğer kimyasallar

Sülfürik asit (H_2SO_4), Kloralhidrat Reaktifi, Linoleik asit (Sigma), Sartur Reaktifi, Tween 20 (Merck).

3.4. Kullanılan Alet ve Gereçler

Derin dondurucu (-80 °C) : Nuve DF290
Distile ve ultra saf su cihazı : Merck Direct-Q 3UV
Ekstraktör : Dionex ASE100
Etüv : Memmert ULE 500
GC cihazı : Agilent 6890N GC
GC kolon : HP-Innowax (0.25 µmx60 mx0.25 mm)
GC/MS cihazı : Agilent 5975 GC-MSD
Hassas terazi : Shimadzu-AEX 200G
HPLC cihazı : Dionex P 680
HPLC enjeksiyon sistemi : ASI-100 Automated Sample Injector
HPLC dedektör : Dionex UVD340U
HPLC kolonu : ACE 5 C_{18} kolon: (250 mm x 4,6 mm)

HPTLC Örnekleyici	**:** CAMAG Automatic TLC Sampler 4
HPTLC Developman haznesi	**:** CAMAC ADC2
HPTLC Görüntüleme sistemi	**:** CAMAG Reprostar 3
Işık Mikroskobu	**:** Leica DFC320
Kompresör	**:** Herkules 200/10/24 Air Compressor
Kromatografi tankı	**:** Camag (cam küvet, 22x23x8 cm)
Liyofiliztör	**:** Christ Alpha 1-2 LDplus
Manyetik karıştırıcı	**:** Heidolph MR 3001
Mikrodistilasyon cihazı	**:** Eppendorf Microdistiller 5325
Mikropipet	**:** Transferpette
Mikroplaka spektrofotometre	**:** BioTek µQuant
pH metre	**:** Cyberscan 510
Rotavopor	**:** Buchi (Vakum Pompası V-700, V-500, Vakum Kontrol Sistemi V-800, Isıtıcı Banyo B-490)
Spektrofotometre	**:** Bio-Tek µQuant
SPME enjektör	**:** Supelco 57310-U
Termo Çalkalayıcı	**:** Biosan PST 60 HL
Ultrasonik banyo	**:** Transsonic 570
Ultraviyole lamba	**:** Camag UV lamb 4
Vorteks	**:** VELP Scientifica
Stereo mikroskop	**:** Leica ZOOM 2000

3.5. Ekstraksiyon

3.5.1. İzolasyon çalışmaları için ekstraksiyon

Kabaca toz edilen 101.07 g RD-1 petallerinin ekstraktör (Dionex Accelerated Solvent Extractor) kullanılarak metanollü (MeOH) ekstresi elde edilmiştir. Ekstraktör programı 70 °C sıcaklık ve toplama şişesi hacminin % 70'ini dolduracak şekilde ayarlanmış ve iki tekrarlı olacak şekilde çalıştırılmıştır. Elde edilen ekstreler birleştirildikten sonra alçak basınç altında rotavapor yardımıyla kuruluğa kadar uçurulmuş ve tartılmıştır. Sonuç olarak 38.09 g MeOH ekstresi elde edilmiştir (Yüzde verim % 37.68).

Elde edilen metanol ekstresi daha sonra distile suda (H_2O) çözülerek ayırma hunise aktarılmıştır. Üzerine sırasıyla dikolorometan (CH_2Cl_2) ve *n*-butanol (*n*-BuOH) aktarılarak sıvı sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Fazlar ayrı ayrı toplanmış ve rotavapor kullanılarak alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulmuştur. Elde edilen ekstreler bir miktar distile suda çözülüp dondurulduktan sonra liyofilize edilmiştir. İzolasyon çalışmalarına liyofilize *n*-BuOH ekstresi ile devam edilmiştir.

Tez kapsamında İTK, HPTLC ve HPLC yöntemlerinde işaretleyici (biomarker) bileşiklerin izole edilmesi amaçlanmıştır.

3.5.2. İTK, HPTLC ve HPLC çalışmaları için ekstraksiyon

İnce tabaka kromatografisi (İTK), yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (HPTLC) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) çalışmalarında kullanılmak üzere hazırlanan bitki ekstreleri ve şahit madde çözeltilerinin hazırlanması, sırasıyla İTK yöntem optimizasyonu (Bkz. 3.6.2.), HPTLC yöntem optimizasyonu (Bkz. 3.6.3.) ve HPLC yöntem optimizasyonu (Bkz. 3.6.4.) bölümlerinde ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

3.5.3. Biyolojik etki çalışmaları için ekstraksiyon

Biyolojik etki çalışmalarında kullanılmak üzere Isparta gülünün (RD-1) petallerinden 5 farklı ekstre hazırlanmıştır. Bunun için ayrı ayrı 5'er g gül petali kabaca parçalanmış ve ekstraktör (Dionex Accelerated Solvent Extractor) hücresine yerleştirilmiştir. Ekstraktör programı 70 °C sıcaklık ve toplama şişesi hacminin % 70'ini dolduracak şekilde ayarlanmış ve iki tekrarlı olacak şekilde çalıştırılmıştır. İşlem her numune için iki kez tekrar edilmiştir. Bu yöntemle güllerden *n*-hekzan (*n*-hkzn), diklorometan (CH_2Cl_2), etil asetat (EtOAc), etanol (EtOH) ve Etanol:Su (70:30) (% 70 EtOH) ekstreleri hazırlanmıştır.

İran ve Pakistan kaynaklı (RD-2 - RD-10) diğer güllerin aynı yöntemle % 70'lik etanollü ekstreleri hazırlanmıştır.

3.6. Fitokimyasal ve Analitik Çalışmalar

3.6.1. İşaretleyici (Biomarker) Bileşiklerin İzolasyonu

İzolasyon çalışmaları, Isparta gölünün (RD-1) *n*-BuOH ekstresi üzerinde gerçekleştirilmiştir. İTK, HPTLC ve HPLC sistemlerinde yapılan ön çalışmalarla iki majör bileşik işaretleyici olarak belirlenmiştir.

12.50 g *n*-BuOH ekstresi Etil asetat:Formik asit:Asetik asit:Su (EtOAc:HCOOH:CH_3COOH:H_2O) (100:5:5:3) ile hazırlanan silika jel kolona yaş olarak tatbik edilmiş ve fraksiyonlar toplanmıştır. İlk 4 ana fraksiyon toplandıktan sonra solvan sistemi EtOAc:HCOOH:CH_3COOH:H_2O (100:8:8:5) olarak değiştirilmiş ve en son metanol ile kolon yıkanarak bitirilmiştir (Tablo 3.2.).

Tablo 3.2. Silika jel kolon sistemi.

Kolon Boyutu:	85 cm
Kolon çapı:	3.5 cm
Maddenin kolona tatbiki:	Yaş tatbik
Fraksiyon tüpleri:	Fraksiyonlar 20 mL'lik tüplerin 15 mL'si dolacak şekilde toplanmıştır.
Kullanılan Silikajel Miktarı:	340 gr.
Kullanılan Solvan sistemleri:	➢ EtOAc:HCOOH:CH_3COOH:H_2O (100:5:5:3) ➢ EtOAc:HCOOH:CH_3COOH:H_2O (100:8:8:5) ➢ MeOH (100)
Harcanan Solvan Miktarı:	2.360 Lt.

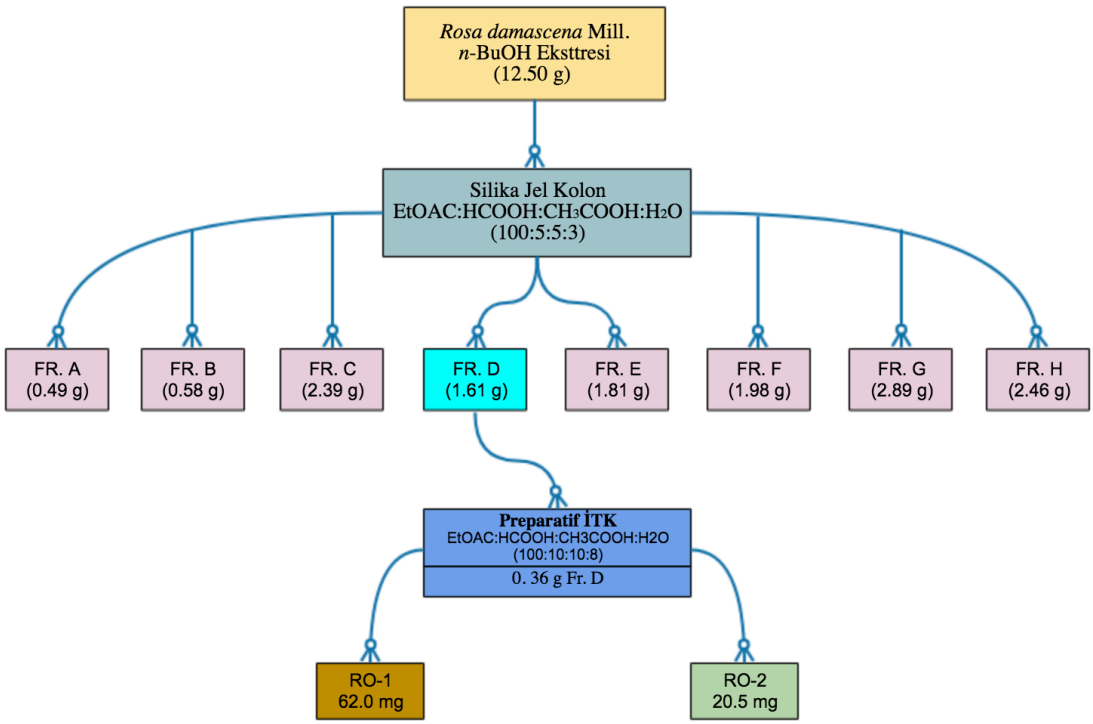
Toplanan fraksiyonların kontrolleri İTK'da EtOAc:HCOOH:CH_3COOH:H_2O (100:5:5:3) solvan sistemi kullanılarak yapılmış ve benzer fraksiyonlar birleştirilmiştir. Sonuç olarak 8 alt fraksiyon (Fr. A → Fr. H) elde edilmiştir. Preparatif İTK çalışmalarına Fr. D ile devam edilmiştir.

0.3615 g. Fr. D tartılıp bir miktar metanolde çözülmüştür. Daha sonra İTK plağına 100 µL'lik mikropipet ile tatbik edilmiştir. Plağın alt tarafından 2.5 cm, kenarlarından 1 cm boşluk bırakılmıştır. Sürüklenme mesafesi yaklaşık 17 cm olacak şekilde belirlenmiştir. Sürükleme için EtOAc:HCOOH:CH_3COOH:H_2O (100:10:10:8) solvan sistemi kullanılmıştır. Solvan sistemi 100 mL olacak şekilde kromatografi tanklarına konulmuştur (Tablo 3.3.). İşaretlenen bantlar ince uçlu bir spatula yardımıyla kazınmış ve metanol içerisinde çözüldükten sonra süzülmüştür. Buna ek olarak, süzüntüye silika jel geçmiş olabileceği düşünülerek süzüntü küçük bir sefadeks kolondan geçirilmiştir. Bu şekilde bileşikler saf olarak elde edilmiştir.

Tablo 3.3. Preparatif İTK sistemi

İTK plağı	20 x 20 cm
Maddenin plağa tatbiki	Mikropipet ile ince çizgi tatbik
Solvan sistemi	EtOAc:HCOOH:CH_3COOH:H_2O (100:10:10:8)
Solvan sistemi miktarı	Her tank için 100 mL
Sürüklenme mesafesi	Yaklaşık 17 cm
Başlangıç (Start) noktası	2.5 cm
Bitiş (Front) noktası	Plak sonuna 0.5 cm kala
Plak kenar boşlukları	1 cm

Şekil 3.1.'de *Rosa damascena* petallerinden elde edilen *n*-BuOH ekstresinden hareketle gerçekleştirilen izolasyonun şeması yer almaktadır.



Şekil 3.1. *Rosa damascena* petal *n*-BuOH ekstresi izolasyon şeması.

Preparatif İTK sonucu izole edilen bileşiklerin yapıları standart maddelerle HPLC'de karşılaştırılarak tespit edilmiştir. Bölüm 3.6.4.'te anlatılan HPLC sistemine bileşikler ve standart maddeler ayrı ayrı tatbik edilerek kromatogramları elde edilmiştir. Bileşiklerin kromatogramları ve alıkonma zamanları karşılaştırılmıştır. Buna ek olarak bileşiklerin yapılarının doğruluğunu ispatlamak amacıyla standart ekleme yöntemi uygulanmıştır.

3.6.2. İTK Yöntem Optimizasyonu

İTK yöntem optimizasyonu yapılabilmesi için birçok farklı çözücü sistemi, farklı ekstraksiyon yöntemleri ve farklı standartlar denenmiştir. Burada amaç hızlı, kolay uygulanabilir ve ucuz bir yöntem belirleyebilmek ve aynı zamanda HPTLC sisteminde uygulanacak olan yöntem için de ön çalışma yapmaktır (Tablo 3.4 - Tablo 3.6.).

Tablo 3.4. İTK yöntem optimizasyonu için denenen ekstraksiyon yöntemleri.

Yöntem-1	1 gram gül petali kabaca toz edilip 100 mL hacimli balon içerisine koyulmuştur. Üzerine 20 mL çözücü* eklenerek 45 dk boyunca 40 °C sıcaklıkta su banyosunda karıştırılarak ekstre edilmiştir.
Yöntem-2	1 gram gül petali kabaca toz edilip 100 mL hacimli balon içerisine koyulmuştur. Üzerine 20 mL *n*-hekzan eklenerek 45 dk boyunca 40 °C sıcaklıkta su banyosunda karıştırılarak lipofilik bileşiklerin *n*-hekzana geçmesi amaçlanmıştır. *n*-hekzan uzaklaştırıldıktan sonra drog üzerine 20 mL çözücü* eklenerek 45 dk boyunca sıcak su banyosunda karıştırılarak ekstre edilmiştir.
Yöntem-3	0.5 gram gül petali kabaca toz edilip 50 mL hacimli balon içerisine koyulmuştur. Üzerine 10 mL çözücü* eklenerek 10 dk boyunca 40 °C sıcak su banyosunda karıştırılarak ekstre edilmiştir.
Yöntem-4	1 gram gül petali kabaca toz edilip 100 mL hacimli erlen içerisine koyulmuştur. Üzerine 20 mL çözücü* eklenerek 10 dk boyunca 40 °C ultrasonik su banyosunda bekletilerek ekstre edilmiştir.
Yöntem-5	0.5 gram gül petali kabaca toz edilip 100 mL hacimli kapaklı erlen içerisine koyulmuştur. Üzerine 15 mL çözücü* eklenerek oda ısısında kuvvetlice çalkalanarak ekstre edilmiştir.
Yöntem-6	0.5 gram gül petali kabaca toz edilip 100 mL hacimli erlen içerisine koyulmuştur. Üzerine 10 mL çözücü* eklenerek 10 dk boyunca 40 °C sıcak su banyosunda karıştırılarak ekstre edilmiştir.

*Kullanılan farklı çözücü sistemleri (MeOH, EtOH, % 70 EtOH, Propanol:MeOH (1:1), Aseton)

Tablo 3.5. İTK yöntem optimizasyonu için denenen hareketli faz çözücü sistemleri.

Kısaltma	Hareketli faz	Oran
ÇS-1	Gl.AcOH:EtOAc:Skl.hkzn	2:38:60
ÇS-2	$CHCl_3$:MeOH:H_2O	70:30:3
ÇS-3	Toluen:EtOAc:AcOH	60:40:1
ÇS-4	EtOAc:HCOOH:Gl.AcOH:H_2O	100:11:11:10
ÇS-5	EtOAc:HCOOH:Gl.AcOH:H_2O	100:10:10:8
ÇS-6	EtOAc:HCOOH:Gl.AcOH:H_2O	100:11:11:27
ÇS-7	EtOAc:HCOOH:Gl.AcOH:H_2O	100:5:5:3
ÇS-8	EtOAc:MeOH:H_2O	100:17:13
ÇS-9	EtOAc:Gl.AcOH:H_2O	88:6:6
ÇS-10	*n*-BuOH:Gl.AcOH:H2O	4:1:2

Tablo 3.6. İTK yöntem optimizasyonu için denenen standart maddeler.

Kısaltma	Standart Madde
STD-1	Gallik asit
STD-2	Rutin
STD-3	Kersetin 3-*O*-galaktozit
STD-4	Kersetin 3-*O*-glukozit
STD-5	Kersetin 3-*O*-ramnozit
STD-6	Kersetin 3-arabinopiranozit
STD-7	Kemferol
STD-8	Kemferol 3-*O*-galaktozit
STD-9	Kemferol 3-*O*-glukozit
STD-10	Kemferol 3-*O*-ramnozit

Optimizasyon çalışmalarında en uygun sürüklenme mesafesini belirleyebilmek için 70-95 mm arasında sürüklenme mesafeleri denenmiştir. En uygun enjeksiyon hacmini belirleyebilmek için 5 µL, 10 µL ve 15 µL olacak şekilde tatbikler uygulanmıştır. Tespit 254 nm, 366 nm dalga boylarında, görünür ışıkta ve vanilinin sülfürik asit içerisindeki % 1'lik çözeltisi püskürtülüp 100 °C de 3 dakika ısıtıldıktan sonra görünür ışıkta yapılmıştır.

3.6.3. HPTLC Yöntem Optimizasyonu

HPTLC yöntem optimizasyonu daha önceden optimize edilmiş İTK yöntemi üzerinde küçük değişiklikler yapılarak geliştirilmiştir. Farklı enjeksiyon hacimleri (1 µL, 5 µL, 10 µL ve 15 µL) ve sürüklenme mesafeleri (70-95 mm) denenerek en iyi ayrımın gözlendiği sistem belirlenmiştir. HPTLC sisteminde hareketli faz ve şahit madde olarak daha önce optimize edilmiş İTK yönteminde belirlenen çözücü sistemi ve standartlar kullanılmıştır (Tablo 3.7.).

Tablo 3.7. HPTLC koşulları.

Örnekleyici	CAMAG Automatic TLC Sampler 4
Developman haznesi	CAMAC ADC2
Doygunluğa ulaşma süresi	20 dk
Görüntüleme sistemi	CAMAG Reprostar 3
Ekstraksiyon Yöntemi	Yöntem-6 (Bkz. Tablo 3.4.)
Sabit faz	Silica gel 60 F_{254} cam plakalar 10 x 20 cm
Hareketli faz	ÇS-4 (Bkz. Tablo 3.5.)
Sıcaklık	Oda Sıcaklığı
Tespit	254 nm, 366 nm, püskürtme sonrası görünür ışık*

*: Vanilinin sülfürik asit içerisindeki % 1'lik çözeltisi püskürtülüp 100 °C de 3 dakika ısıtıldıktan sonra görünür ışıkta inceleme yapılır.

3.6.4. HPLC Çalışmaları

HPLC Yöntem Optimizasyonu

Kolon Temizliği ve Başlangıç Koşullarına Şartlandırma

HPLC sistemi ile çalışılmaya başlamadan önce Metanol:Deiyonize su (95:5) karışımı ile kolon 30 dakika süreyle yıkanarak temizlenmiştir. Daha sonra kolon kademe kademe başlangıç koşullarına getirilmiş ve taban çizgisindeki gürültü en az oluncaya kadar başlangıçta uygulanacak olan solvan sistemi geçirilmiştir. Sistem başlangıç koşullarına şartlandırıldıktan sonra analize başlanmıştır. Analiz yapılan her günün sonunda kolon tekrar yıkanarak temizlenmiştir.

Yöntem Optimizasyon Çalışmaları

En iyi, hızlı ve güvenilir ayrım sağlayan HPLC yönteminin geliştirilmesi için tüm koşullar optimize edilmiştir. En sağlam ve tutarlı yöntemi belirleyebilmek için 52 farklı sistem denenmiştir. Farklı oranlarda Asetonitril:Su veya Metanol:Su solvan sistemlerinin hareketli faz olarak kullanıldığı sistemlerde farklı izokratik ve gradient yöntemler denenmiştir. Optimum sıcaklığın belirlenebilmesi için 20-30 °C arasında yöntemler denenmiş ve optimum sıcaklık tespit edilmiştir. Akış hızı için 0.5-2 mL/dk aralıklarında denemeler yapılmış ve ayrımın en iyi olduğu akış hızı tespit edilmiştir. Optimum enjeksiyon hacminin belirlenebilmesi için 5-200 µL arasında denemeler yapılmış ve en tutarlı enjeksiyon hacmi belirlenmiştir. Piklerin en keskin gözlendiği dalga boyunun belirlenebilmesi için 225-470 nm arasında analizler gerçekleştirilmiş ve optimum dalga boyu tespit edilmiştir. Analiz süresi 21-180 dk arasında değişen farklı sistemlerde denenmiş ve en iyi ayrımın gerçekleştiği en kısa analiz süresi tespit edilmiştir.

HPLC Analizi

Analizde kullanılacak olan test çözeltisinin hazırlanması için *Rosa damascena* petalleri kabaca toz edilmiş ve 1.00 g tartılarak 50 mL'lik yuvarlak altlı balon içerisine konulmuştur. Üzerine 25 mL *metanol R* eklenmiş ve rotavapor yardımıyla 40 °C sıcaklıkta su banyosunda 30 dakika döndürülerek ekstre edilmiştir. Ekstre süzülerek alındıktan sonra aynı işlem 25 mL *metanol R* eklenerek 15 dakika süreyle tekrar

edilmiştir. Süzüntüler birleştirilip 50 mL'lik balon jojeye aktarılmış ve kayıp varsa *metanol R* eklenerek 50 mL'ye tamamlanmıştır.

Yöntemde kullanılmasına karar verilen şahit maddelerin çözeltileri şu şekilde hazırlanmıştır:

Şahit madde çözeltisi (a): 5.0 mg *kemferol-3-O-galaktozit R* bir miktar *metanol R* içerisinde çözülür ve 50 mL'ye seyreltilir. Bu çözeltinin 5.0 mL'si bir balon jojeye alınır ve üzerine 5 mL *metanol R* eklenir.

Şahit madde çözeltisi (b): 5.0 mg *kemferol-3-O-glukozit R* bir miktar *metanol R* içerisinde çözülür ve 50 mL'ye seyreltilir. Bu çözeltinin 5.0 mL'si bir balon jojeye alınır ve üzerine 5 mL *metanol R* eklenir.

Analiz için kullanılan ekipmanlar ve optimize edilmiş yöntemin detayları aşağıdaki tabloda özetlenmiştir:

Tablo 3.8. *Rosa damascena* petallerinden elde edilen metanol ekstresinin ayrımı için kullanılan HPLC yöntemi.

HPLC Cihazı	Dionex P 680
Yazılım	Chromoleon Client 6.80
Enjeksiyon	ASI-100 Automated Sample Injector
Dedektör	Dionex UVD340U
Kolon	ACE 5 C_{18} kolon: Boyut: l = 0.25 m, Ø= 4.6 mm, Sabit faz: ucu kapatılmış kromatografi için oktadesilsilil silika jel R (5 µm); Sıcaklık: 25 ^{o}C
Hareketli Faz	- *Hareketli faz A: fosforik asit R* ile pH 'sı 2.5'e ayarlanmış 650 mL *deiyonize su R* ve 350 mL *metanol R* karışımı - *Hareketli faz B: fosforik asit R* ile pH 'sı 2.5'e ayarlanmış 500 mL *deiyonize su R* ve 500 mL *metanol R* karışımı
Enjeksiyon hacmi	10 µl
Akış hızı	1.2 mL/dk
Analiz süresi	40 dk
Tespit	330 nm'de spektrofotometrede

Geliştirilen yöntemde hareketli faz Tablo 3.9.'da verilen basamaklı gradient elüsyon şeklinde uygulanmıştır.

Tablo 3.9. *Rosa damascena* petallerinden elde edilen metanol ekstresinin ayrımı için geliştirilen HPLC yönteminde basamaklı gradient elüsyon sistemi.

	Zaman (dk)	**Hareketli Faz A (yüzde *V/V*)**	**Hareketli Faz B (yüzde *V/V*)**
Gradient Program	0-10	85 → 75	15 → 25
	10-13	75 → 68	25 → 32
	13-18	68 → 60	32 → 40
	18-20	60 → 48	40 → 52
	20-22	48 → 40	52 → 60
	22-24	40 → 35	60 → 65
	24-25	35 → 35	65 → 65
	25-30	35 → 05	65 → 95
	30-35	05 → 05	95 → 95
	35-36	05 → 85	95 → 15
	36-40	85 → 85	15 → 15

HPLC Yönteminin Validasyonu

Geliştirilen yöntemin geçerliliğinin ispatlanabilmesi için *The International Conference on Harmonisation* (ICH) tarafından önerilen validasyon parametreleri baz alınarak sistem uygunluk testleri, kararlılık, doğrusallık, duyarlılık, doğruluk, kesinlik, özgünlük, sağlamlık başlıkları altında çalışmalar yürütülmüştür (119). Yöntem validasyonu için optimize edilen HPLC sisteminde şahit madde olarak kemferol 3-*O*-glukozit (K3GLU) kullanılmıştır.

Sistem Uygunluk Testi

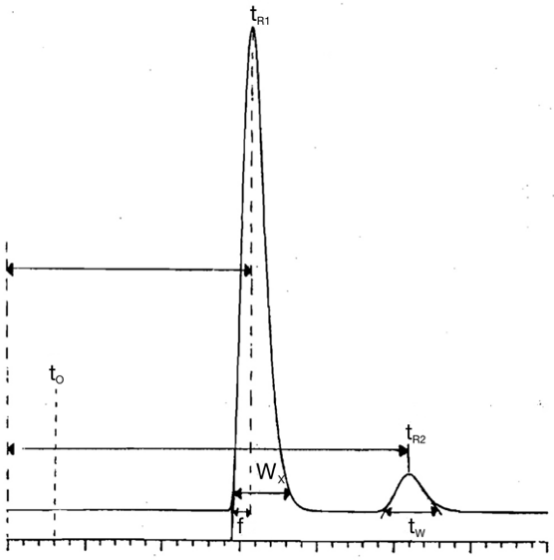
Sistem uygunluğu enjeksiyon kesinliği, kapasite faktörü, ayırıcılık, pik asimetrisi ve teorik tabaka sayısı incelenerek değerlendirilmiştir. Sistem uygunluk testi için aynı standart çözeltinin on tekrarlı enjeksiyonu sonucunda elde edilen veriler kullanılmıştır. Analiz sonunda elde edilen değerler Tablo 3.10.'da özetlenen sınır değerler ile karşılaştırılarak sistem uygunluğu test edilmiştir (119–121).

Tablo 3.10. Sistem uygunluk testleri için sınır değerler.

Test edilen parametre	**Sınır değerler**
Enjekiyon kesinliği	Bağıl Standart Sapma (BSS) ≤ % 1, n ≥ 5
Kapasite faktörü (k')	k' > 2
Ayırıcılık	$R_s > 2$
Pik asimetrisi	$A_s \leq 1.5$
Teorik tabaka sayısı	N > 2000

n = enjeksiyon sayısı

Sistem uygunluk testlerinde kullanılan parametrelerin hesaplamaları aşağıda ifade edildiği şekilde yapılmıştır (Şekil 3.2.) (120,121).



W_x: pik yüksekliğinin tabandan % 5 veya % 10 olan pik genişliği
f: Wx alanındaki doruk noktası ve pik önü arasında kalan mesafe
t_o: ölü hacim
t_R: analitin alıkonma zamanı
t_w: pik taban genişliği

Şekil 3.2. Sistem uygunluk parametreleri hesaplarında kullanılan ölçütler.

Enjeksiyon kesinliği; pik alanlarının % BSS değerleri hesaplanarak ifade edilmiştir. Enjeksiyonun tekrarlanabilirliğinin ispatlanabilmesi için enjeksiyon sayısının (n) ≥ 5 olduğu durumlarda BSS'nin ≤ % 1 olması beklenir.

Kapasite faktörü (k'); alıkonma zamanı (t_R) ile ölü hacim (t_o) arasındaki farkın ölü hacme (t_o) bölünmesi ile elde edilir. Aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak hesaplanır ve kapasite faktörünün k' > 2 olması beklenir (Bkz. Şekil 3.1.).

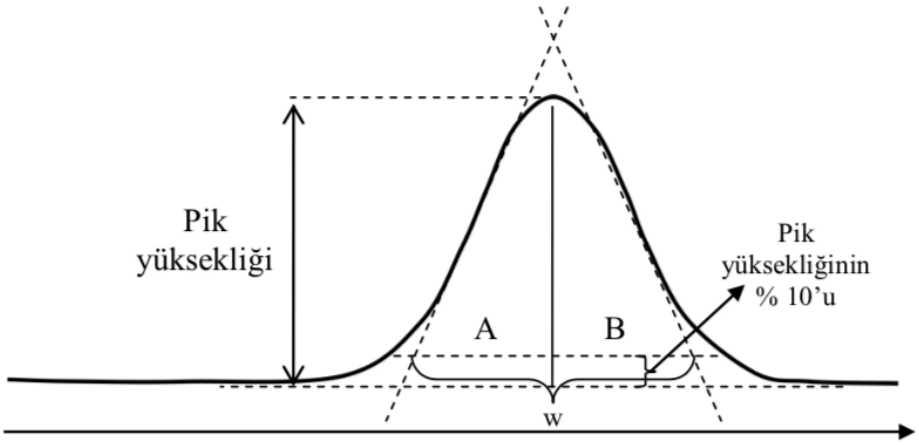
$$k' = (t_R - t_0)/t_0$$

Ayırıcılık (R_s); iki pik arasındaki ayrımın ne kadar iyi derecede yapıldığının bir ölçütüdür. Aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak hesaplanır ve ayırıcılığın $R_s > 2$ olması beklenir (Bkz. Şekil 3.1.).

$$Rs = (t_{R2} - t_{R1}) / (1/2) (t_{W1} + t_{W2})$$

Pik asimetri oranı (A_s); pik yüksekliğinin %10'luk kısmında ölçülen bir değerdir. Aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak hesaplanır ve pik asimetri oranının $A_s \leq 1.5$ olması beklenir (Şekil 3.3.).

$$As = b / a$$



Şekil 3.3. Pik asimetri oranının hesaplanması.

Teorik tabaka sayısı (N); kolon verimliliğinin bir ölçüsü olup kromatogramda birim analiz zamanı başına kaç pik bulunabileceğinin bir göstergesidir. Aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak hesaplanır ve teorik tabaka sayısının $N > 2000$ olması beklenir (Şekil 3.1.).

$$N = 16 (t_R - t_W)^2$$

Kararlılık

Optimize edilmiş yöntemde K3GLU standart maddesinin kısa dönem kararlılığını test etmek için stok çözeltiden hazırlanan 50 µg/mL konsantrasyondaki çözeltinin tazeyken analizi gerçekleştirilmiş ve ardından numuneler 24 saat süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. 24 saat sonunda çözeltinin tekrar analizi yapılmış sonuçlar taze bitkiden elde edilen çözelti sonuçları ile % BSS değerleri üzerinden karşılaştırılmıştır. Analizler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

K3GLU standart maddesinin uzun dönem kararlılığını test etmek için 4 ^oC'de saklanan stok çözeltiden hazırlanan çözeltiler 2 ay süreyle çeşitli zaman aralıklarında teste tabi tutulmuş ve sonuçlar taze bitki materyali ile % BSS değerleri üzerinden karşılaştırılmıştır. Farklı zaman dilimlerinde 24 farklı analiz gerçekleştirilmiştir.

Doğrusallık

Doğrusallık parametresinin belirlenebilmesi için K3GLU standart maddesinin stok çözeltisinden 10 farklı konsantrasyonda (4 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL, 50 µg/mL, 60 µg/mL, 70 µg/mL, 80 µg/mL, 90 µg/mL) çözelti hazırlanmış ve her konsantrasyon için 6'şar kez analiz yapılmıştır. Çıkan sonuçların ortalaması alınarak konsantrasyona karşı pik alanları grafiğe geçirilmiş ve kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Kalibrasyon eğrisi kullanılarak regresyon denklemi ve korelasyon kat sayısı hesaplanmıştır. Yöntemin doğrusallığı istatiksel olarak ANOVA testi kullanılarak regresyon analizi ile kontrol edilmiştir.

Duyarlılık

Teşhis sınırı (limit of detection-LOD) ve tayin alt sınırı (limit of quantification-LOQ) değerleri sinyal / gürültü (S/G) oranlarının hesaplanması ile bulunur. LOD değeri 3 x (S/G); LOQ değeri 10 x (S/G) eşitliklerinden yararlanılarak bulunur. LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanabilmesi için K3GLU standart maddesı 0.20 - 5 µg/mL aralığında artan konsantrasyonlarda sisteme verilmiş ve S/G oranları hesaplanmıştır. S/G oranları üç farklı şekilde hesaplanabilmektedir. Doğrusallık parametresinden elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak veya analiz sonucu elde edilen kromatogramlardan yararlanılarak hesaplanabileceği gibi doğrudan HPLC cihazının yazılımı tarafından otomatik olarak hesaplanan değer kullanılarak da verilebilmektedir.

Doğruluk

Doğruluk parametresinin hesaplanabilmesi için bitki ekstresine doğrusallık aralığına giren K3GLU standart maddesinin üç farklı konsantrasyonu (10 µg/mL, 20 µg/mL ve 30 µg/mL) eklenmiş ve % geri kazanım değerleri belirlenmiştir.

Kesinlik

Kesinlik çalışmaları için ilk olarak cihaz enjeksiyon tekrarlanabilirliği test edilmiştir. 50 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan K3GLU için aynı çözeltiden 10

enjeksiyon yapılmış ve sonuçlar pik alanlarının standart hatası (SH), standart sapması (SS) ve % BSS'sı şeklinde verilmiştir.

Yöntemin kesinliğinin test edilebilmesi için optimize edilen yöntemde K3GLU için doğrusallık aralığına giren üç farklı konsantrasyon (20 µg/mL, 50 µg/mL ve 80 µg/mL) 6 farklı seride hazırlanmış ve bu numuneler kullanılarak gün içi ve günler arası analizler yapılmıştır. Sonuçlar pik alanlarının SS ve BSS değerleri şeklinde verilmiştir.

Sağlamlık

Yöntemin sağlamlığının test edilebilmesi için belirlenen optimum koşullar üzerinde küçük değişiklikler yapılmış ve analiz sonuçlarına etki edip etmediği araştırılmıştır. Bu amaçla belirlenen yöntemin akış hızı, kolon sıcaklığı, hareketli faz pH'sı ve dedektör dalga boyunda ufak değişiklikler yapılarak sistem üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

3.7. Uçucu yağ elde edilmesi ve analizi

3.7.1. Mikrodistilasyon

Kabaca parçalanan gül petalleri (~500 mg) numune tüpüne konulmuş ve üzerine 10 mL distile su eklenmiştir. Yağ toplama tüpüne oluşabilecek emülsiyonu kırmak için 2.0 g NaCl eklenip üzerine 0.5 mL distile su ilave edilmiştir. Daha sonra tüpe uçucu bileşenleri tutması için 300 µL *n*-hekzan eklenmiştir. Numune tüpü sıcaklık artışı 20 °C/dk olacak şekilde 108 °C sıcaklığa kadar ısıtılmış ve 90 dk süreyle bu sıcaklıkta tutulmuştur. Daha sonra 20°C/dk artışla sıcaklık 112°C ye çıkartılmış ve bu sıcaklıkta 30 dakika tutulmuştur. Bu işlemlerden sonra sistem 6 dakika daha bu sıcaklıkta bekletilmiş ve distilasyon işlemi tamamlanmıştır. Toplama tüpünün olduğu hücre distilasyon süresi boyunca –1 °C sıcaklıkta tutulmuştur. Uçucu bileşenlerin miktarlarını artırmak için işlemler 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir (122). Distilasyon işlemi tamamlandıktan sonra yağ toplama tüpündeki hekzan fazı ayrılarak alınmış ve eşzamanlı olarak GC ve GC/MS analizleri yapılmıştır.

Mikrodistilasyon (MD) ile uçucu bileşikleri elde edilen bitki numuneleri ve miktarları Tablo 3.11.'de verilmiştir.

Tablo 3.11. Mikrodistilasyon ile uçucu bileşikleri elde edilen numuneler.

Numune	Bitki Miktarı (g)	Durum
RD-1 Kuru	1.025	Kuru
RD-1 Dond.*	1.820	Dondurulmuş
RD-2 Kuru	1.124	Kuru
RD-3 Kuru	1.211	Kuru
RD-4 Kuru	1.098	Kuru
RD-11 Kuru	1.016	Kuru

*: Taze bitki materyali 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmıştır.

3.7.2. Hidrodistilasyon

5 farklı *Rosa damascena* bitkisinin petallerinden hidrodistilasyon (HD) yöntemi ile uçucu yağ elde edilmiştir. Tablo 3.12.'de isimleri ve miktarları verilen gül petallerinden uçucu yağlar aşağıda belirtilen uygulamalarla elde edilmiştir:

500 g taze Isparta gülünün (RD-11) petalleri diğer kısımlarından ayrılıp 4 L'lik cam balona aktarılmış ve üzerine 1250 mL distile su ilave edilmiştir. Uçucu yağ Clevenger apareyi kullanılarak 3 saat süren HD sonucu elde edilmiştir. 15 mL yağ altı suyu (gül suyu) da katı faz mikroekstraksiyon (SPME) yönteminde ve MMP enzim aktivitelerinde kullanılmak üzere ayrılmıştır. Distilasyon sonunda kalan posa suyundan da 15 mL MMP enzim aktivitesi çalışmaları için ayrılmıştır.

Diğer gül petalleri Tablo 3.12.'de belirtilen miktarlarda 1 L'lik cam balonlara aktarılmıştır. Üzerlerine 500 mL distile su ilave edilmiş ve uçucu yağ Clevenger apareyi kullanılarak 3 saat süren su distilasyonu sonucu elde edilmiştir. 15'er mL gül suyu da SPME yönteminde ve MMP enzim aktivitelerinde kullanılmak üzere ayrılmıştır.

Tablo 3.12. Uçucu bileşiklerin analizinde kullanılan numuneler ve yüzde verimleri.

Numune	Bitki Miktarı (g)	Durumu	Uçucu yağ miktarı (mg)	% Verim
RD-1 Kuru	9.03	Kuru	1.72	0.019
RD-1 Dond.	22.46	Dondurulmuş	4.8	0.021
RD-2 Kuru	9.88	Kuru	1.17	0.012
RD-3 Kuru	9.93	Kuru	1.21	0.012
RD-4 Kuru	9.37	Kuru	1.30	0.014
RD-11 Kuru	9.87	Kuru	1.68	0.017
RD-11 Taze	500	Taze	122.9	0.025

Elde edilen uçucu yağlar/bileşikler GC ve GC/MS analizleri tamamlandıktan sonra farklı konsantrasyonlarda hazırlanarak MMP enzim aktivitesi için kullanılmıştır.

3.7.3. Katı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemi (SPME)

Katı faz mikroekstraksiyon yönteminde gül sularında, 15 dk. süreyle tepe boşluğu (headspace-HS) yöntemi uygulanmıştır. Fiberde adsorban olarak 65 µm kalınlığında Polidimetilsiloksan/Divinilbenzen (PDMS/DVB) kullanılıp adsorbe edilen uçucu bileşenler GC/MS ile analiz edilmiştir.

Örnekler flakon içerisine konulup üzeri parafilm ile kapatılmıştır. İşlem öncesinde fiber kaplı SPME enjektörünün adsorbanı (Supelco 57310-U) GC'de birkaç dakika temizlenmiştir. 50 °C'ye ayarlanan ısıtıcı üzerinde flakonun içerisine, örneğe temas etmeyecek şekilde enjektörün ucu daldırılıp fiber kaplı kısmı tepe boşluğunda 15 dk bekletilmiştir. Fiber kısım çekilip flakondan çıkarıldıktan sonra GC'nin enjeksiyon portuna yerleştirilmiş ve fiber indirilerek optimum ısıl dezorpsiyonun gerçekleşmesi için 5-10 dakika enjektörde tutulmuş ve GC/MS sisteminde analiz gerçekleştirilmiştir.

3.7.4. Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (GC/MS) ile uçucu yağların kimyasal analizi

Hidrodistilasyon ve mikrodistilasyon sonucu elde edilen numunelerin GC ve GC/MS sistemi ile eş zamanlı olarak analizleri gerçekleştirilmiştir. SPME yöntemi ile elde edilen numunelerin GC/MS sistemi ile analizleri yapılmıştır.

GC sisteminde FID dedektörü ile tespit edilen bileşiklerin bağıl yüzdeleri belirlenmiştir. GC/MS sistemi ile bileşenlerin kütle spektrumları alınmıştır. Değerlendirme işlemleri "Başer Uçucu Yağ Bileşenleri Kütüphanesi" yanı sıra Wiley ve MassFinder 4.0 Kütüphane Tarama Yazılımları kullanılarak yapılmıştır (123,124).

GC ve GC/MS analiz koşulları sırasıyla Tablo 3.13. ve Tablo 3.14.'te verilmiştir.

Tablo 3.13. GC Analiz Koşulları.

Sistem	**:** Agilent 6890N GC
Kolon	**:** HP-Innowax (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)
Taşıyıcı Gaz	**:** Helyum (0.8 mL/dk)
Enjeksiyon sıcaklığı	**:** 250˚C
Kolon sıcaklığı	**:** 60 °C'de 10 dk, 4 °C dk artışla 220 °C'ye, 220 °C'de 10 dk, 1°C dk artışla 240 °C'ye
Detektör sıcaklığı	**:** 300 °C, FID (Alev iyonlaşma dedektörü)

Tablo 3.14. GC/MS Analiz Koşulları.

Sistem	**:** Agilent 5975 GC-MSD
Kolon	**:** HP-Innowax (60 m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı)
Taşıyıcı Gaz	**:** Helyum (0.8 mL/dk)
Enjeksiyon sıcaklığı	**:** 250 °C
Kolon sıcaklığı	**:** 60 °C'de 10 dk, 4 °C dk artışla 220 °C'ye, 220 °C'de 10 dk, 1°C dk artışla 240 °C'ye
Split Oranı	**:** 50:1* / splitsiz**
Elektron Enerjisi	**:** 70 eV
Kütle Aralığı	**:** 35-450 m/z

*: MD ve HD yöntemleri için; **: SPME yöntemi için.

3.8. Matriks Metalloproteinaz İnhibitör Etki Çalışmaları

Matriks metalloproteinaz (MMP) inhibitör etki çalışmaları için Tablo 3.15.'te belirtilen numuneler kullanılmıştır. Farklı *Rosa damascena* örneklerinden elde edilen ekstre, uçucu yağ, gül suyu ve posa gibi kısımlar dışında 1 adet ticari gül yağı (RD-TCGY) ve 4 farklı ticari gül suyu (RD-TCGS) da MMP inhibitör etki çalışmaları için kullanılmıştır.

Tablo 3.15. MMP inhibitör etkileri çalışılan numuneler.

Bitki	Ekstre	Uçucu Yağ	Gül Suyu	Posa
RD-1	*n*-hkzn, CH_2Cl_2, EtOAc, % 70 EtOH EtOH	Dondurulmuş ve kuru materyalden elde edilen	Dondurulmuş ve kuru materyalden elde edilen	-
RD-2	% 70 EtOH	Kuru materyalden elde edilen	Kuru materyalden elde edilen	-
RD-3	% 70 EtOH	Kuru materyalden elde edilen	Kuru materyalden elde edilen	-
RD-4	% 70 EtOH	Kuru materyalden elde edilen	Kuru materyalden elde edilen	-
RD-11	-	Taze ve kuru materyalden elde edilen	Taze ve kuru materyalden elde edilen	Taze materyalden elde edilen
RD-TCGY	-	+	-	-
RD-TCGS-1	-	-	+	-
RD-TCGS-2	-	-	+	-
RD-TCGS-3	-	-	+	-
RD-TCGS-4	-	-	+	-

3.8.1. MMP-1 İnhibitör Etki Tayini

MMP-1 kolorimetrik deney kiti Abcam firmasından satın alımmış; kit içerisinde yer alan deney protokolünden yararlanılarak aktivite tayini yapılmıştır. Kit içeriği ve saklama koşulları Tablo 3.16.'da verilmiştir.

Tablo 3.16. MMP-1 enzim kiti içeriği ve saklama koşulları.

Kit İçeriği	Miktar	Saklama Koşulu
96 kuyucuklu Steril Mikroplak (1/2 hacimli)	1	4 °C
MMP-1 Enzimi(İnsan, Rekombinant) (30.6 U/µL)	1 x 66 µL	-80 °C
MMP inhibitörü (1.3 mM NNGH, DMSO içinde)	1 x 50 µL	-20 °C
MMP Substrat (25 mM (16.4 mg/mL), DMSO içinde)	1 x 50 µL	-20 °C
Kolorimetrik deney tamponu	1 x 20 mL	-20 °C

Kit içeriği deneye başlamadan önce oda sıcaklığına (OS) getirilmiştir. MMP inhibitörü (NNGH) 1/200 oranında deney tamponu ile seyreltilmiştir: 1 µL inhibitör 200 µL deney tamponuna eklenmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP substratı toplam hacme göre 1/25 oranında deney tamponu ile seyreltilmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP-1 enzimi tamponla toplam hacme göre 1/40 oranında seyreltilmiş ve deneyden çok kısa bir süre önce 37 °C'ye getirilmiştir. Daha önceden oda sıcaklığına getirilen

mikroplaka 37 °C'ye ayarlanmış plaka inkübatörüne yerleştirilmiştir ve tüm deney süresince burada tutulmuştur. Kör olarak kullanılacak olan kuyucuklara 90 µL deney tamponu eklenmiştir. Kontrol olarak kullanılacak olan kuyucuklara 70 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-1 enzimi eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılacak kuyucuklara 50 µL deney tamponu, 20 µL MMP-1 enzimi ve 20 µL inhibitör (1.3 µM NNGH) eklenmiştir. Test edilecek olan numuneler (gül suları ve posa suyu hariç) 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanarak 70 µL olacak şekilde kuyucuklara eklenmiş ve üzerlerine 20 µL MMP-1 enzimi konulmuştur. Deney protokolüne göre test edilecek numunelerin deney tamponunda çözülmesi ve seyreltmelerinin de deney tamponu ile yapılması gerektiği belirtilmektedir. Etanollü ve % 70 etanollü *R. damascena* ekstreleri protokole uygun olarak hazırlanmıştır. Ancak deney tamponunda çözülemeyen uçucu yağlar ile *n*-hekzan, CH_2Cl_2 ve EtOAc ekstreleri etanol içerisinde çözülerek stok çözelti hazırlanmış ve seyreltmeleri deney tamponu kullanılarak yapılmıştır. Etanol kullanılarak çözülen numunelerin hesaplamaları için aynı oranda etanol içeren kör kuyucuklar hazırlanarak çözücü kaynaklı oluşabilecek farklılıkların önüne geçilmiştir. Karşılaştırmalı olarak MMP inhibitör aktivitesi test edilecek olan gül suları ile RD-1 posası 20 µL olacak şekilde kuyucuklara konulmuş ve üzerlerine 50 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-1 enzimi eklenmiştir. Numune ve enzim eklendikten sonra mikroplaka 37 °C'de 30-60 dakika süreyle inkübasyona bırakılmış ve bu sayede enzim ile inhibitörün etkileşmesi sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 10 µL substrat eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. 10-20 dakika süreyle 1'er dakika aralıklarla 412 nm'de spektrofotometre cihazında ölçüm yapılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. İnhibisyon gözlenen kuycuklarda enzim substrat ilişkisinden doğan sarı rengin açılması beklenmektedir. % inhibisyon hesabı için aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (AbS_{kontrol} - AbS_{numune}) / (AbS_{kontrol}) \times 100$$

3.8.2. MMP-2 İnhibitör Etki Tayini

MMP-2 kolorimetrik deney kiti Abcam firmasından satın alımmış; kit içerisinde yer alan deney protokolünden yararlanılarak aktivite tayini yapılmıştır. Kit içeriği ve saklama koşulları Tablo 3.17.'de verilmiştir.

Tablo 3.17. MMP-2 enzim kiti içeriği.

Kit İçeriği	**Miktar**	**Saklama Koşulu**
96 kuyucuklu Steril Mikroplak (1/2 hacimli)	1	4 °C
MMP-2 Enzimi (İnsan, Rekombinant) (150 U)	1 x 45.7 µL	-80 °C
MMP inhibitörü (1.3 mM NNGH, DMSO içinde)	1 x 50 µL	-80 °C
MMP Substrat (25 mM (16.4 mg/mL), DMSO içinde)	1 x 50 µL	-80 °C
Kolorimetrik deney tamponu	1 x 20 mL	-80 °C

Kit içeriği deneye başlamadan önce oda sıcaklığına getirilmiştir. MMP inhibitörü (NNGH) 1/200 oranında deney tamponu ile seyreltilmiştir: 1 µL inhibitör 200 µL deney tamponuna eklenmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP substratı toplam hacme göre 1/25 oranında deney tamponu ile seyreltilmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP-2 enzimi tamponla toplam hacme göre 1/56 oranında seyreltilmiş ve deneyden çok kısa bir süre önce 37 °C'ye getirilmiştir. Daha önceden oda sıcaklığına getirilen mikroplaka 37 °C'ye ayarlanmış plaka inkübatörüne yerleştirilmiştir ve tüm deney süresince burada tutulmuştur. Kör olarak kullanılacak olan kuyucuklara 90 µL deney tamponu eklenmiştir. Kontrol olarak kullanılacak olan kuyucuklara 70 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-2 enzimi eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılacak kuyucuklara 50 µL deney tamponu, 20 µL MMP-2 enzimi ve 20 µL inhibitör (1.3 µM NNGH) eklenmiştir. Test edilecek olan numuneler (gül suları ve posa suyu hariç) 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanarak 70 µL olacak şekilde kuyucuklara eklenmiş ve üzerlerine 20 µL MMP-2 enzimi konulmuştur. Deney protokolüne göre test edilecek numunelerin deney tamponunda çözülmesi ve seyreltmelerinin de deney tamponu ile yapılması gerektiği belirtilmektedir. Etanollü ve % 70 etanollü *R. damascena* ekstreleri protokole uygun olarak hazırlanmıştır. Ancak deney tamponunda çözülemeyen uçucu yağlar ile *n*-hekzan, CH_2Cl_2 ve EtOAc ekstreleri etanol içerisinde çözülerek stok çözelti hazırlanmış ve seyreltmeleri deney tamponu kullanılarak yapılmıştır. Etanol kullanılarak çözülen numunelerin hesaplamaları için aynı oranda etanol içeren kör kuyucuklar hazırlanarak çözücü kaynaklı oluşabilecek farklılıkların önüne geçilmiştir. Karşılaştırmalı olarak MMP inhibitör aktivitesi test edilecek olan gül suları ile RD-1 posası 20 µL olacak şekilde kuyucuklara konulmuş ve üzerlerine 50 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-2 enzimi eklenmiştir. Numune ve enzim

eklendikten sonra mikroplaka 37 °C'de 30-60 dakika süreyle inkübasyona bırakılmış ve bu sayede enzim ile inhibitörün etkileşmesi sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 10 µL substrat eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. 10-20 dakika süreyle 1'er dakika aralıklarla 412 nm'de spektrofotometre cihazında ölçüm yapılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. İnhibisyon gözlenen kuycuklarda enzim substrat ilişkisinden doğan sarı rengin açılması beklenmektedir. % inhibisyon hesabı için aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (AbS_{kontrol} - AbS_{numune}) / (AbS_{kontrol}) \times 100$$

3.8.3. MMP-3 İnhibitör Etki Tayini

MMP-3 kolorimetrik deney kiti Abcam firmasından satın alımmış; kit içerisinde yer alan deney protokolünden yararlanılarak aktivite tayini yapılmıştır. Kit içeriği ve saklama koşulları Tablo 3.18'de verilmiştir.

Tablo 3.18. MMP-3 enzim kiti içeriği.

Kit İçeriği	**Miktar**	**Saklama Koşulu**
96 kuyucuklu Steril Mikroplak (1/2 hacimli)	1	OS
MMP-3 Enzimi (İnsan, Rekombinant) (10 U/µL)	1 x 30 µL	-80 °C
MMP inhibitörü (1.3 mM NNGH, DMSO içinde)	1 x 50 µL	-80 °C
MMP Substrat (25 mM (16.4 mg/mL), DMSO içinde)	1 x 50 µL	-80 °C
Kolorimetrik deney tamponu	1 x 20 mL	-80 °C

Kit içeriği deneye başlamadan önce oda sıcaklığına getirilmiştir. MMP inhibitörü (NNGH) 1/200 oranında deney tamponu ile seyreltilmiştir: 1 µL inhibitör 200 µL deney tamponuna eklenmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP substratı toplam hacme göre 1/25 oranında deney tamponu ile seyreltilmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP-3 enzimi tamponla toplam hacme göre 1/100 oranında seyreltilmiş ve deneyden çok kısa bir süre önce 37 °C'ye getirilmiştir. Daha önceden oda sıcaklığına getirilen mikroplaka 37 °C'ye ayarlanmış plaka inkübatörüne yerleştirilmiştir ve tüm deney süresince burada tutulmuştur. Kör olarak kullanılacak olan kuyucuklara 90 µL deney tamponu eklenmiştir. Kontrol olarak kullanılacak olan kuyucuklara 70 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-3 enzimi eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılacak kuyucuklara 50 µL deney tamponu, 20 µL MMP-3 enzimi ve 20 µL inhibitör (1.3 µM

NNGH) eklenmiştir. Test edilecek olan numuneler (gül suları ve posa suyu hariç) 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanarak 70 µL olacak şekilde kuyucuklara eklenmiş ve üzerlerine 20 µL MMP-3 enzimi konulmuştur. Deney protokolüne göre test edilecek numunelerin deney tamponunda çözülmesi ve seyreltmelerinin de deney tamponu ile yapılması gerektiği belirtilmektedir. Etanollü ve % 70 etanollü *R. damascena* ekstreleri protokole uygun olarak hazırlanmıştır. Ancak deney tamponunda çözülemeyen uçucu yağlar ile *n*-hekzan, CH_2Cl_2 ve EtOAc ekstreleri etanol içerisinde çözülerek stok çözelti hazırlanmış ve seyreltmeleri deney tamponu kullanılarak yapılmıştır. Etanol kullanılarak çözülen numunelerin hesaplamaları için aynı oranda etanol içeren kör kuyucuklar hazırlanarak çözücü kaynaklı oluşabilecek farklılıkların önüne geçilmiştir. Karşılaştırmalı olarak MMP inhibitör aktivitesi test edilecek olan gül suları ile RD-1 posası 20 µL olacak şekilde kuyucuklara konulmuş ve üzerlerine 50 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-3 enzimi eklenmiştir. Numune ve enzim eklendikten sonra mikroplaka 37 °C'de 30-60 dakika süreyle inkübasyona bırakılmış ve bu sayede enzim ile inhibitörün etkileşmesi sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 10 µL substrat eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. 10-20 dakika süreyle 1'er dakika aralıklarla 412 nm'de spektrofotometre cihazında ölçüm yapılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. İnhibisyon gözlenen kuyucuklarda enzim substrat ilişkisinden doğan sarı rengin açılması beklenmektedir. % inhibisyon hesabı için aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (AbS_{kontrol} - AbS_{numune}) / (AbS_{kontrol}) \times 100$$

3.8.4. MMP-8 İnhibitör Etki Tayini

MMP-8 kolorimetrik deney kiti Abcam firmasından satın alınmış; kit içerisinde yer alan deney protokolünden yararlanılarak aktivite tayini yapılmıştır. Kit içeriği ve saklama koşulları Tablo 3.19.'da verilmiştir.

Tablo 3.19. MMP-8 enzim kiti içeriği.

Kit İçeriği	**Miktar**	**Saklama Koşulu**
96 kuyucuklu Steril Mikroplak (1/2 hacimli)	1	4 °C
MMP-8 Enzimi(İnsan, Rekombinant) (9.2 U/µL)	1 x 22 µL	-80 °C
MMP inhibitörü (1.3 mM NNGH, DMSO içinde)	1 x 50 µL	-80 °C
MMP Substrat (25 mM (16.4 mg/mL), DMSO içinde)	1 x 50 µL	-80 °C
Kolorimetrik deney tamponu	1 x 20 mL	-80 °C

Kit içeriği deneye başlamadan önce oda sıcaklığına getirilmiştir. MMP inhibitörü (NNGH) 1/200 oranında deney tamponu ile seyreltilmiştir: 1 µL inhibitör 200 µL deney tamponuna eklenmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP substratı toplam hacme göre 1/25 oranında deney tamponu ile seyreltilmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP-8 enzimi tamponla toplam hacme göre 1/100 oranında seyreltilmiş ve deneyden çok kısa bir süre önce 37 °C'ye getirilmiştir. Daha önceden oda sıcaklığına getirilen mikroplaka 37 °C'ye ayarlanmış plaka inkübatörüne yerleştirilmiştir ve tüm deney süresince burada tutulmuştur. Kör olarak kullanılacak olan kuyucuklara 90 µL deney tamponu eklenmiştir. Kontrol olarak kullanılacak olan kuyucuklara 70 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-8 enzimi eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılacak kuyucuklara 50 µL deney tamponu, 20 µL MMP-8 enzimi ve 20 µL inhibitör (1.3 µM NNGH) eklenmiştir. Test edilecek olan numuneler (gül suları ve posa suyu hariç) 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanarak 70 µL olacak şekilde kuyucuklara eklenmiş ve üzerlerine 20 µL MMP-8 enzimi konulmuştur. Deney protokolüne göre test edilecek numunelerin deney tamponunda çözülmesi ve seyreltmelerinin de deney tamponu ile yapılması gerektiği belirtilmektedir. Etanollü ve % 70 etanollü *R. damascena* ekstreleri protokole uygun olarak hazırlanmıştır. Ancak deney tamponunda çözülemeyen uçucu yağlar ile *n*-hekzan, CH_2Cl_2 ve EtOAc ekstreleri etanol içerisinde çözülerek stok çözelti hazırlanmış ve seyreltmeleri deney tamponu kullanılarak yapılmıştır. Etanol kullanılarak çözülen numunelerin hesaplamaları için aynı oranda etanol içeren kör kuyucuklar hazırlanarak çözücü kaynaklı oluşabilecek farklılıkların önüne geçilmiştir. Karşılaştırmalı olarak MMP inhibitör aktivitesi test edilecek olan gül suları ile RD-1 posası 20 µL olacak şekilde kuyucuklara konulmuş ve üzerlerine 50 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-8 enzimi eklenmiştir. Numune ve enzim

eklendikten sonra mikroplaka 37 °C'de 30-60 dakika süreyle inkübasyona bırakılmış ve bu sayede enzim ile inhibitörün etkileşmesi sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 10 µL substrat eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. 10-20 dakika süreyle 1'er dakika aralıklarla 412 nm'de spektrofotometre cihazında ölçüm yapılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. İnhibisyon gözlenen kuycuklarda enzim substrat ilişkisinden doğan sarı rengin açılması beklenmektedir. % inhibisyon hesabı için aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (AbS_{kontrol} - AbS_{numune}) / (AbS_{kontrol}) \times 100$$

3.8.5. MMP-9 İnhibitör Etki Tayini

MMP-9 kolorimetrik deney kiti Abcam firmasından satın alımmış; kit içerisinde yer alan deney protokolünden yararlanılarak aktivite tayini yapılmıştır. Kit içeriği ve saklama koşulları Tablo 3.20.'de verilmiştir.

Tablo 3.20. MMP-9 enzim kiti içeriği.

Kit İçeriği	**Miktar**	**Saklama Koşulu**
96 kuyucuklu Steril Mikroplak (1/2 hacimli)	1	4
MMP-9 Enzimi (İnsan, Rekombinant) (2.68 U/µL)	1 x 48.5 µL	-80 °C
MMP inhibitörü (1.3 mM NNGH, DMSO içinde)	1 x 50 µL	-80 °C
MMP Substrat (25 mM (16.4 mg/mL), DMSO içinde)	1 x 50 µL	-80 °C
Kolorimetrik deney tamponu	1 x 20 mL	-80 °C

Kit içeriği deneye başlamadan önce oda sıcaklığına getirilmiştir. MMP inhibitörü (NNGH) 1/200 oranında deney tamponu ile seyreltilmiştir: 1 µL inhibitör 200 µL deney tamponuna eklenmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP substratı toplam hacme göre 1/25 oranında deney tamponu ile seyreltilmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP-9 enzimi tamponla toplam hacme göre 1/60 oranında seyreltilmiş ve deneyden çok kısa bir süre önce 37 °C'ye getirilmiştir. Daha önceden oda sıcaklığına getirilen mikroplaka 37 °C'ye ayarlanmış plaka inkübatörüne yerleştirilmiştir ve tüm deney süresince burada tutulmuştur. Kör olarak kullanılacak olan kuyucuklara 90 µL deney tamponu eklenmiştir. Kontrol olarak kullanılacak olan kuyucuklara 70 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-9 enzimi eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılacak

kuyucuklara 50 µL deney tamponu, 20 µL MMP-9 enzimi ve 20 µL inhibitör (1.3 µM NNGH) eklenmiştir. Test edilecek olan numuneler (gül suları ve posa suyu hariç) 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanarak 70 µL olacak şekilde kuyucuklara eklenmiş ve üzerlerine 20 µL MMP-9 enzimi konulmuştur. Deney protokolüne göre test edilecek numunelerin deney tamponunda çözülmesi ve seyreltmelerinin de deney tamponu ile yapılması gerektiği belirtilmektedir. Etanollü ve % 70 etanollü *R. damascena* ekstreleri protokole uygun olarak hazırlanmıştır. Ancak deney tamponunda çözülemeyen uçucu yağlar ile *n*-hekzan, CH_2Cl_2 ve EtOAc ekstreleri etanol içerisinde çözülerek stok çözelti hazırlanmış ve seyreltmeleri deney tamponu kullanılarak yapılmıştır. Etanol kullanılarak çözülen numunelerin hesaplamaları için aynı oranda etanol içeren kör kuyucuklar hazırlanarak çözücü kaynaklı oluşabilecek farklılıkların önüne geçilmiştir. Karşılaştırmalı olarak MMP inhibitör aktivitesi test edilecek olan gül suları ile RD-1 posası 20 µL olacak şekilde kuyucuklara konulmuş ve üzerlerine 50 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-9 enzimi eklenmiştir. Numune ve enzim eklendikten sonra mikroplaka 37 °C'de 30-60 dakika süreyle inkübasyona bırakılmış ve bu sayede enzim ile inhibitörün etkileşmesi sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 10 µL substrat eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. 10-20 dakika süreyle 1'er dakika aralıklarla 412 nm'de spektrofotometre cihazında ölçüm yapılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. İnhibisyon gözlenen kuycuklarda enzim substrat ilişkisinden doğan sarı rengin açılması beklenmektedir. % inhibisyon hesabı için aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (AbS_{kontrol} - AbS_{numune}) / (AbS_{kontrol}) \times 100$$

3.8.6. MMP-13 İnhibitör Etki Tayini

MMP-13 kolorimetrik deney kiti Abcam firmasından satın alımmış; kit içerisinde yer alan deney protokolünden yararlanılarak aktivite tayini yapılmıştır. Kit içeriği ve saklama koşulları Tablo 3.21.'de verilmiştir.

Tablo 3.21. MMP-13 enzim kiti içeriği.

Kit İçeriği	**Miktar**	**Saklama Koşulu**
96 kuyucuklu Steril Mikroplak (1/2 hacimli)	1	4
MMP-13 Enzimi(İnsan, Rekombinant) (3.45 U/µL)	1 x 53 µL	-80 °C
MMP inhibitörü (1.3 mM NNGH, DMSO içinde)	1 x 50 µL	-80 °C
MMP Substrat (25 mM (16.4 mg/mL), DMSO içinde)	1 x 50 µL	-80 °C
Kolorimetrik deney tamponu	1 x 20 mL	-80 °C

Kit içeriği deneye başlamadan önce oda sıcaklığına getirilmiştir. MMP inhibitörü (NNGH) 1/200 oranında deney tamponu ile seyreltilmiştir: 1 µL inhibitör 200 µL deney tamponuna eklenmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP substratı toplam hacme göre 1/25 oranında deney tamponu ile seyreltilmiş ve 37 °C'ye getirilmiştir. MMP-13 enzimi tamponla toplam hacme göre 1/50 oranında seyreltilmiş ve deneyden çok kısa bir süre önce 37 °C'ye getirilmiştir. Daha önceden oda sıcaklığına getirilen mikroplaka 37 °C'ye ayarlanmış plaka inkübatörüne yerleştirilmiştir ve tüm deney süresince burada tutulmuştur. Kör olarak kullanılacak olan kuyucuklara 90 µL deney tamponu eklenmiştir. Kontrol olarak kullanılacak olan kuyucuklara 70 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-13 enzimi eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılacak kuyucuklara 50 µL deney tamponu, 20 µL MMP-13 enzimi ve 20 µL inhibitör (1.3 µM NNGH) eklenmiştir. Test edilecek olan numuneler (gül suları ve posa suyu hariç) 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanarak 70 µL olacak şekilde kuyucuklara eklenmiş ve üzerlerine 20 µL MMP-13 enzimi konulmuştur. Deney protokolüne göre test edilecek numunelerin deney tamponunda çözülmesi ve seyreltmelerinin de deney tamponu ile yapılması gerektiği belirtilmektedir. Etanollü ve % 70 etanollü *R. damascena* ekstreleri protokole uygun olarak hazırlanmıştır. Ancak deney tamponunda çözülemeyen uçucu yağlar ile *n*-hekzan, CH_2Cl_2 ve EtOAc ekstreleri etanol içerisinde çözülerek stok çözelti hazırlanmış ve seyreltmeleri deney tamponu kullanılarak yapılmıştır. Etanol kullanılarak çözülen numunelerin hesaplamaları için aynı oranda etanol içeren kör kuyucuklar hazırlanarak çözücü kaynaklı oluşabilecek farklılıkların önüne geçilmiştir. Karşılaştırmalı olarak MMP inhibitör aktivitesi test edilecek olan gül suları ile RD-1 posası 20 µL olacak şekilde kuyucuklara konulmuş ve üzerlerine 50 µL deney tamponu ve 20 µL MMP-13 enzimi eklenmiştir. Numune ve enzim

eklendikten sonra mikroplaka 37 °C'de 30-60 dakika süreyle inkübasyona bırakılmış ve bu sayede enzim ile inhibitörün etkileşmesi sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 10 µL substrat eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. 10-20 dakika süreyle 1'er dakika aralıklarla 412 nm'de spektrofotometre cihazında ölçüm yapılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. İnhibisyon gözlenen kuycuklarda enzim substrat ilişkisinden doğan sarı rengin açılması beklenmektedir. % inhibisyon hesabı için aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = (AbS_{kontrol} - AbS_{numune}) / (AbS_{kontrol}) \times 100$$

3.9. Antioksidan Kapasite Çalışmaları

Antioksidan kapasite çalışmaları; *β*-karoten linoleik asit, demir redükleyici antioksidan kapasite (FRAP), bakır redükleyici antioksidan kapasite (CUPRAC) ve fosfomolibddat yöntemleri başlıkları altında incelenmiş ve çalışmalar Tablo 3.22.'de verilen numuneler ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.22. Antioksidan kapasite çalışmalarında kullanılan ekstreler.

Numune	Ekstre
RD-1	*n*-hkzn, CH_2Cl_2, EtOAc, EtOH % 70 EtOH
RD-2	% 70 EtOH
RD-3	% 70 EtOH
RD-4	% 70 EtOH
RD-5	% 70 EtOH
RD-6	% 70 EtOH
RD-7	% 70 EtOH
RD-8	% 70 EtOH
RD-9	% 70 EtOH
RD-10	% 70 EtOH

3.9.1. *β*-karoten Linoleik Asit Yöntemi

β-karoten linoleik asit yöntemi Miller (125) tarafından kullanılan yöntemde küçük değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. Kuru bir kaba 120 mg linoleik asit ve 1200 mg Tween 20 tartılmış ve bir miktar kloroformda çözülmüştür. Başka bir kaba 5 mg *β*-karoten tartılmış ve üzerine 5 mL kloroform ilave edilerek çözülmesi sağlanmıştır. Bu çözeltiden 1.2 mL alınarak ilk kabın üzerine ilave edilmiş ve vorteks

kullanılarak iyice karıştırılırmıştır. Kloroform alçak basınç altında 40 °C'de rotavaporla ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bakiye distile su ile emülsiyon oluşturacak şekilde 300 mL'ye tamamlanmış ve manyetik karıştırıcı kullanılarak iyice karıştırılmıştır. Portakal renginde olan bu stok çözelti deneyler sırasında karanlıkta saklanmıştır. Kör olarak kullanılacak çözelti için 100 mg Tween 20 ve 10 mg linoleik asit kloroformda çözülmüş ve daha sonra kloroform uzaklaştırılmıştır. En son bakiye üzerine distile su ilave edilerek 25 mL'ye tamamlanmıştır. Standart olarak Gallik asit (GA) ve sentetik antioksidan butil hidroksi anisol (BHA) kullanılmıştır. Test edilecek numunelerin ve standartların 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonda dilüsyonları hazırlanmıştır. Deneyde 96 kuyucuklu mikroplakalar kullanılmış ve kuyucuklara 2 µL numune/standart konulmuş ve üzerine 198 µL *β*-karoten çözeltisinden eklenmiştir. Kontrol olarak kullanılan kuyucuklara 2 µL etanol ve 198 µL *β*-karoten çözeltisi konulmuştur. Kör olarak kullanılan kuyucuklara ise 2 µL etanol ve 198 µL *β*-karoten içermeyen çözelti eklenmiştir. Tüm işlemler süresince mikroplaka 40 °C'de etüvde tutulmuş ve 15 dakika aralıklarla 470 nm'de spektrofotometrede 120 dk süreyle absorbansları ölçülmüştür. Her deney 3 kez tekrarlanmıştır. Antioksidan kapasite numunelerin kontrole karşı oksidasyonun inhibisyon yüzdesi olarak aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar standart olarak kullanılan GA ve BHA'nın sonuçları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

$$\% \text{ Antioksidan kapasite} = 100 \times [1-(As_0 - As_{120}) / (Ak_0 - Ak_{120})]$$

As_0 = örneğin başlangıçtaki absorbansı (470 nm)
As_{180} = örneğin 120 dakika sonraki absorbansı (470 nm)
Ak_0 = kontrolün başlangıçtaki absorbansı (470 nm)
Ak_{180} = kontrolün 120 dakika sonraki absorbansı (470 nm)

3.9.2. Demir Redükleyici Antioksidan Kapasite (FRAP) Yöntemi

Test edilecek numunelerin ve standartların 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda dilüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınmış ve üzerine sırasıyla 2.5 mL fosfat tamponu (pH:6.6) ve 2.5 mL potasyum ferrisiyanit ($K_3Fe(CN)_6$) (%1, a/h) ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. 50 °C'de 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra üzerine 2,5 mL TCA (trikloroasetikasit) (%10) ilave edilmiş ve kuvvetlice çalkalanmıştır. Karışımdan

2.5 mL alınmış ve üzerine sırasıyla 2.5 mL distile su, 0.5 mL $FeCl_3$ (%0.1, a/h) eklenerek 30 dk süreyle oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda numune ve standartların antioksidan kapasiteleri 700 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülerek belirlenmiştir (126,127).

Her test 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır. Sonuçlar standart olarak kullanılan askorbik asit ve gallik asit için çizilen standart eğrilerdeki formüller kullanılarak askorbik asit ekivalan (ASKE) ve gallik asit ekivalan (GAE) olarak verilmiştir.

3.9.3. Bakır İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi

Test edilecek numunelerin 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda dilüsyonları hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan gallik asitin 0.78 µg/mL, 1.56 µg/mL, 3.125 µg/mL, 6.25 µg/mL, 12.5 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL ve 400 µg/mL konsantrasyonda dilüsyonları hazırlanmıştır. 1 mL $CuCl_2$ çözeltisi (0.01 M), 1 mL amonyum asetat (NH_4AC) tamponu (1M, pH: 7), 1 mL neokuprin (2,9-Dimetil-1,10-fenantrolin) (7.5×10^{-2} M), 0.5 mL deiyonize su karıştırılmış ve üzerine numune / standarttan 0.5 mL eklenmiştir. Karışım 30 dk süreyle karanlıkta inkübasyona bırakılmış ve 450 nm'de ölçümleri yapılmıştır (128).

Her test 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır. Sonuçlar standart olarak kullanılan gallik asit için çizilen standart eğrilerdeki formül kullanılarak gallik asit ekivalan (GAE) olarak verilmiştir.

3.9.4. Fosfomolibdat Antioksidan Kapasite Tayini

Total antioksidan kapasitenin belirlenebilmesi için test edilecek numunelerin ve standartların 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda dilüsyonları hazırlanmıştır. 100 mL H_2SO_4 (0.6 M), 100 mL amonyum molibdat (4 mM) ve 100 mL sodyum fosfat (28 mM) bir kapta karıştırılarak fosfomolibdat reaktifi hazırlanmıştır. Bu reaktiften 200 µL alınıp kilit kapaklı bir mikrotüpe konulmuş ve üzerine 20 µL numune veya standartlardan eklenmiştir. Kör olarak kullanılmak üzere mikrotüpe 200 µL reaktif ve 20 µL etanol koyulmuştur. Tüplerin ağızları sıkıca kapatıldıktan sonra alüminyum folyo ile sarılmış

ve 95 °C'ye ayarlanmış etüv içerisinde 90 dk süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası tüpler soğumaya bırakılır. Mikrotüplerdeki numuneler 96 kuyucuklu mikroplakaya aktarıldıktan sonra 695 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçümleri yapılmıştır (129).

Her test 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır. Sonuçlar standart olarak kullanılan askorbik asit ve gallik asit konsantrasyonlarının absorbansa karşı grafiklerinden oluşturulan standart eğri formüllerine göre askorbik asit ekivalan (ASKE) ve gallik asit ekivalan (GAE) olarak verilmiştir.

3.10. Radikal süpürücü Kapasite Çalışmaları

Radikal süpürücü kapasite çalışmaları; DPPH, ABTS ve NO yöntemleri başlıkları altında incelenmiş ve çalışmalar Tablo 3.23.'te verilen numuneler ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.23. Radikal süpürücü kapasite çalışmaları yapılan numuneler.

Bitki	Ekstre
RD-1	*n*-hkzn, CH_2Cl_2, EtOAc, EtOH, % 70 EtOH
RD-2	% 70 EtOH
RD-3	% 70 EtOH
RD-4	% 70 EtOH
RD-5	% 70 EtOH
RD-6	% 70 EtOH
RD-7	% 70 EtOH
RD-8	% 70 EtOH
RD-9	% 70 EtOH
RD-10	% 70 EtOH

3.10.1. DPPH Radikalini Süpürücü Kapasite Tayini

Test edilecek numunelerin 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda dilüsyonları hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan askorbik asit ve gallik asitin 0.78 µg/mL, 1.56 µg/mL, 3.125 µg/mL, 6.25 µg/mL, 12.5 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlardaki dilüsyonları hazırlanmıştır. 1.97 mg 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali 5 mL metanolde çözülerek 1 mM DPPH çözeltisi hazırlanmıştır. 96 kuyucuklu mikroplakanın kuyucuklarına 50 µL DPPH ve 200 µL

numune / standart eklenmiştir. Kör olarak 50 µL etanol ve 200 µL DPPH çözeltisi kullanılmıştır. Karışım çalkalandıktan sonra 30 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda spektrofotometrede 520 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüş ve bu değerler kullanılarak % inhibisyon hesaplamaları yapılmıştır (130,131).

Numunelerin ve standartların % DPPH süpürücü kapasitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ DPPH süpürücü etki} = (Abs_{kör} - Abs_{numune})/Abs_{kör} \times 100$$

Her test 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır. Ayrıca çalışılan numunelerin kendi aralarında karşılaştırılabilmesi için standart olarak kullanılan gallik asitin standart eğrisi çizilmiş ve buradaki formül kullanılarak gallik asit ekivalan (GAE) değerleri hesaplanmıştır.

3.10.2. ABTS Radikalini Süpürücü Etki Tayini

Test edilecek numunelerin 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda dilüsyonları hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan troloks (TRL) ve gallik asitin (GA) 0.78 µg/mL, 1.56 µg/mL, 3.125 µg/mL, 6.25 µg/mL, 12.5 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlardaki dilüsyonları hazırlanmıştır. Deneye ilk olarak $ABTS^{\bullet+}$ (2,2′-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)) radikalini oluşturarak başlanmıştır. Bunun için 2 mL distile su içerisinde hazırlanmış ABTS (7mM) ve 2 mL distile su içerisinde hazırlanmış potasyum persülfat (2.45 mM) bir kapta karıştırılıp karanlık bir ortamda 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sayede oksidasyon sonucu $ABTS^{\bullet+}$ radikali oluşturulmuştur. Bu radikalin 734 nm dalga boyunda 0.700 ± 0.050 absorbans verecek şekilde etanolle seyreltmesi yapılmıştır. 96 kuyucuklu mikroplakanın kuyucuklarına numune ve standartlardan 50 µL eklenmiş ve üzerlerine 130 µL $ABTS^{\bullet+}$ radikali eklendikten sonra 6 dk süreyle oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin sonunda 734 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmış ve numunelerin % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır (132,133).

Her test 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır. Ayrıca çalışılan numunelerin kendi aralarında karşılaştırılabilmesi için standart olarak kullanılan

troloks ve gallik asitin standart eğrisi çizilmiş ve buradaki formüller kullanılarak troloks ekivalan (TRLE) ve gallik asit ekivalan (GAE) değerleri hesaplanmıştır.

3.10.3. Nitrik Oksit Radikalini Süpürücü Etki Tayini

Test edilecek numunelerin 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlarda dilüsyonları hazırlanmıştır. Standart olarak kullanılan askorbik asitin (ASK) 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL; gallik asitin (GA) 3.125 µg/mL, 6.25 µg/mL, 12.5 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlardaki dilüsyonları hazırlanmıştır.

Hazırlanan numune ve standartlardan 96 kuyucuklu mikroplakanın kuyucuklarına 60 µL eklenmiştir. Kör olarak kullanılan kuyucuklara 60 µL etanol eklenmiştir. Üzerlerine fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) (pH: 7.4) içerisinde çözülerek hazırlanan sodyum nitroprussid (10 mM) çözeltisinden 60 µL ilave edilmiştir. Karışım 150 dk süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin dolmasına yakın Griess reaktifi taze olarak hazırlanmıştır. Bu reaktif; 1 g sülfanilamid, 0.1 g naftilendiamin dihidroklorid ve 2.5 mL fosforik asitin bir balon jojede karıştırıldıktan sonra distile su ile 100 mL'ye tamamlanması ile hazırlanmıştır. İnkübasyon süresi dolduktan sonra kuyucukların üzerine 120 µL Griess reaktifi eklenmiş ve 546 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır (134).

Standart ve ekstrelerin % NO radikal süpürücü kapasiteleri aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$\%\ \text{NO radikal süpürücü kapasite} = (Abs_{kör} - Abs_{numune})/Abs_{kör} \times 100$$

Her test 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmıştır. Ayrıca çalışılan numunelerin kendi aralarında karşılaştırılabilmesi için standart olarak kullanılan askorbik asit ve gallik asitin standart eğrisi çizilmiş ve buradaki formüller kullanılarak askorbik asit ekivalan (ASKE) ve gallik asit ekivalan (GAE) değerleri hesaplanmıştır.

3.11. Güneşten Koruyucu Faktör Çalışmaları

RD-1 numunesinin 5 farklı ekstresi (*n*-hkzn, CH_2Cl_2, EtOAc, EtOH ve % 70 EtOH) ile RD-2 – RD-10 numunelerinin % 70 EtOH ekstrelerinin güneşten koruyucu

faktör çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Tüm numunelerin kuru ekstreleri etanolde çözüldükten sonra 100 µg/mL ve 200 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Numuneler 96 kuyucuklu plakalara 200 µL olacak şekilde enjekte edilmiş ve 290-320 nm aralığında absorbsiyonları ölçülmüştür. Bu işlem 3 kez tekrarlanmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Kör olarak etanol kullanılmıştır.

Ölçümlerin ardından SPF değerleri aşağıda verilen Mansur eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır (135,136).

Mansur eşitliği:

$$SPF_{spektrofotometrik} = CF \times \sum_{290}^{320} EE\,(\lambda) \times I\,(\lambda) \times Abs\,(\lambda)$$

EE **:** eritemal etki spektrumu
I **:** güneş yoğunluğu spektrumu
CF : doğrulama faktörü (=10)
Abs : absorbans

4. BULGULAR

4.1. Botanik Çalışmalara Ait Bulgular

4.1.1. *Rosa damascena* Mill. (Şekil 4.1.)





Şekil 4.1. *Rosa damascena* Mill. genel görünüşü.

Organoleptik Özellikler

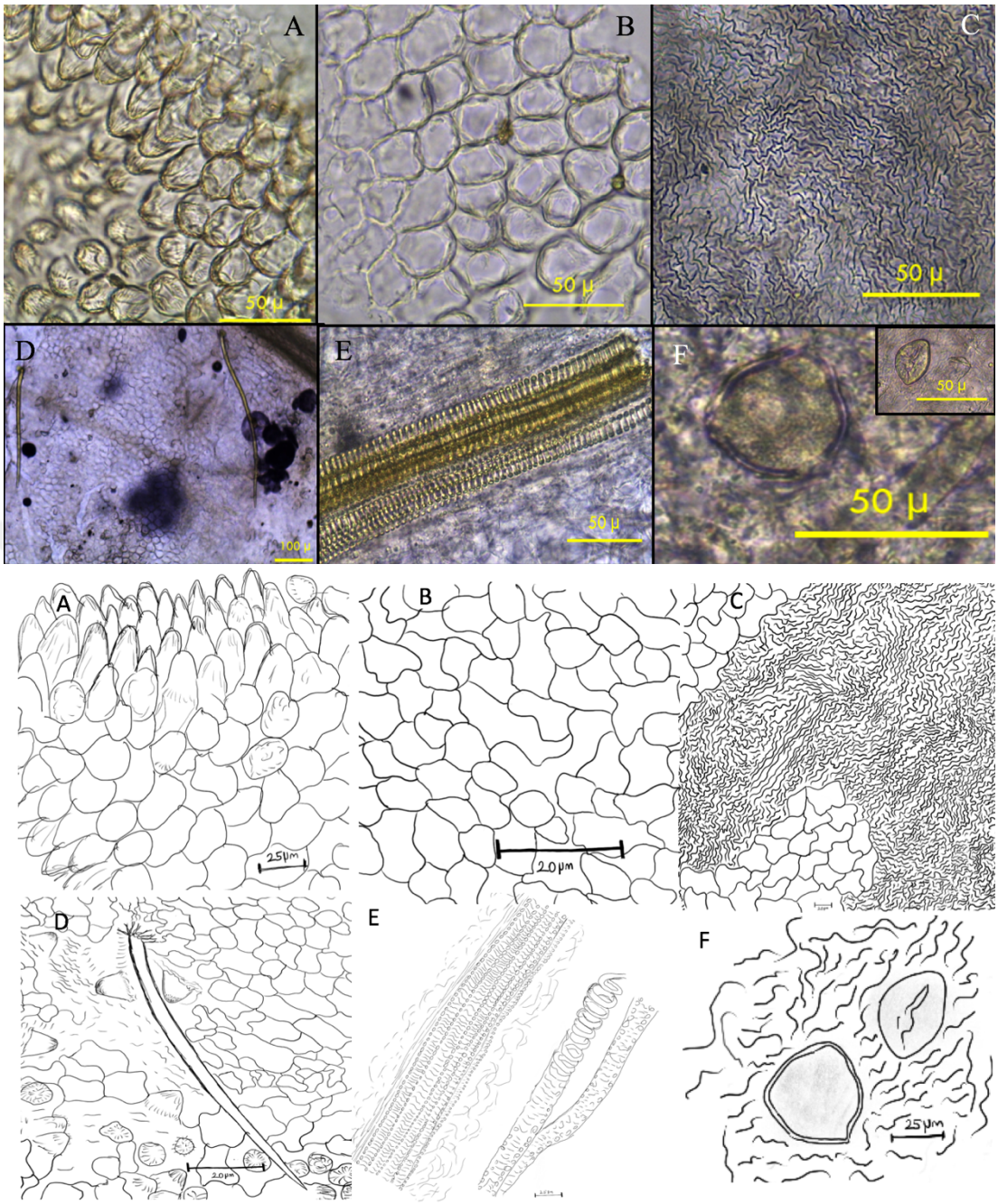
Petallere ait toz drog açık pembemsi sarı renkli, heterojen bir görünüme sahip olup karakteristik gül kokusu taşımaktadır. Tadı, önce hafif kekremsi sonra tatlıdır.

Petal Morfolojisi

Petaller obovattan sub-kordata kadar değişen şekillerde, 1.1-3.1 cm genişlikte, 1.5-2.9 cm uzunlukta, açık pembeden, pembe, koyu pembe ve soluk kırmızıya kadar değişen renklerde, dıştaki petaller içtekilerden daha büyük, petal tabanı krem-beyaz lekeli.

Petal Anatomisi

Toz drog Sartur ve Kloralhidrat reaktifleri kullanılarak incelenmiş ve şu karakteristik özellikler tespit edilmiştir: (Şekil 4.2.). Adaksiyal epiderma hücreleri yoğun konik papillalı (A); mezofil yuvarlak ve dikdörtgen şekilli parenkimatik hücrelerden oluşmuş (B); abaksiyal epiderma hücreleri yoğun kütikula kırışıklı (C); yer yer basit örtü tüylü ve tüy tabanında kütikula kırışıklıkları belirgin (D); iletim demetleri (E) her iki yüzde bulunur; doğrudan petal elemanı olmamasına karşın kontaminasyon sonucu Rosaceae familyasında sıklıkla görülen trikolporat polen tanelerine (F) rastlanabilir.



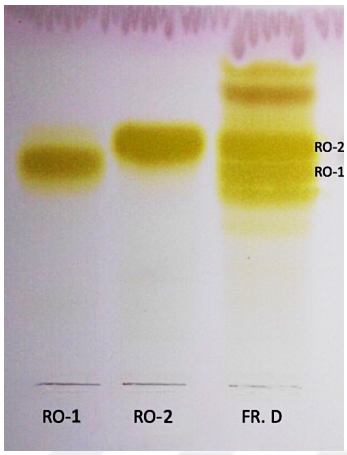
Şekil 4.2. *Rosa damascena* anatomik karakterler.

4.2. Fitokimyasal ve Analitik Çalışmalara Ait Bulgular

4.2.1. İşaretleyici Olarak Belirlenen Bileşiklerin İzolasyonu ve Yapı Tayini

Analitik çalışmalarda işaretleyici olarak kullanılmasına karar verilen majör bileşikler, daha önce izole ettiğimiz bileşiklerle İTK, HPTLC ve HPLC yardımıyla karşılaştırılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde bileşiklerin Kemferol 3-*O*-galaktozit

(RO-1) ve Kemferol 3-*O*-glukozit (RO-2) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3. - Şekil 4.9.)

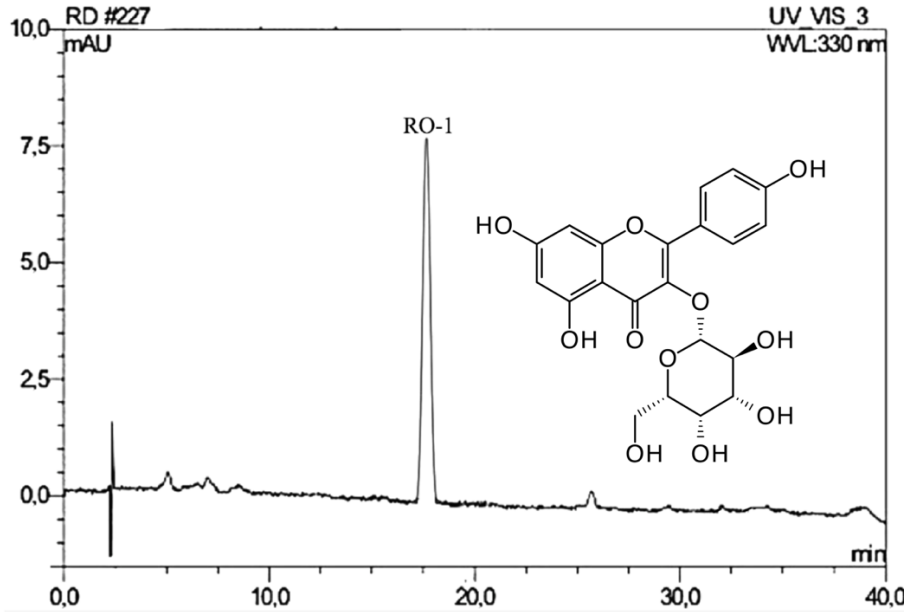


Şekil 4.3. Fr.D'den saf olarak izole edilen bileşiklerin İTK kromatogramı.

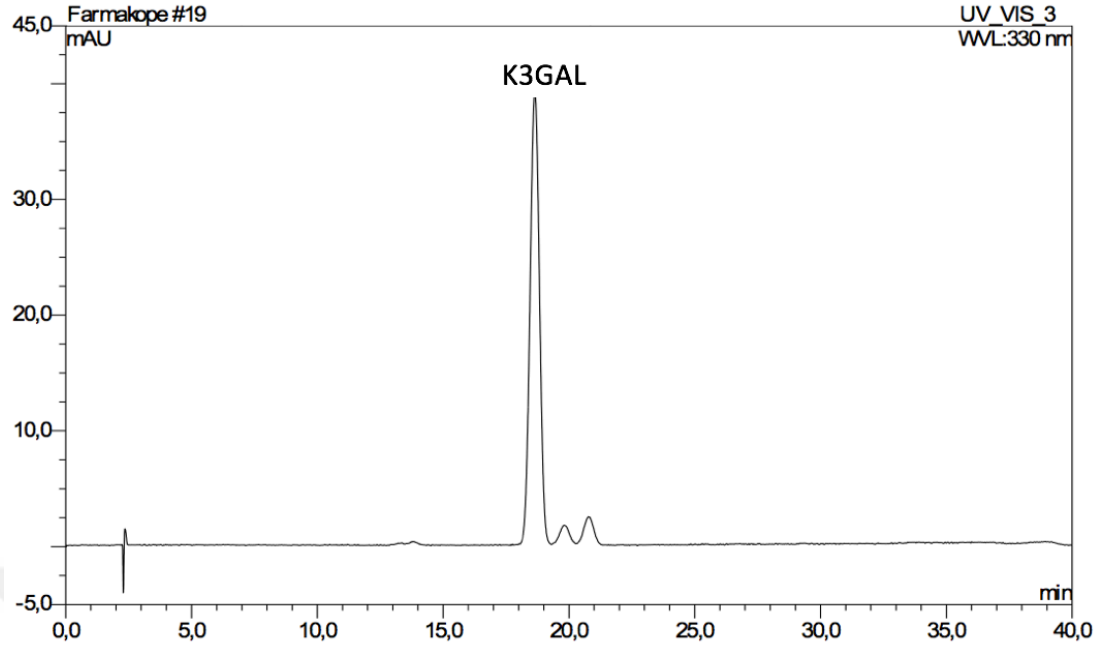
İzole edilen bileşikler ve standart maddeler ayrı ayrı Bölüm 3.6.4.'de anlatılan HPLC yöntemi kullanılarak sisteme tatbik edilmiş ve alıkonma zamanlarının aynı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.1.). Buna ek olarak bileşikleri teyit etmek için standart ekleme yöntemi uygulanmış ve bileşiklerin yapılarının doğrulukları ispatlanmıştır.

Tablo 4.1. İzole edilen bileşiklerin ve standart maddelerin alıkonma zamanları.

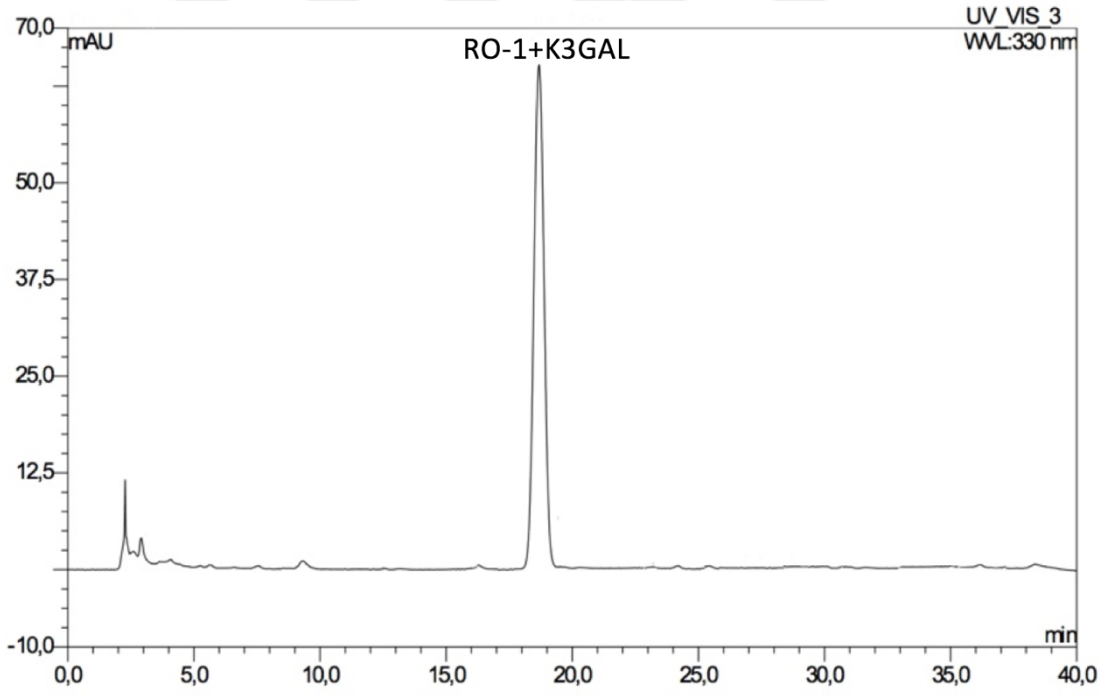
İzole Edilen Bileşik	**Standart Madde**	**Alıkonma Zamanları (dk.)**
RO-1	Kemferol 3-*O*-galaktozit	~19
RO-2	Kemferol 3 -glukozit	~20



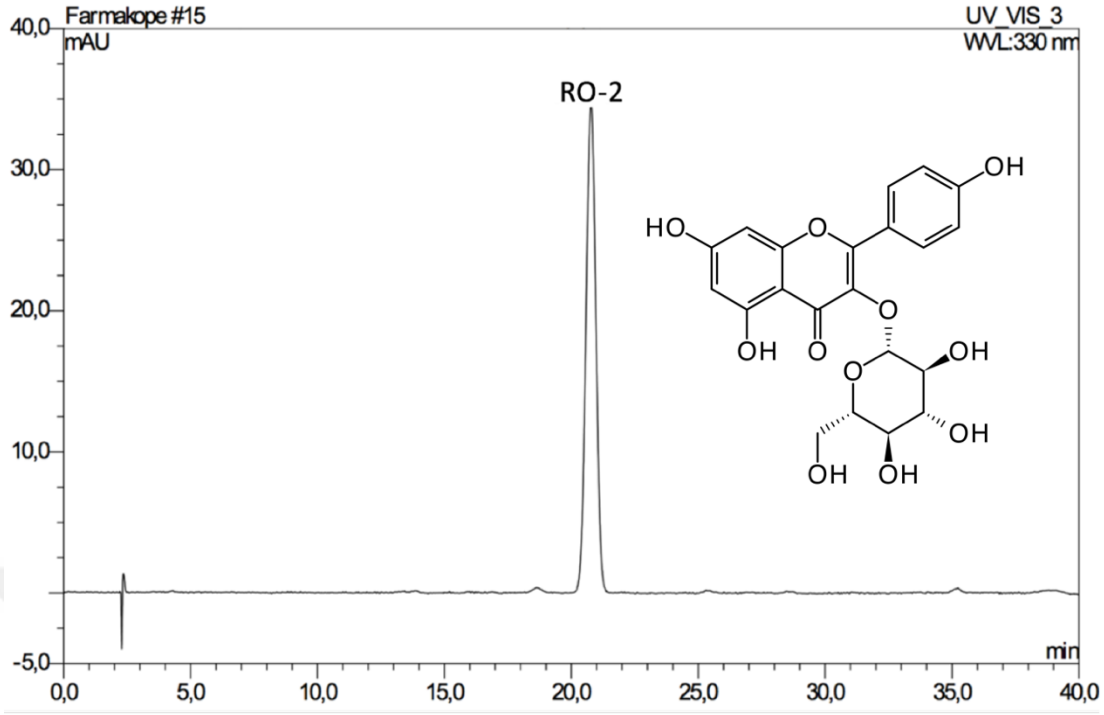
Şekil 4.4. İzole edilen Kemferol 3-*O*-galaktozit (RO-1) bileşiğinin HPLC kromatogramı.



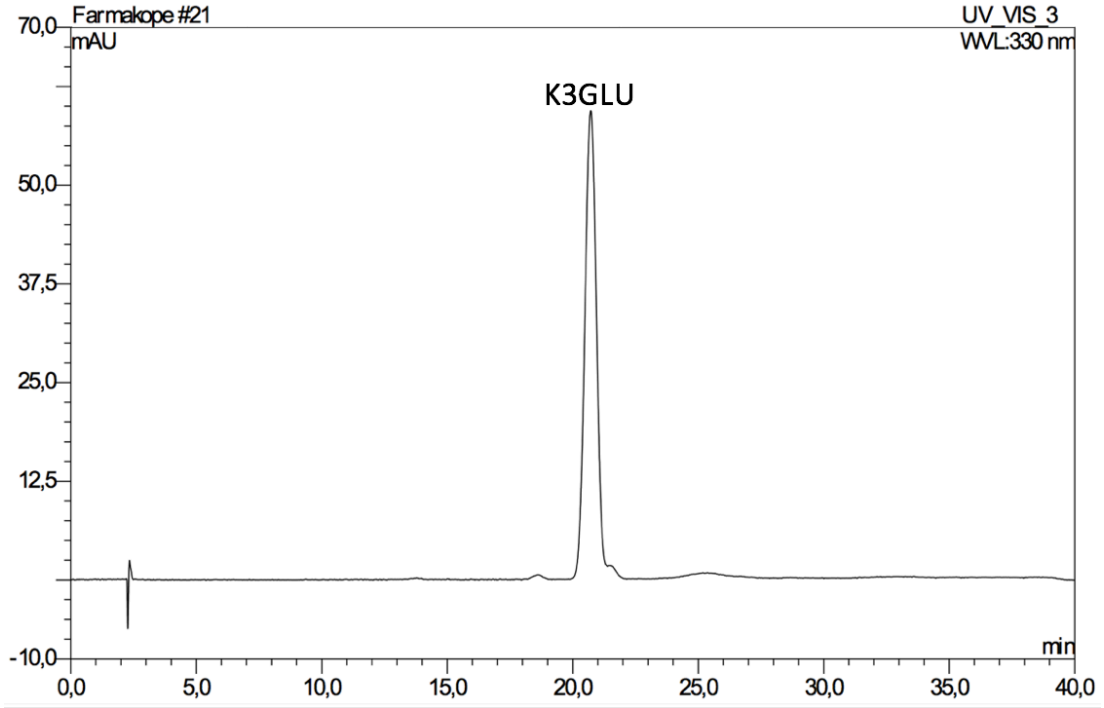
Şekil 4.5. Kemferol 3-*O*-galaktozit (K3GAL) standart bileşiğinin HPLC kromatogramı.



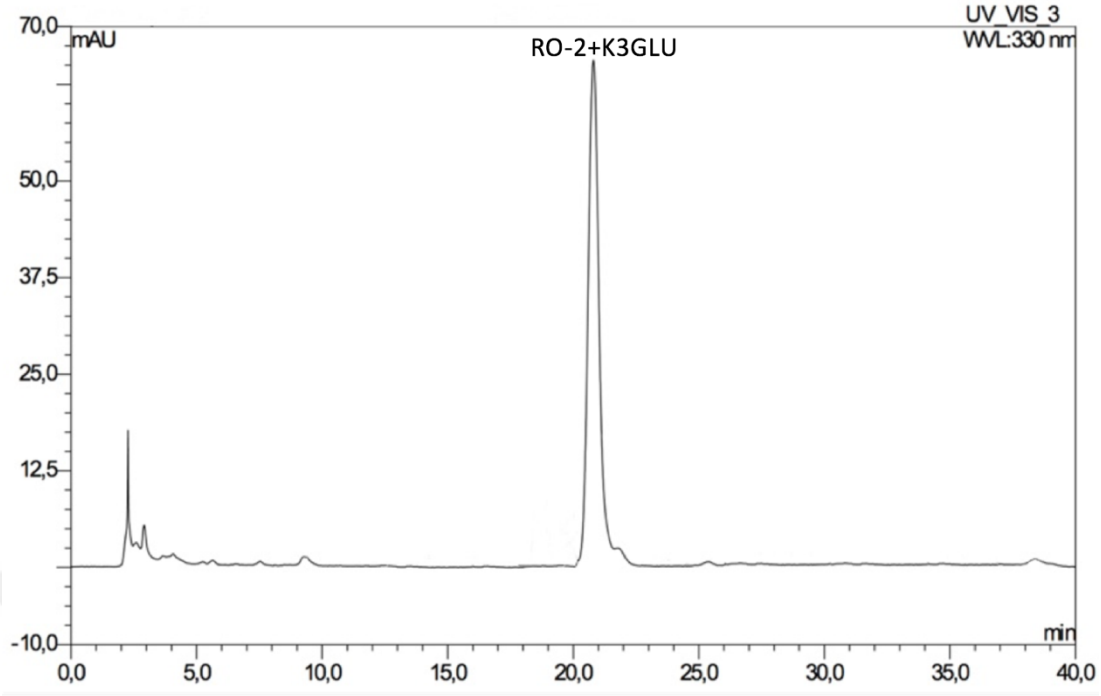
Şekil 4.6. İzole edilen RO-1 bileşiği üzerine Kemferol 3-*O*-galaktozit standart bileşiği ilavesi.



Şekil 4.7. İzole edilen Kemferol 3-*O*-glukozit (RO-2) bileşiğinin HPLC kromatogramı.



Şekil 4.8. Kemferol 3-*O*-glukozit (K3GLU) standart bileşiğinin HPLC kromatogramı.



Şekil 4.9. İzole edilen RO-2 bileşiği üzerine Kemferol 3- glukozit standart bileşiği ilavesi.

4.2.2. İTK Yöntem Optimizasyonu

Test çözeltisi: 0.5 g toz drog üzerine 10 mL *metanol R* ilave edilir. 40°C'lik su banyosunda 10 dakika karıştırılarak ısıtılıp süzülür.

Şahit çözelti: 3.0 mg *kemferol 3-O-galaktozit R* (A), *kemferol 3-O-glukozit R* (B) ve *kemferol 3-O-ramnozit R* (C), 10'ar mL *metanol R*'de çözülür.

Plak: *İTK Silika jel 60 F_{254} plak R*

Hareketli faz: *etil asetat R, formik asit R, asetik asit R, su R* (100:11:11:10, *h/h/h/h*)

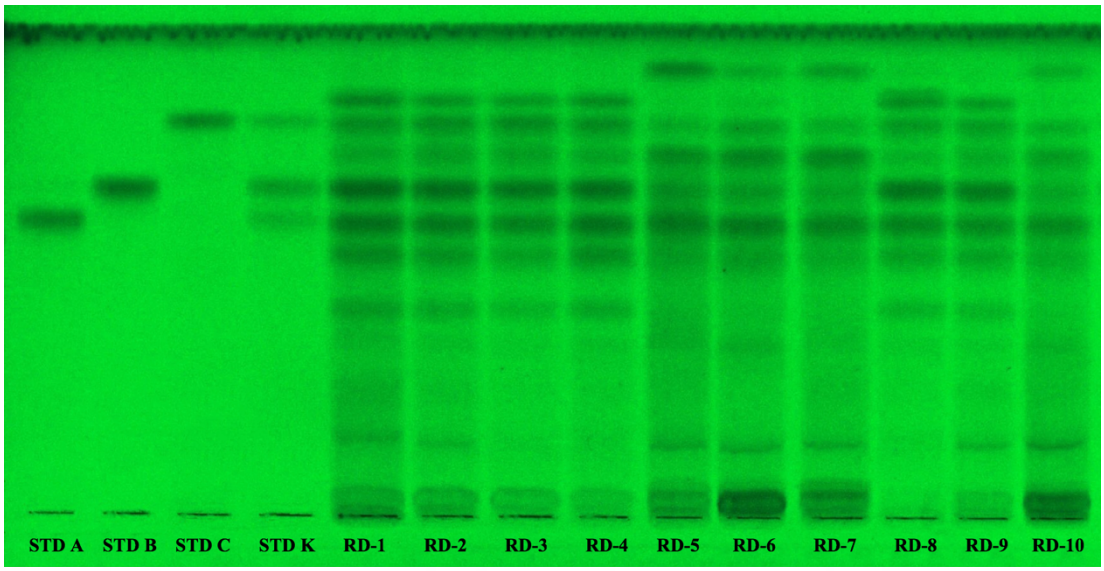
Uygulama: 10 µL, bantlar halinde.

Sürükleme: doyurulmuş tank, sürüklenme mesafesi plak tabanından 95 mm.

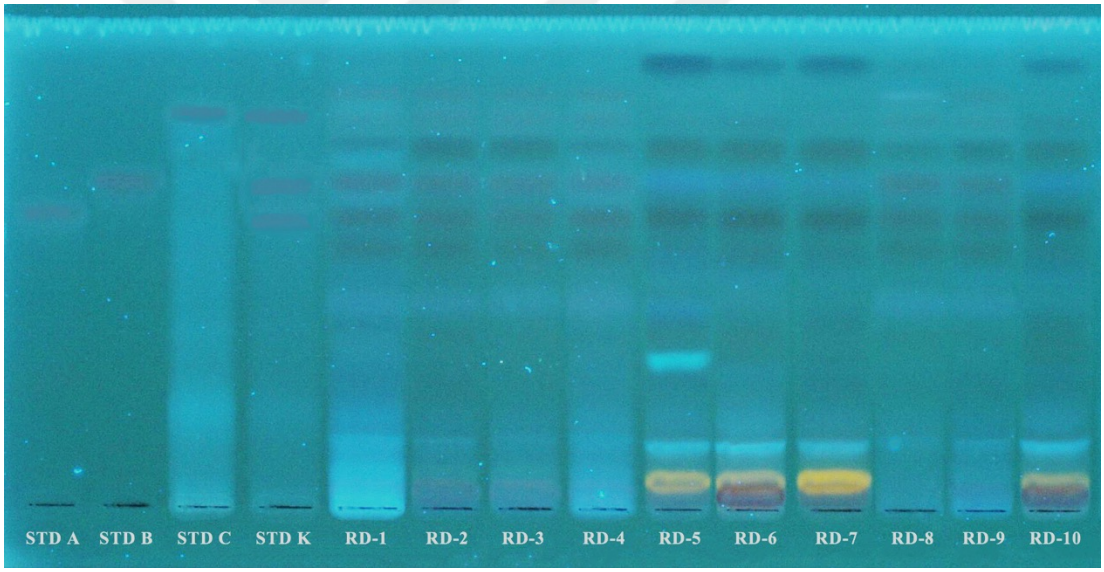
Kurutma: havada

Tespit: Önce UV 254 nm ve UV 366 nm de incelenir, plağa vanilinin sülfürik asit içerisindeki %1'lik çözeltisi püskürtülür, 100 °C de 3 dakika ısıtılır.

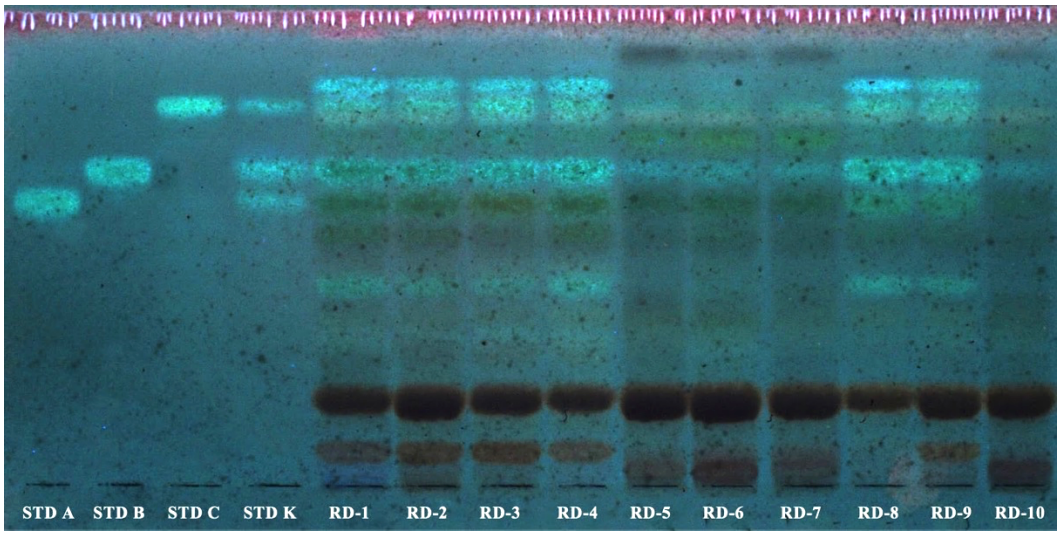
Sonuçlar: Şahit çözeltiler ve test çözeltileri ile elde edilen kromatogramdaki lekeler aşağıda görüldüğü gibi sıralanmıştır. Bunların yanı sıra test çözeltisi ile elde edilen kromatogramda başka lekeler de bulunabilir (Şekil 4.10 – Şekil 4.13.).



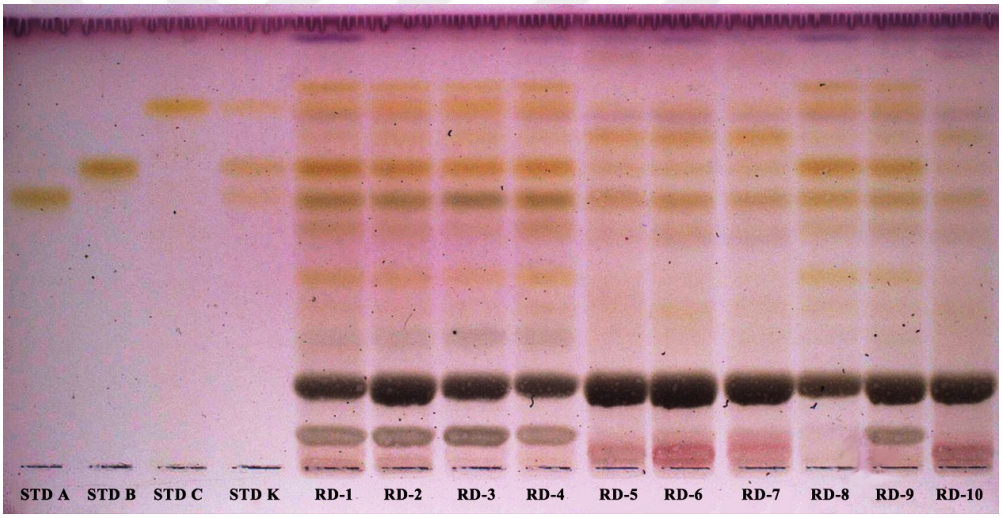
Şekil 4.10. *Rosa damascena* metanol ekstreleri İTK kromatogramı (254 nm); kemferol 3-*O*-galaktozit (A), kemferol 3-*O*-glukozit (B), kemferol 3-*O*-ramnozit (C), STD K (Standart karşımı).



Şekil 4.11. *Rosa damascena* metanol ekstreleri İTK kromatogramı (366 nm); kemferol 3-*O*-galaktozit (A), kemferol 3-*O*-glukozit (B), kemferol 3-*O*-ramnozit (C), STD K (Standart karşımı).



Şekil 4.12. *Rosa damascena* metanol ekstreleri İTK kromatogramı (% 1 vanilin H_2SO_4 püskürtüldükten sonra; 366 nm); kemferol 3-*O*-galaktozit (A), kemferol 3-*O*-glukozit (B), kemferol 3-*O*-ramnozit (C), STD K (Standart karşımı).



Şekil 4.13. *Rosa damascena* metanol ekstreleri İTK kromatogramı (% 1 vanilin H_2SO_4 püskürtüldükten sonra; beyaz ışık); kemferol 3-*O*-galaktozit (A), kemferol 3-*O*-glukozit (B), kemferol 3-*O*-ramnozit (C), STD K (Standart karşımı).

4.2.3. HPTLC Yöntem Optimizasyonu

Test çözeltisi: 0.5 g toz drog üzerine 10 mL *metanol R* eklenir. 40 °C' lik su banyosunda 10 dakika karıştırılarak ısıtılıp süzülür.

Şahit çözelti: 3.0 mg *kemferol 3-O-galaktozit R* (A), *kemferol 3-O-glukozit R* (B) ve *kemferol 3-O-ramnozit R* (C), 10'ar mL *metanol R*'de çözülür.

Plak: *HPTLC Silika jel 60 F_{254} plak R*

Hareketli faz: *etil asetat R, formik asit R, asetik asit R, su R* (100:11:11:10, *h/h/h/h*)

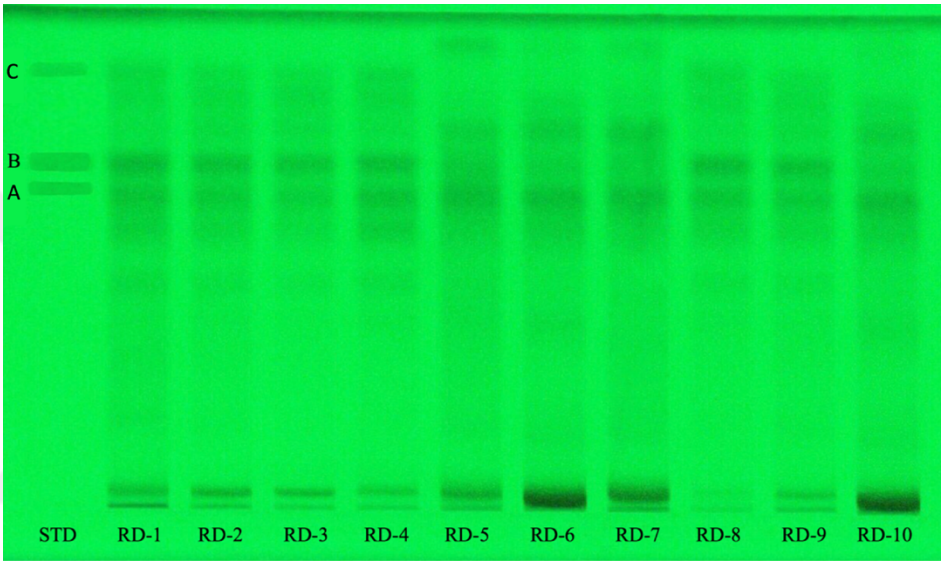
Uygulama: 10 µL, bantlar halinde.

Sürükleme: doyurulmuş tank, sürüklenme mesafesi plak tabanından 70 mm.

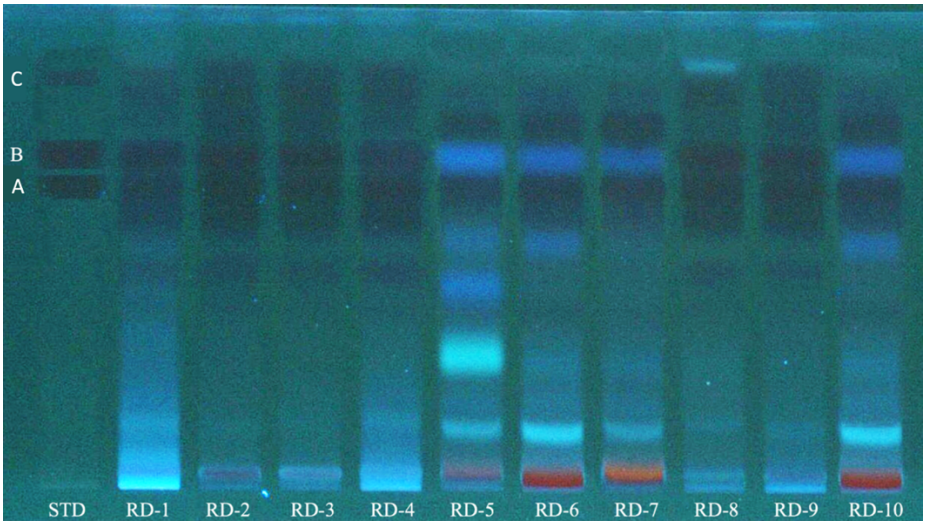
Kurutma: havada

Tespit: önce UV 254 nm ve UV 366 nm de incelenir, plağa *vanilinin sülfürik asit içerisindeki %1'lik çözeltisi R* püskürtülür, 100 °C de 3 dakika ısıtılır.

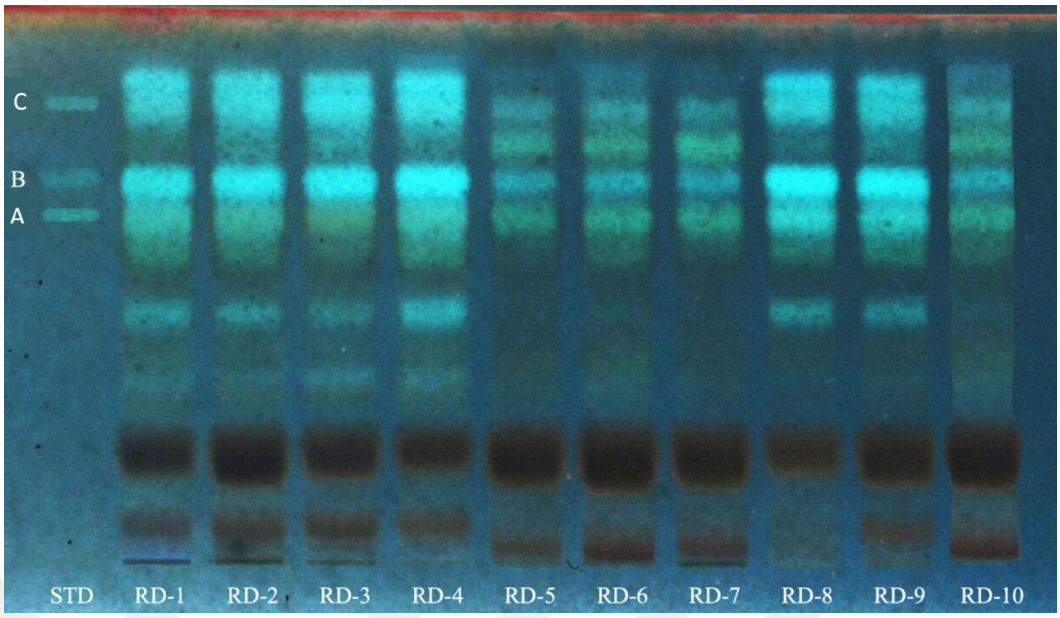
Sonuçlar: Şahit çözeltiler ve test çözeltileri ile elde edilen kromatogramdaki lekeler aşağıda görüldüğü gibi sıralanmıştır. Bunların yanı sıra test çözeltisi ile elde edilen kromatogramda başka lekeler de bulunabilir (Şekil 4.14. - Şekil 4.17.)



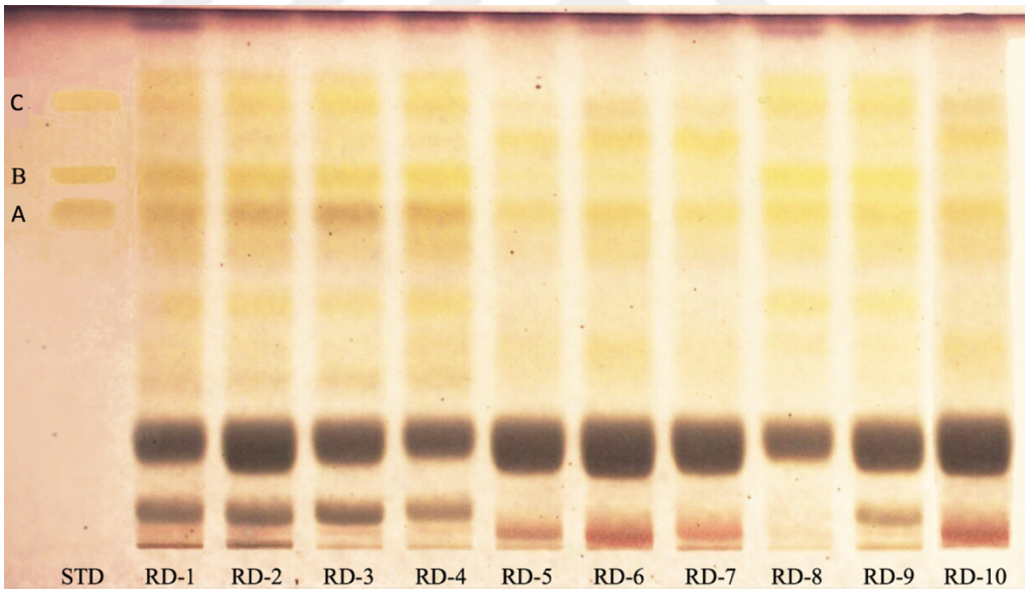
Şekil 4.14. *Rosa damascena* metanol ekstreleri HPTLC kromatogramı (254 nm); kemferol 3-*O*-galaktozit (A), kemferol 3-*O*-glukozit (B), kemferol 3-*O*-ramnozit (C), standart karışımı (STD).



Şekil 4.15. *Rosa damascena* metanol ekstreleri HPTLC kromatogramı (366 nm); kemferol 3-*O*-galaktozit (A), kemferol 3-*O*-glukozit (B), kemferol 3-*O*-ramnozit (C), standart karışımı (STD).



Şekil 4.16. *Rosa damascena* metanol ekstreleri HPTLC kromatogramı (% 1 vanilin H_2SO_4 püskürtüldükten sonra; 366 nm); kemferol 3-*O*-galaktozit (A), kemferol 3-*O*-glukozit (B), kemferol 3-*O*-ramnozit (C), standart karışımı (STD).



Şekil 4.17. *Rosa damascena* metanol ekstreleri HPTLC kromatogramı (% 1 vanilin H_2SO_4 püskürtüldükten sonra; beyaz ışık); kemferol 3-*O*-galaktozit (A), kemferol 3-*O*-glukozit (B), kemferol 3-*O*-ramnozit (C), standart karışımı (STD).

4.2.4. HPLC Çalışmaları

HPLC Yöntem Optimizasyonu

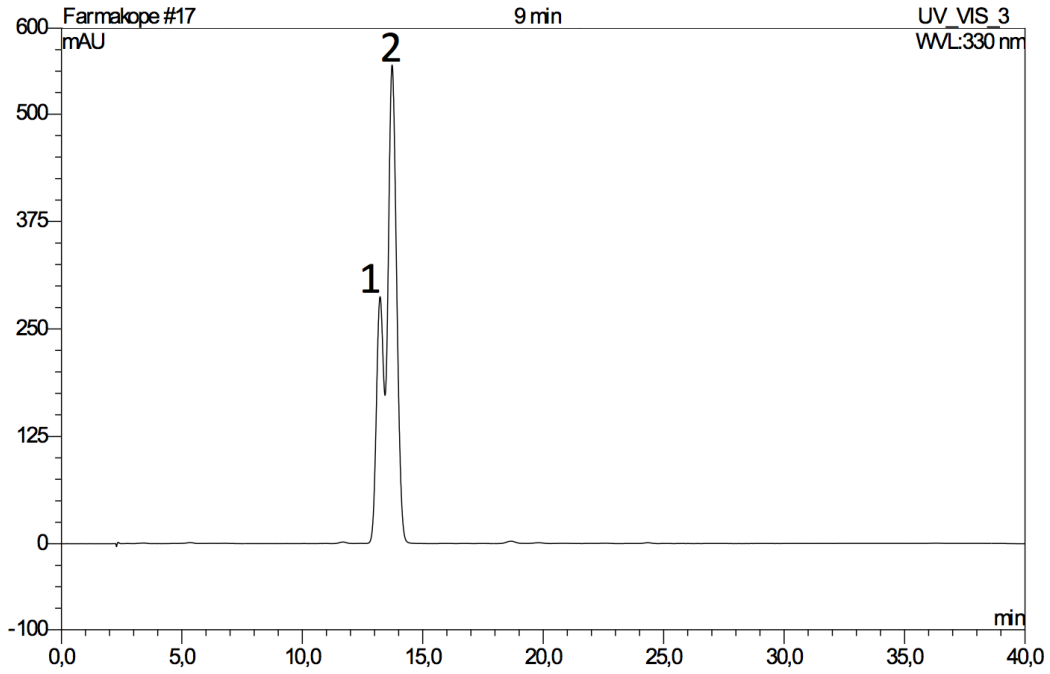
Bölüm 3.6.4.'te belirtildiği gibi en iyi, hızlı ve güvenilir ayrım sağlayan HPLC yönteminin geliştirilmesi için 52 farklı yöntem denenmiş ve sonuç olarak tüm koşullar optimize edilmiştir. Belirlenen yöntemde 6 farklı flavonoitin alıkonma zamanları tespit edilmiş ve sonuç olarak kemferol 3-*O*-galaktozit (3) ve kemferol 3-*O*-glukozit (5) en iyi şahit maddeler olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Belirlenen HPLC yönteminde tespit edilen bileşikler.

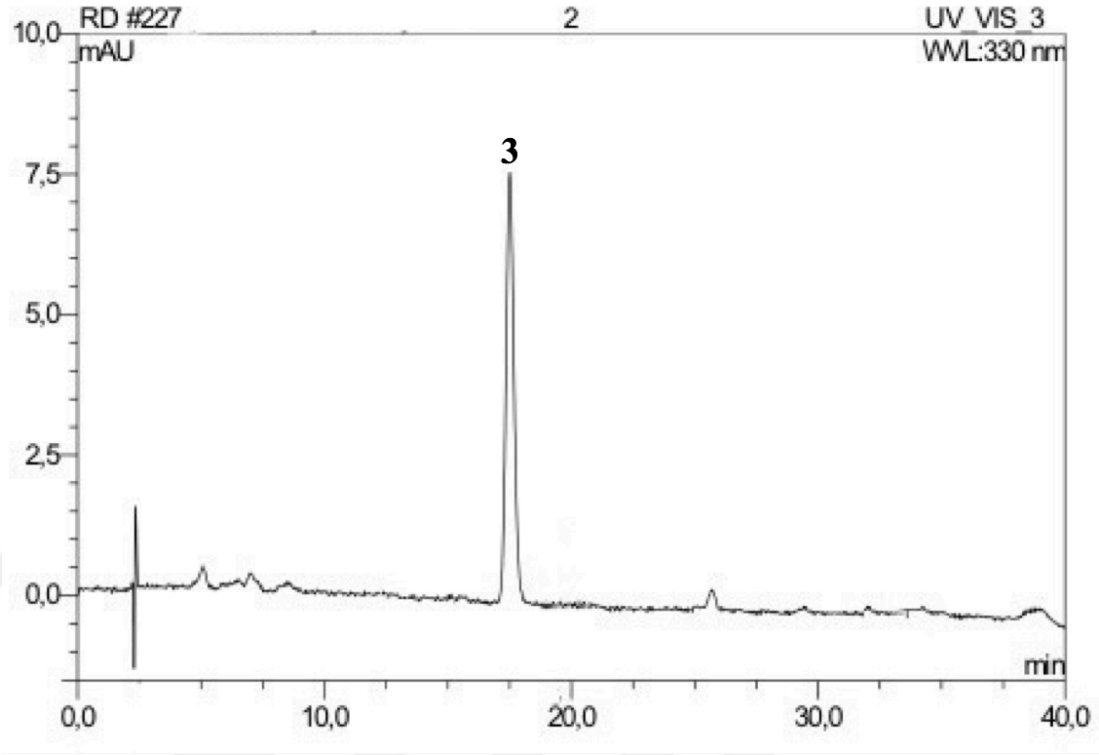
Pik No*	Bileşik	Alıkonma Zamanları (dk)
1**	Kersetin 3-*O*-galaktozit	13.2
2**	Kersetin 3-*O*-glukozit	13.7
3	Kemferol 3-*O*-galaktozit	18.6
4	Kersetin 3-*O*-ramnozit	19.7
5	Kemferol 3-*O*-glukozit	20.7
6	Kemferol 3-*O*-ramnozit	28.2

*: Kromatogramlardaki piklerin sıra numaraları
**: 1 ve 2 nolu madde ekstrede karışım olarak bulunmaktadır.

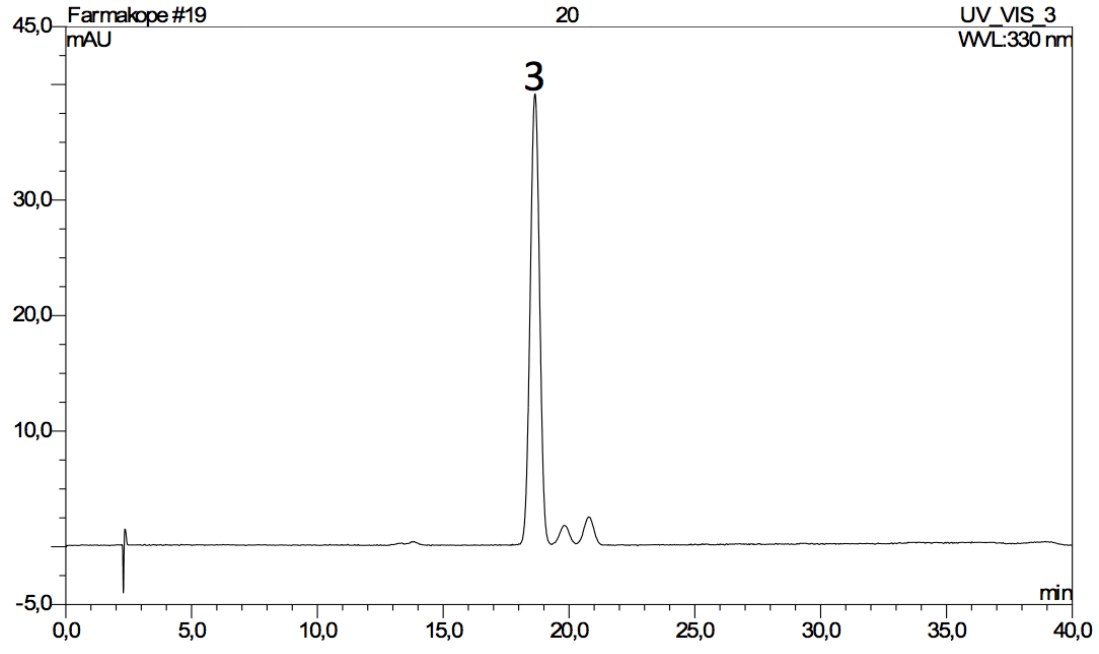
Tespit edilen standart maddelerin kromatogramları Şekil 4.18. - Şekil 4.26'da verilmiştir.



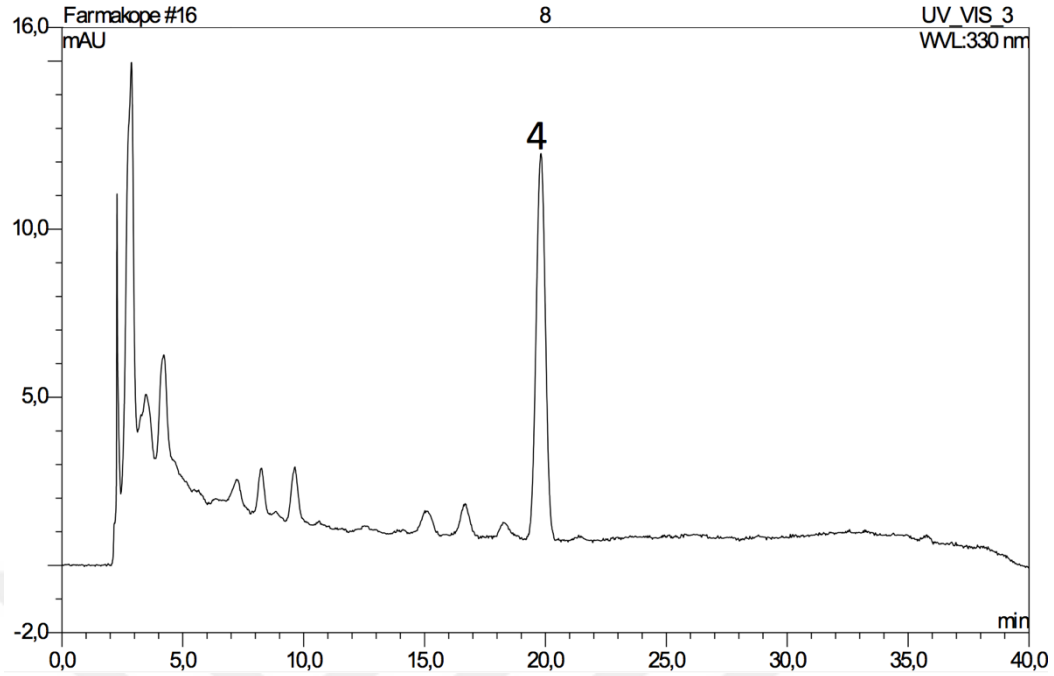
Şekil 4.18. Kersetin 3-*O*-galaktozit (1) ve Kersetin 3-*O*-glukozit (2) bileşikleri karışımı HPLC kromatogramı.



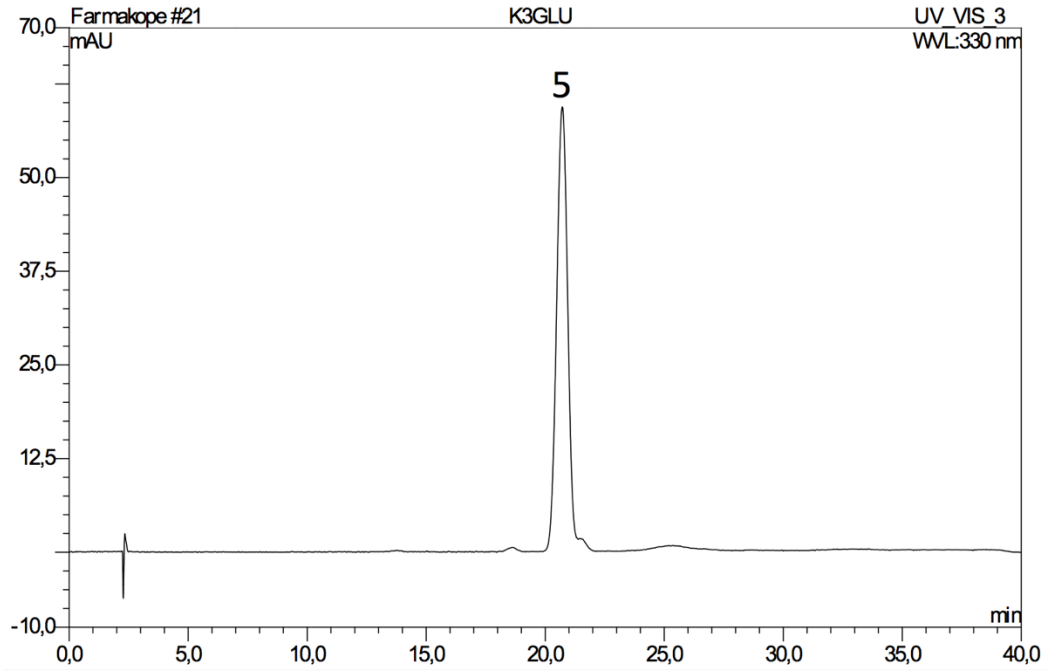
Şekil 4.19. RD-1'den izole edilen Kemferol 3-*O*-galaktozit (3) HPLC kromatogramı.



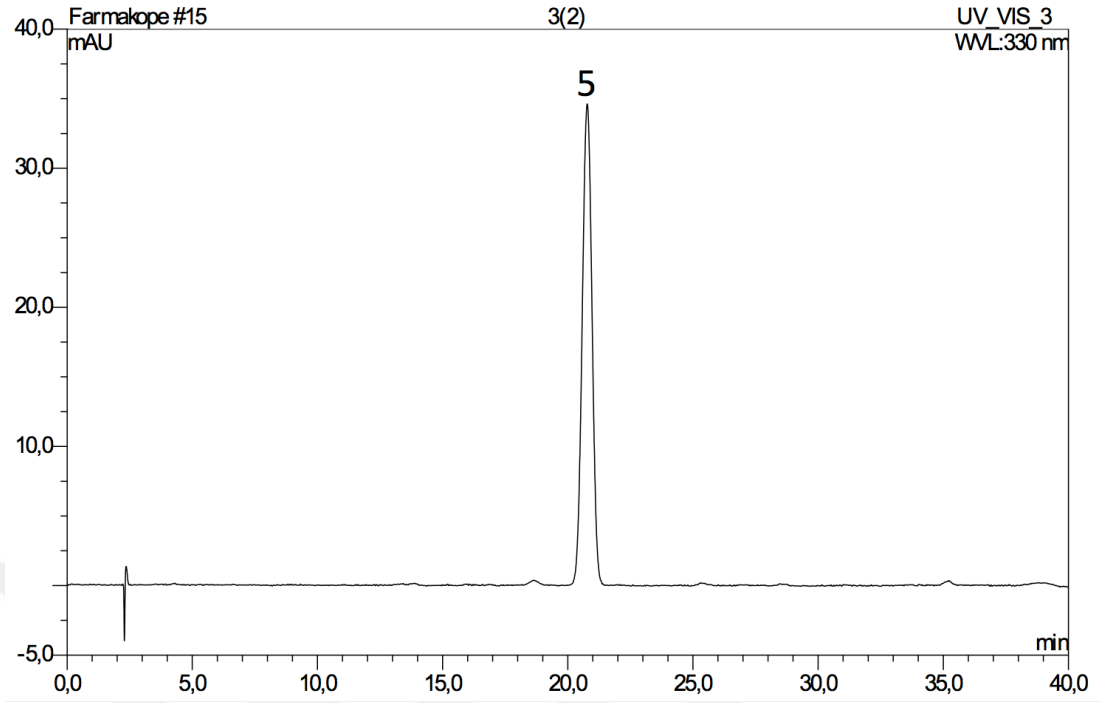
Şekil 4.20. Kemferol 3-*O*-galaktozit HPLC kromatogramı.



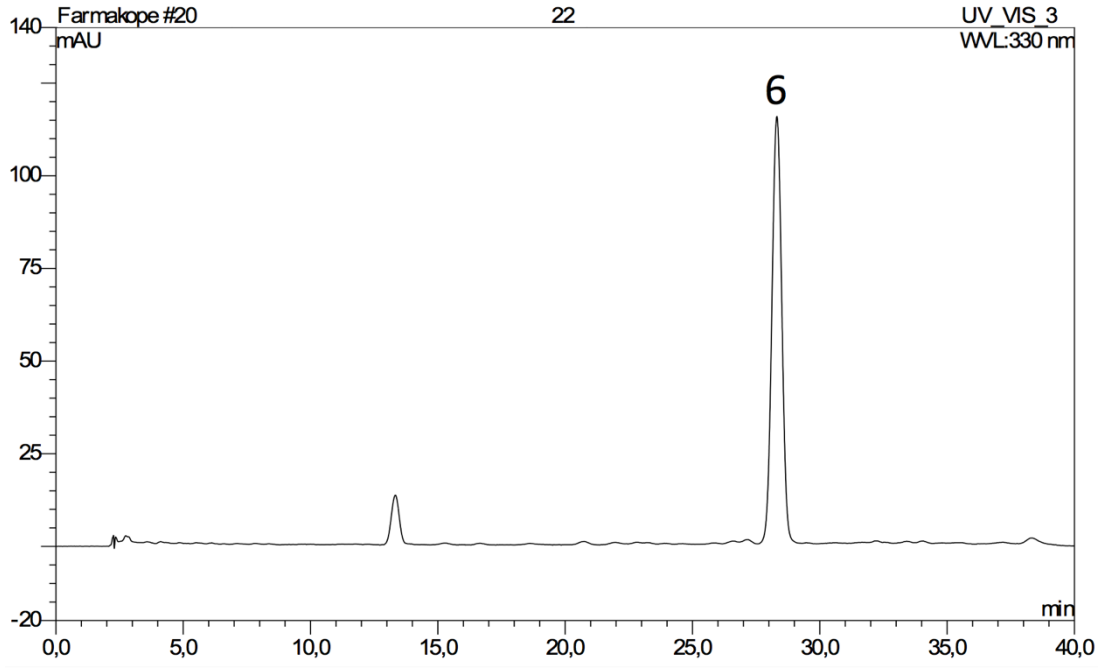
Şekil 4.21. Kersetin 3-*O*-ramnozit HPLC kromatogramı.



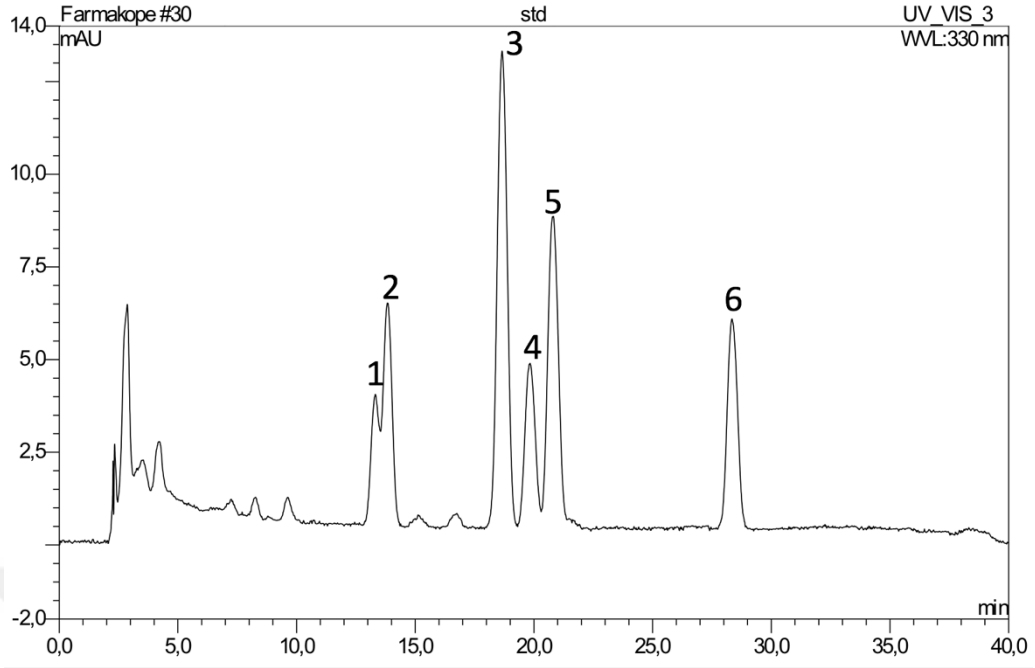
Şekil 4.22. Kemferol 3-*O*-glukozit HPLC kromatogramı.



Şekil 4.23. RD-1'den izole edilen Kemferol 3-*O*-glukozit.

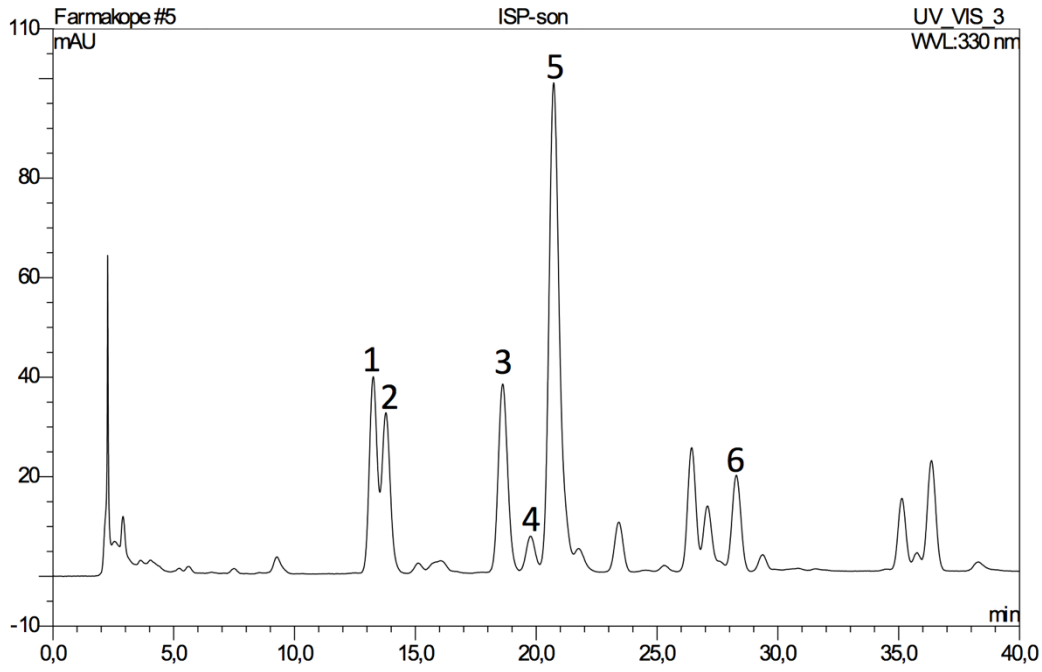


Şekil 4.24. Kemferol 3-*O*-ramnozit HPLC kromatogramı.

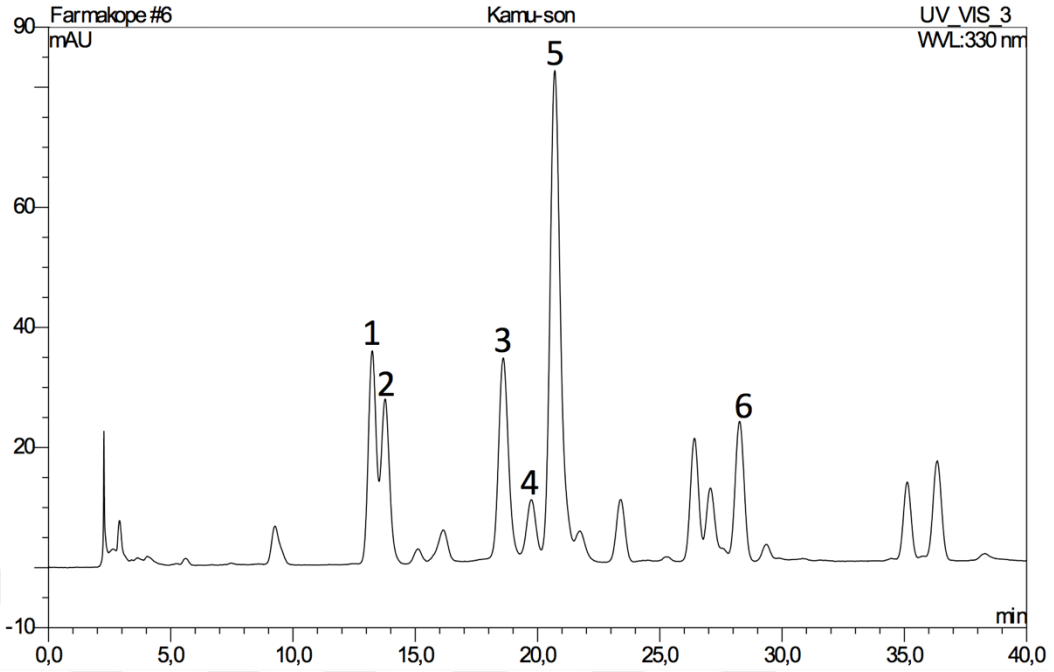


Şekil 4.25. Standart madde karışımının HPLC kromatogramı.

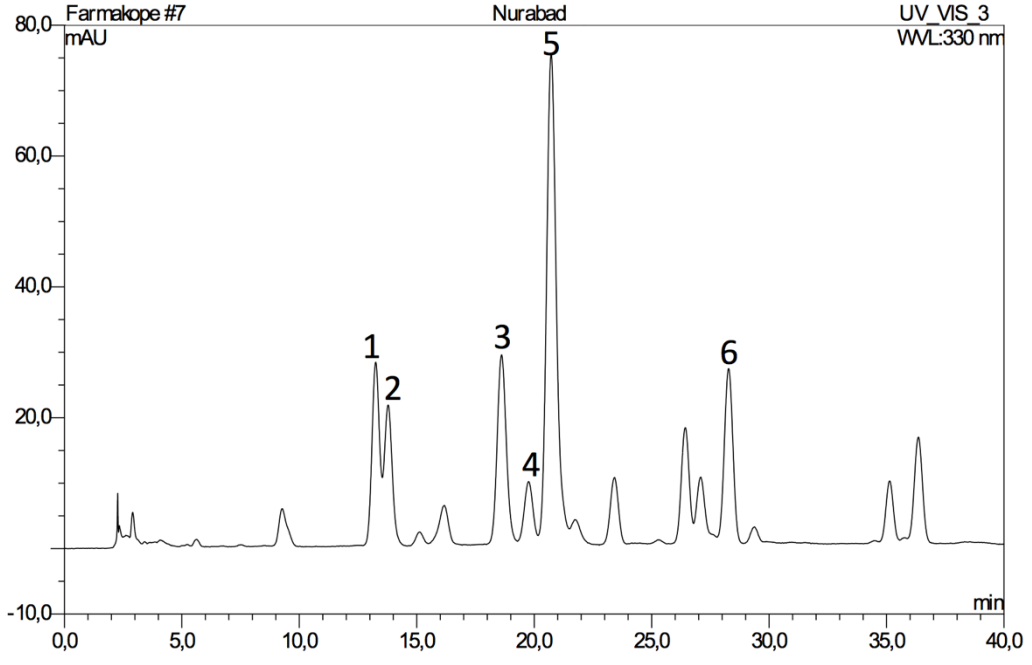
Çalışmada biri Türkiye (Isparta), biri Pakistan ve 8 tanesi İran'ın farklı bölgelerinden olmak üzere 10 farklı *Rosa damascena* petal numunesinin belirlenen yöntemle HPLC kromatogramları çıkartılmıştır (Şekil 4.26. – Şekil 4.35.).



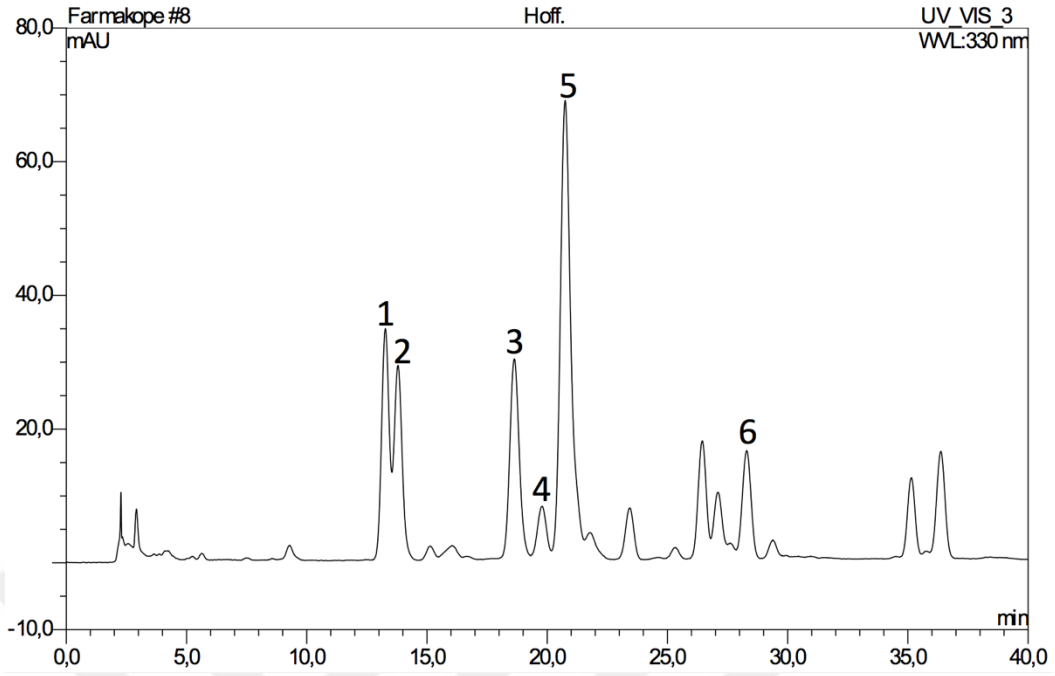
Şekil 4.26. RD-1 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı.



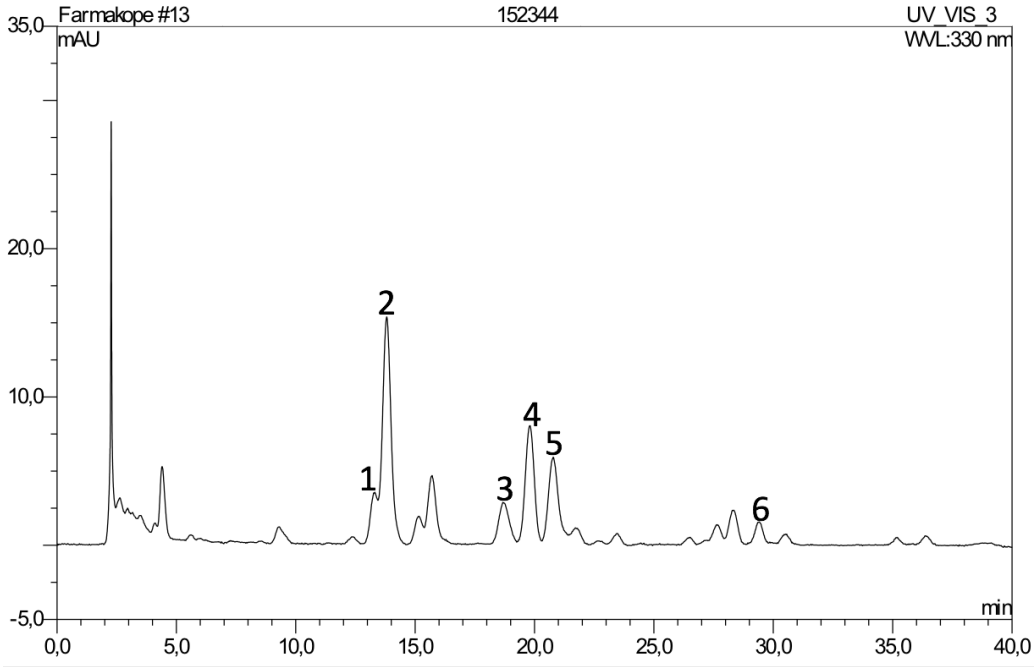
Şekil 4.27. RD-2 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı.



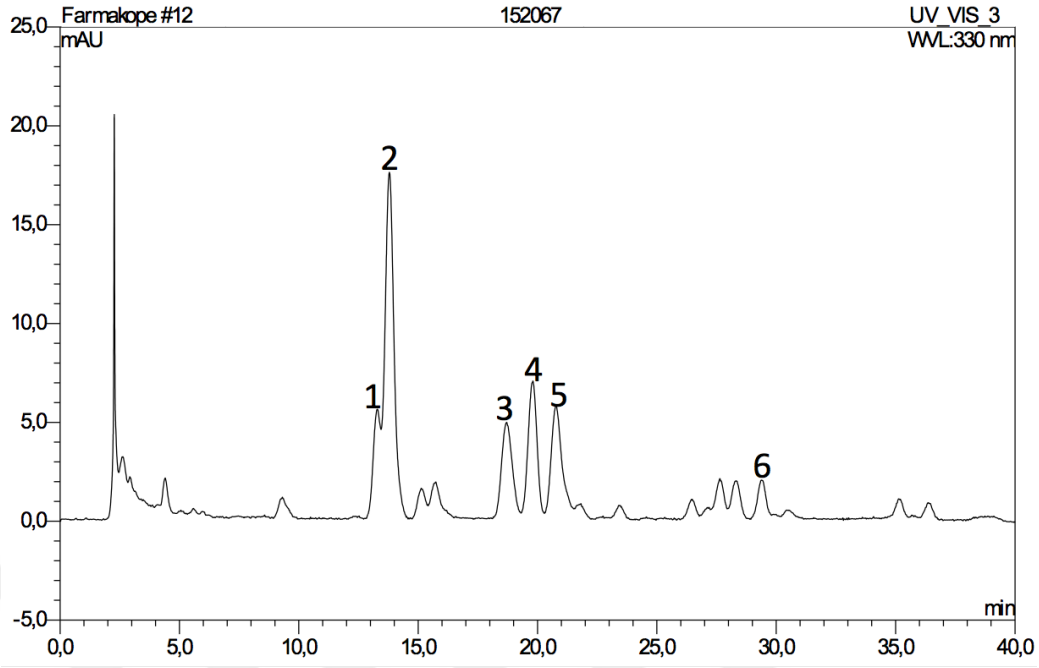
Şekil 4.28. RD-3 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı.



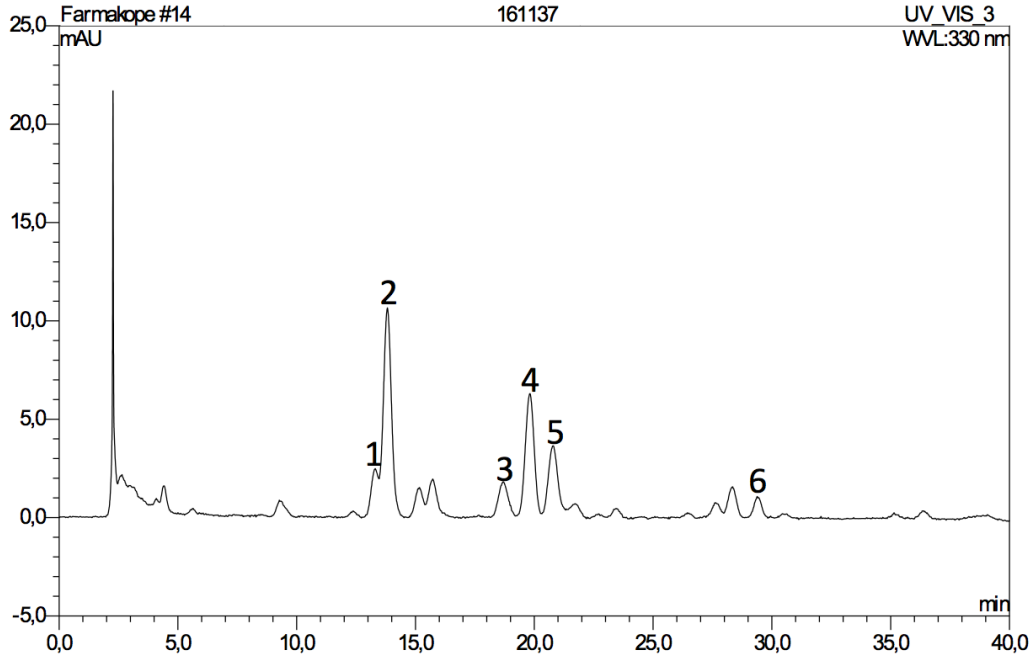
Şekil 4.29. RD-4 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı.



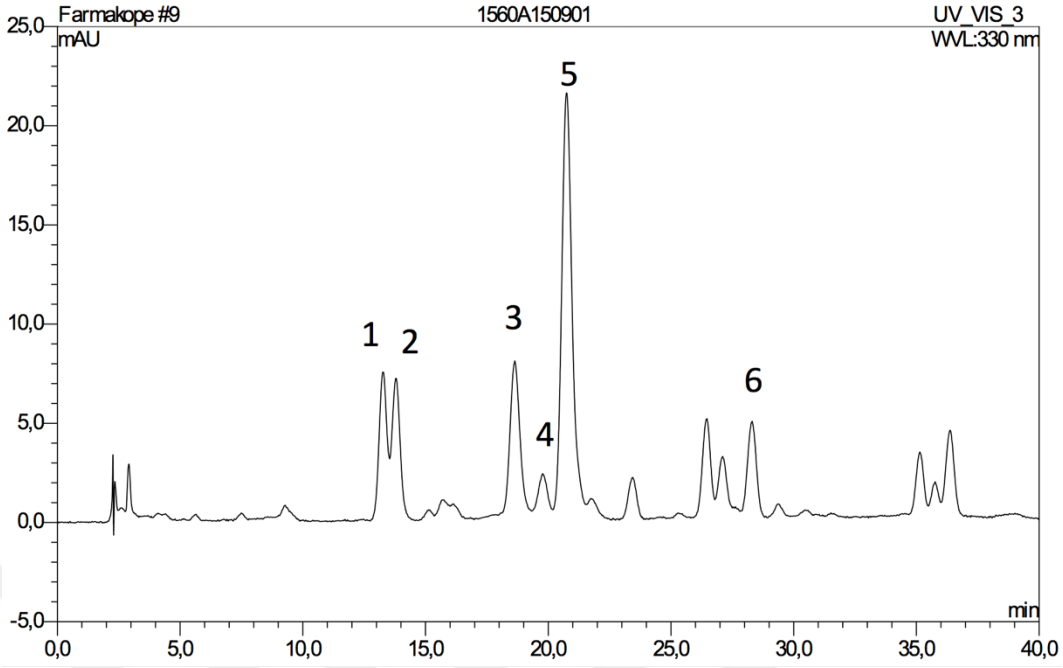
Şekil 4.30. RD-5 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı.



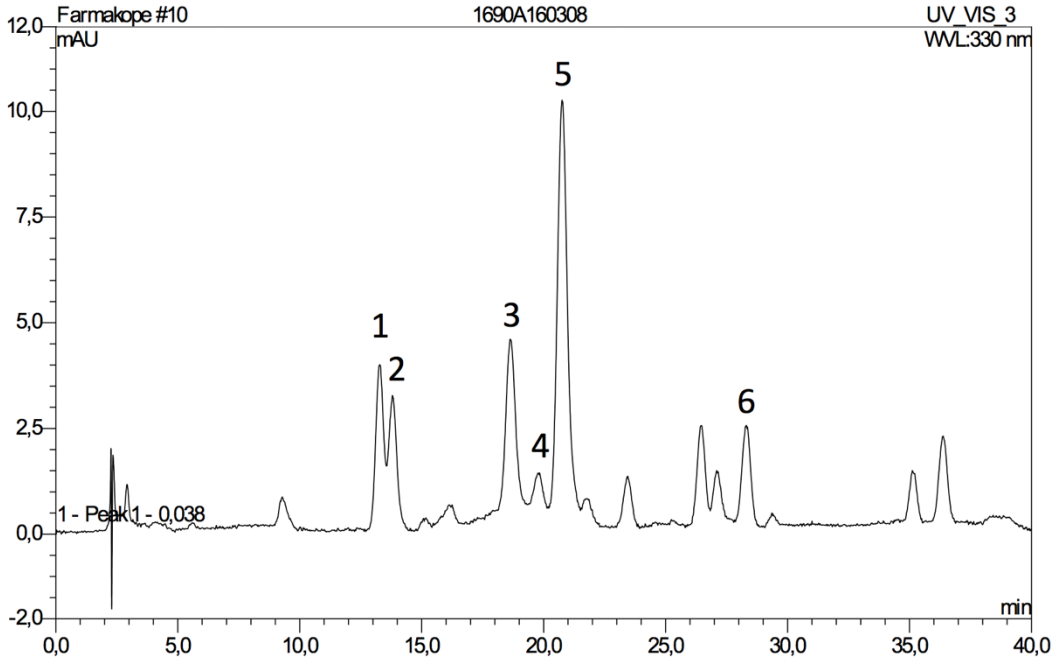
Şekil 4.31. RD-6 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı.



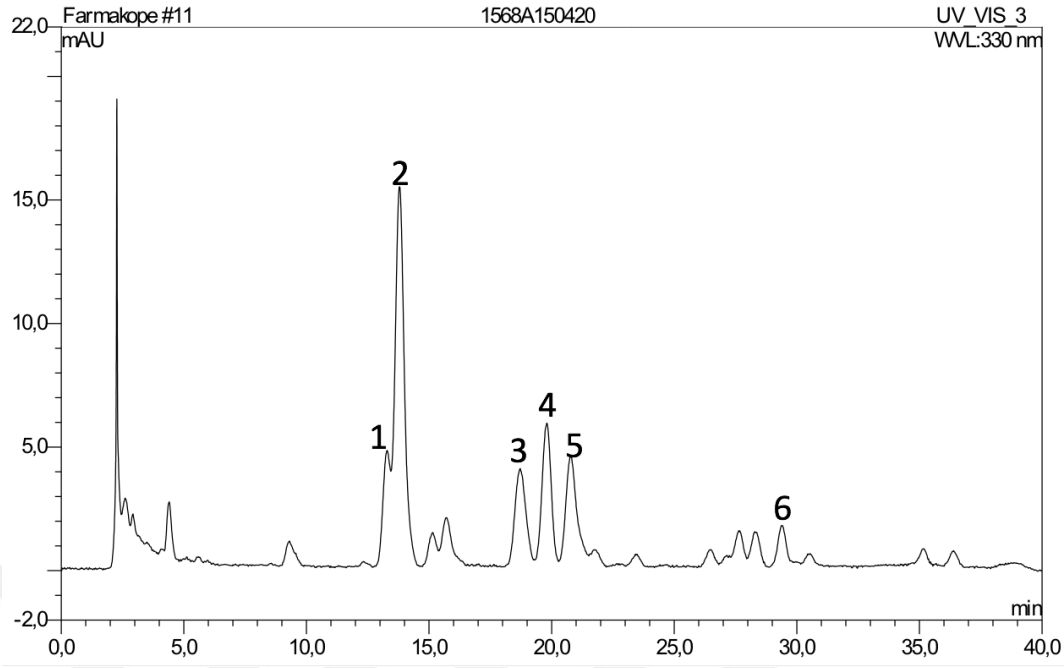
Şekil 4.32. RD-7 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı.



Şekil 4.33. RD-8 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı.



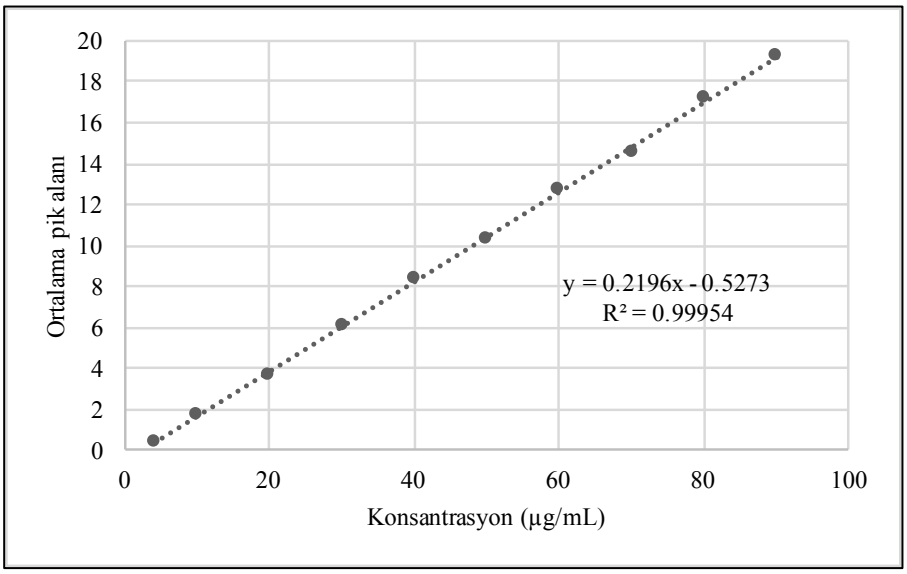
Şekil 4.34. RD-9 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı.



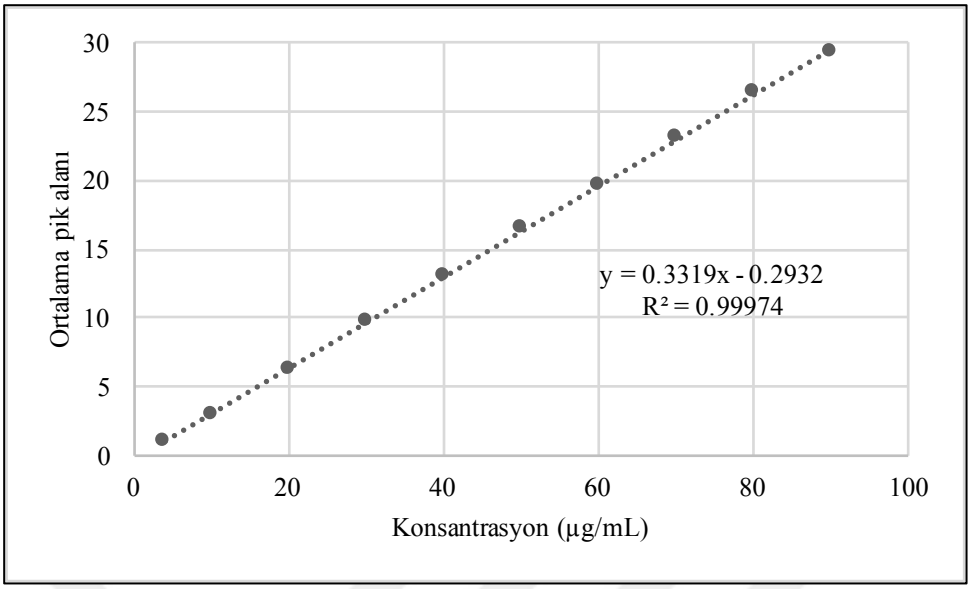
Şekil 4.35. RD-10 metanol ekstresinin HPLC kromatogramı.

Kemferol 3-*O*-galaktozit ve Kemferol 3-*O*-glukozit Miktar Tayini Bulguları

Belirlenen HPLC yöntemi kullanılarak kemferol 3-*O*-galaktozit ve kemferol 3-*O*-glukozit bileşikleri 10 farklı konsantrasyonda (4 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL, 50 µg/mL, 60 µg/mL, 70 µg/mL, 80 µg/mL ve 90 µg/mL) hazırlanarak sisteme verilmiş ve konsantrasyona karşı pik alanları kullanılarak standart eğrileri çizilmiştir (Şekil 4.36. ve Şekil 4.37.).



Şekil 4.36. Kemferol 3-*O*-galaktozit standart eğrisi.



Şekil 4.37. Kemferol 3-*O*-glukozit standart eğrisi.

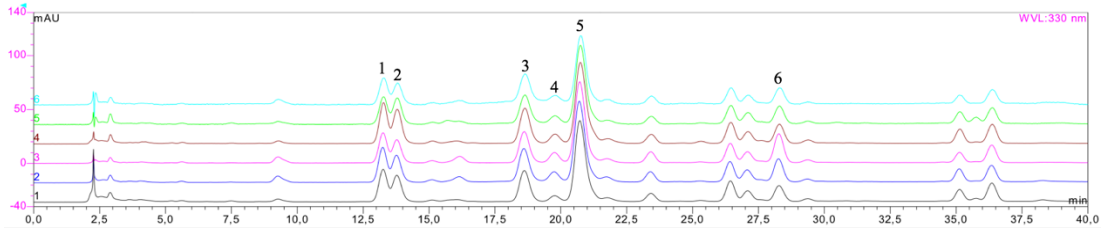
Çizilen standart eğrilerdeki formüllerden yararlanarak tüm *Rosa damascena* (RD-1 - RD-10) metanol ekstrelerindeki kemferol 3-*O*-galaktozit ve kemferol 3-*O*-glukozit miktarları belirlenmiştir (Tablo 4.3.).

Tablo 4.3. Kemferol 3-*O*-galaktozit ve Kemferol 3-*O*-glukozit miktar tayinleri.

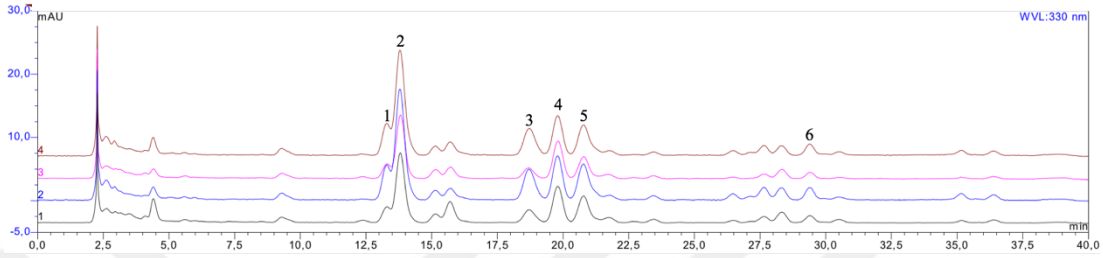
Numune	Kemferol 3-*O*-galaktozit (%)	Kemferol 3-*O*-glukozit (%)
RD-1	**0.3976**	**0.7047**
RD-2	0.3644	0.6347
RD-3	0.3107	0.5615
RD-4	0.3229	0.5456
RD-5	0.0425	0.0501
RD-6	0.0654	0.0422
RD-7	0.0319	0.0343
RD-8	0.0894	0.1529
RD-9	0.0513	0.0702
RD-10	0.0546	0.0393

Rosa damascena **numunelerinin parmak izi (fingerprint) analizleri**

Rosa damascena numunelerinin parmak izi analizleri gerçekleştirilmiş ve kromatogramlar üst üste çakıştırılarak benzerlikler belirlenmiştir (Şekil 4.38. ve Şekil 4.39.).



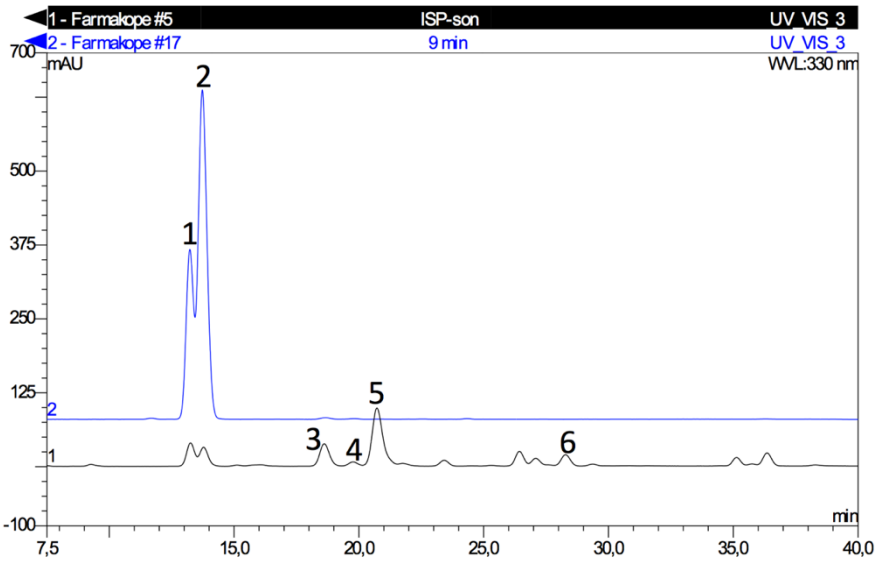
Şekil 4.38. RD-1 (Kr-1), RD-2 (Kr-2), RD-3 (Kr-3), RD-4 (Kr-4), RD-8 (Kr-5) ve RD-9 (Kr-6) parmak izi analizleri.



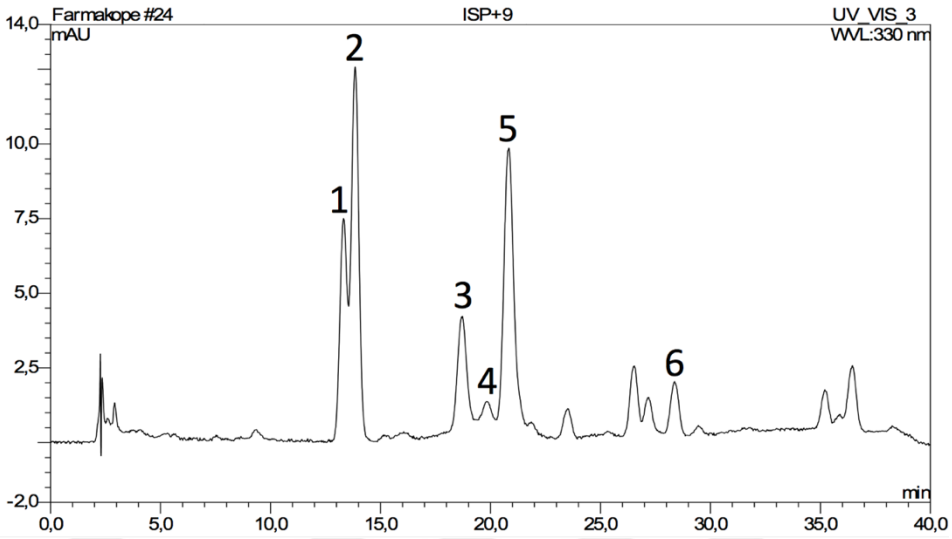
Şekil 4.39. RD-5 (Kr-1), RD-6 (Kr-2), RD-7 (Kr-3) ve RD-10 (Kr-4) parmak izi analizleri.

Standart ekleme yöntemi ile bileşiklerin tespiti

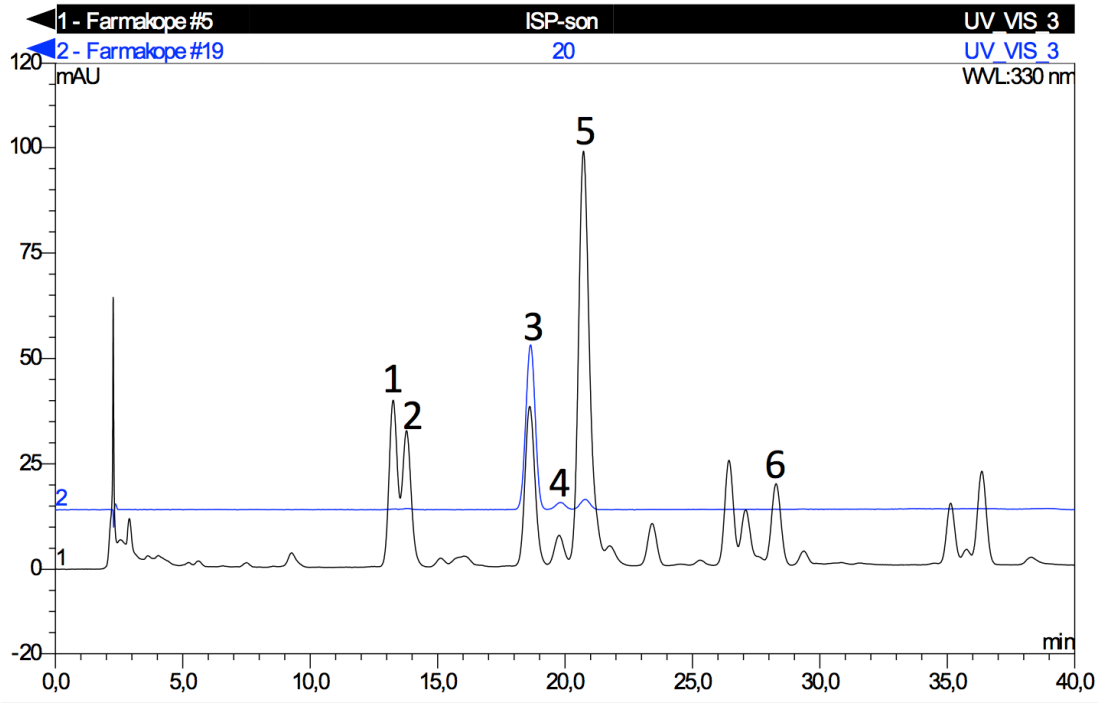
Rosa damascena metanol ekstrelerinde tespit edilen standart bileşiklerin parmak izi karşılaştırmaları yapılmış ve belirlenen standart maddeler ekstrelere ilave edilerek (standart ekleme yöntemi) bileşiklerin doğruluğu ispatlanmıştır (Şekil 4.40. – Şekil 4.49.).



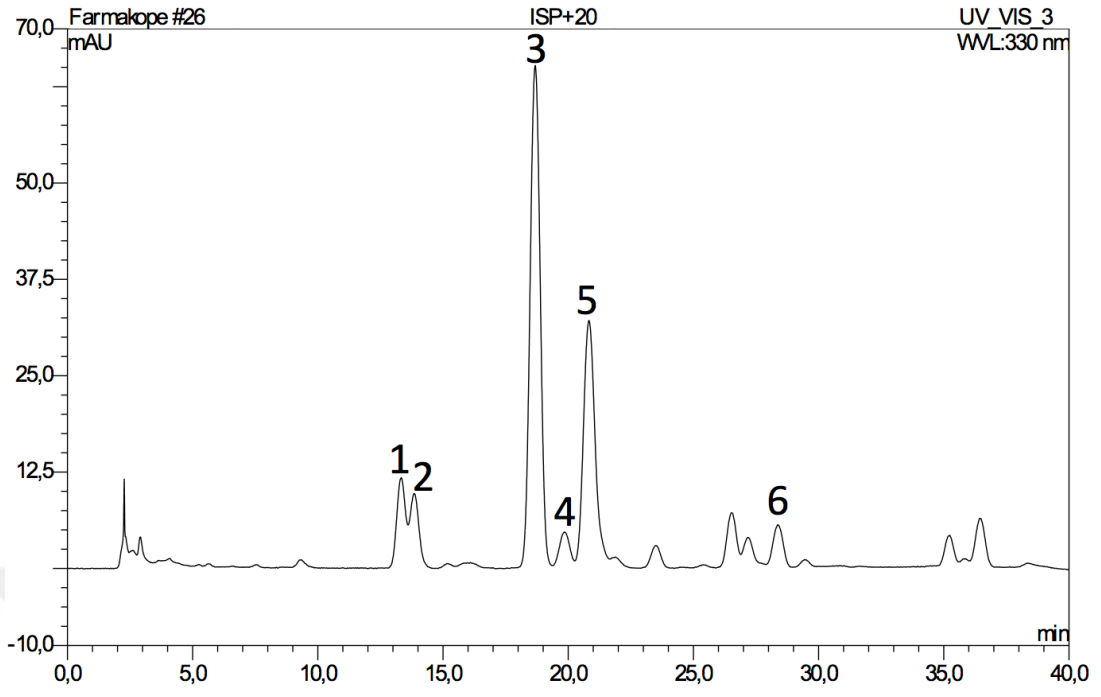
Şekil 4.40. RD-1 (Kr-1) ile standart Kersetin 3-*O*-galaktozit (1) ve Kersetin 3-*O*-glukozit (2) karışımı (Kr-2) kromatogramlarının parmak izi karşılaştırması.



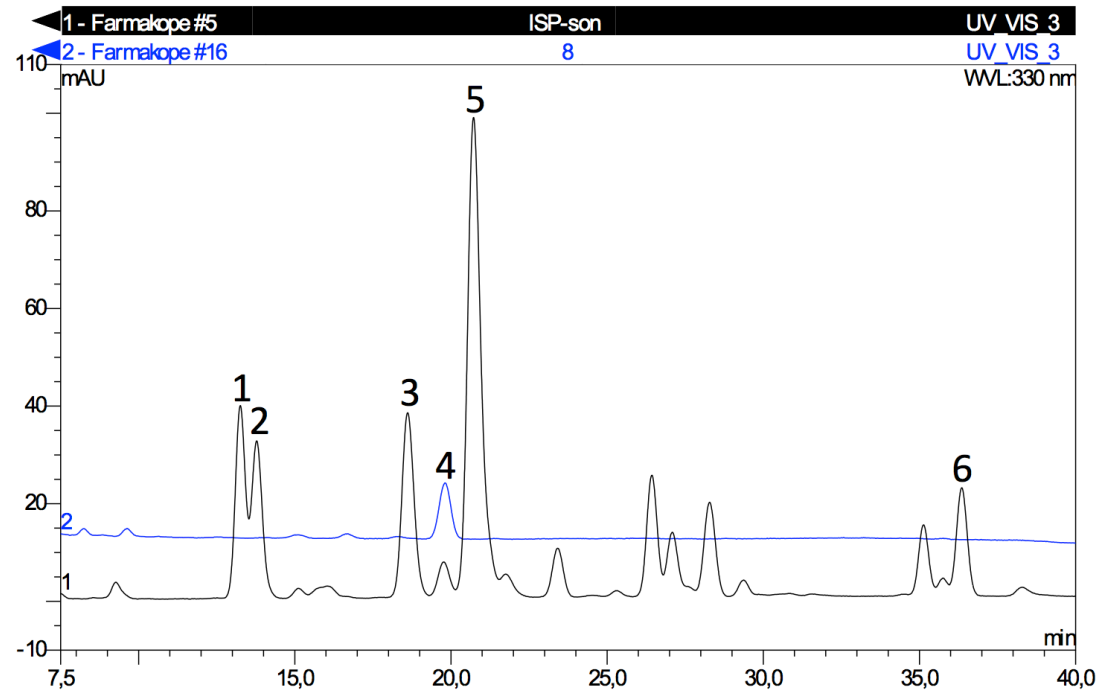
Şekil 4.41. Kersetin 3-*O*-galaktozit (1) ve Kersetin 3-*O*-glukozit (2) karışımının RD-1 metanol ekstresine eklenmesi ile elde edilen kromatogramı.



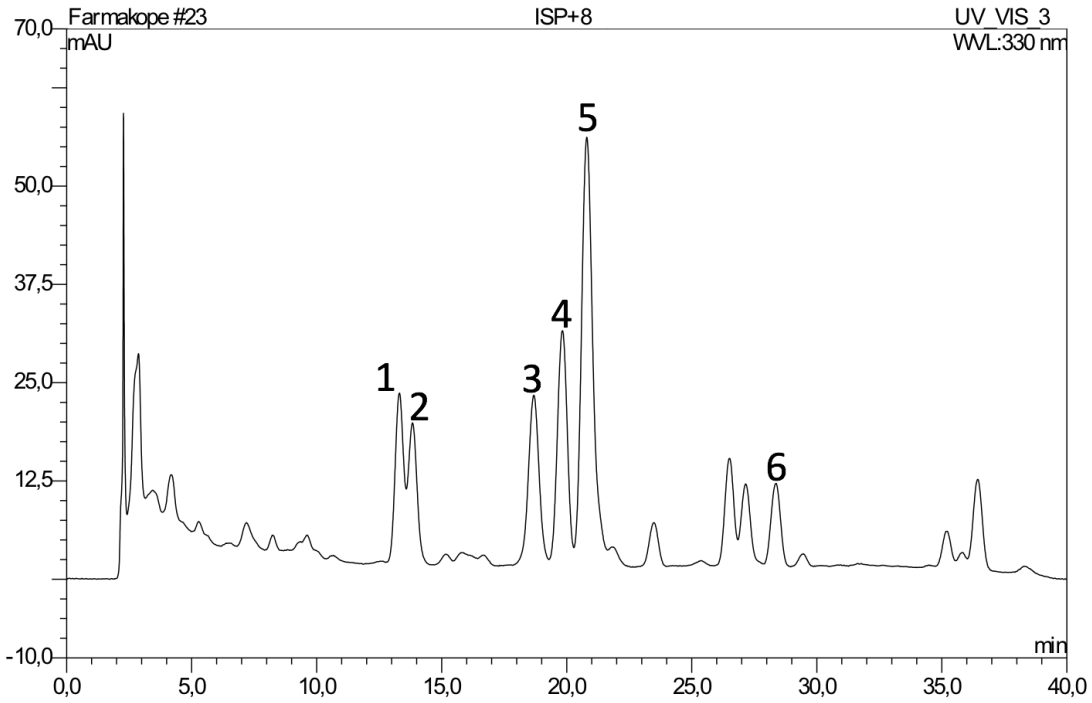
Şekil 4.42. RD-1 kromatogramı (Kr-1) ile standart Kemferol 3-*O*-galaktozit (3) (Kr-2) kromatogramlarının parmak izi karşılaştırması.



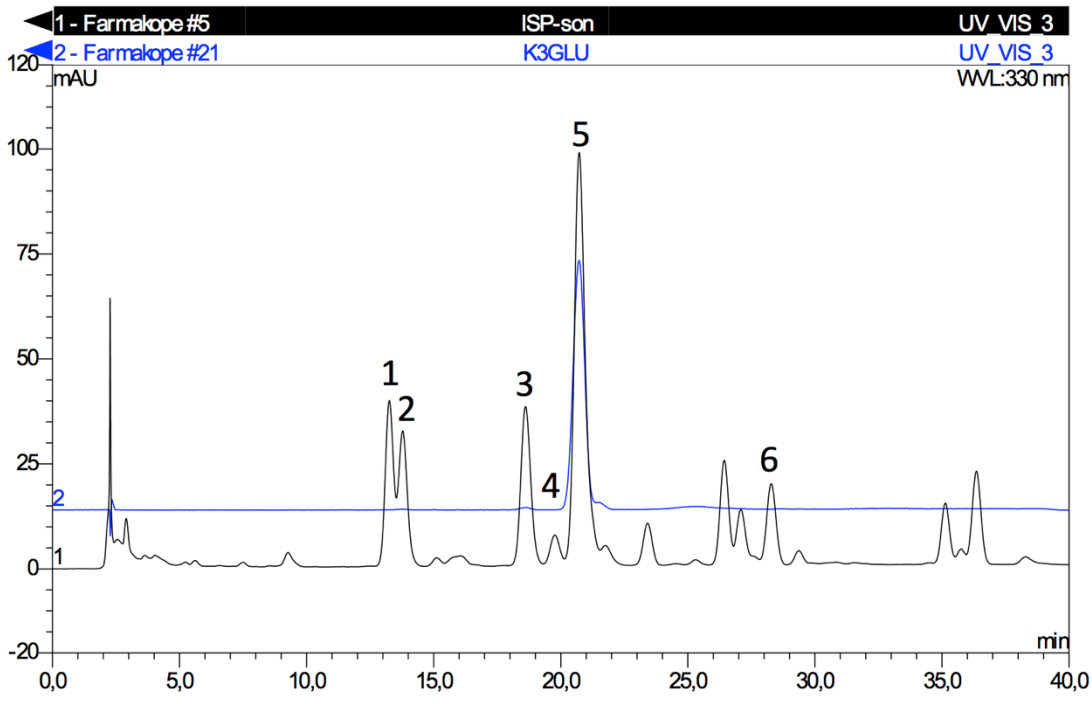
Şekil 4.43. Kemferol 3-*O*-galaktozit (3)'in RD-1 metanol ekstresine eklenmesi ile elde edilen HPLC kromatogramı.



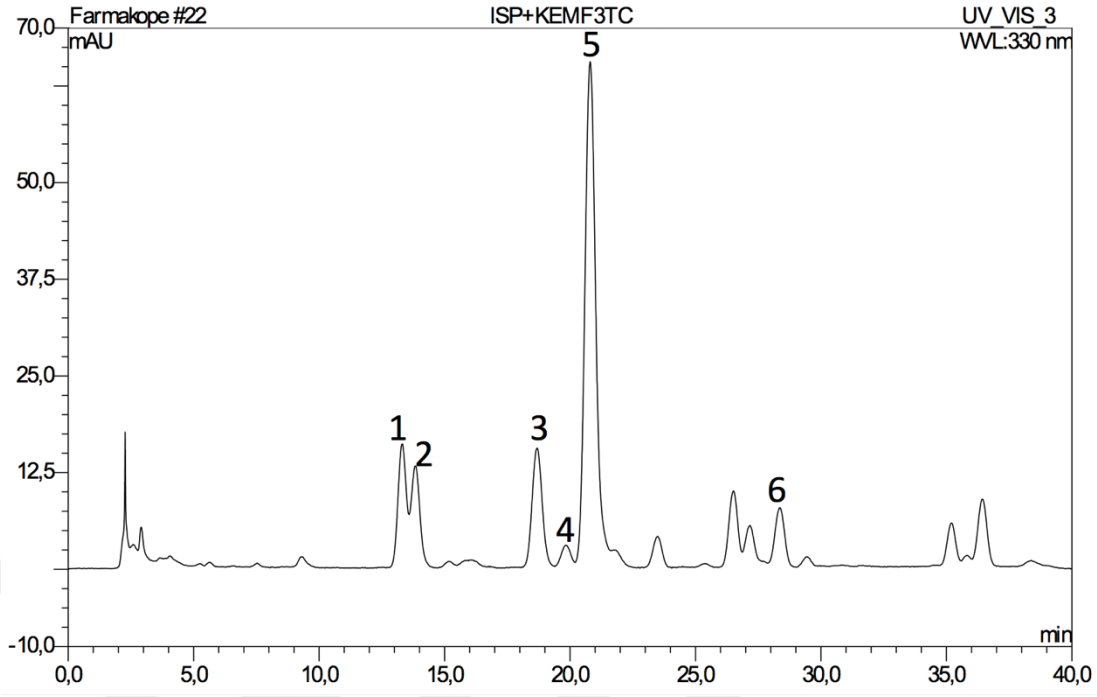
Şekil 4.44. RD-1 kromatogramı (Kr-1) ile standart ile Kersetin 3-*O*-ramnozit (4) (Kr-2) karşılaştırılması.



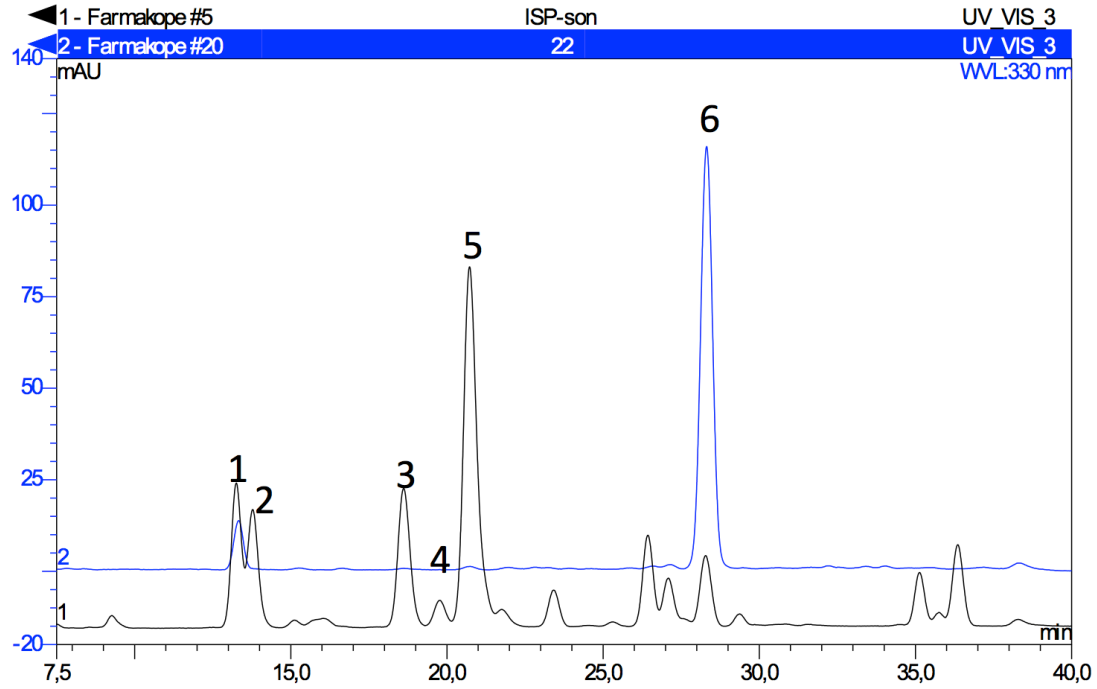
Şekil 4.45. Kersetin 3-*O*-ramnozit (4)'in RD-1 metanol ekstresine eklenmesi ile elde edilen HPLC kromatogramı.



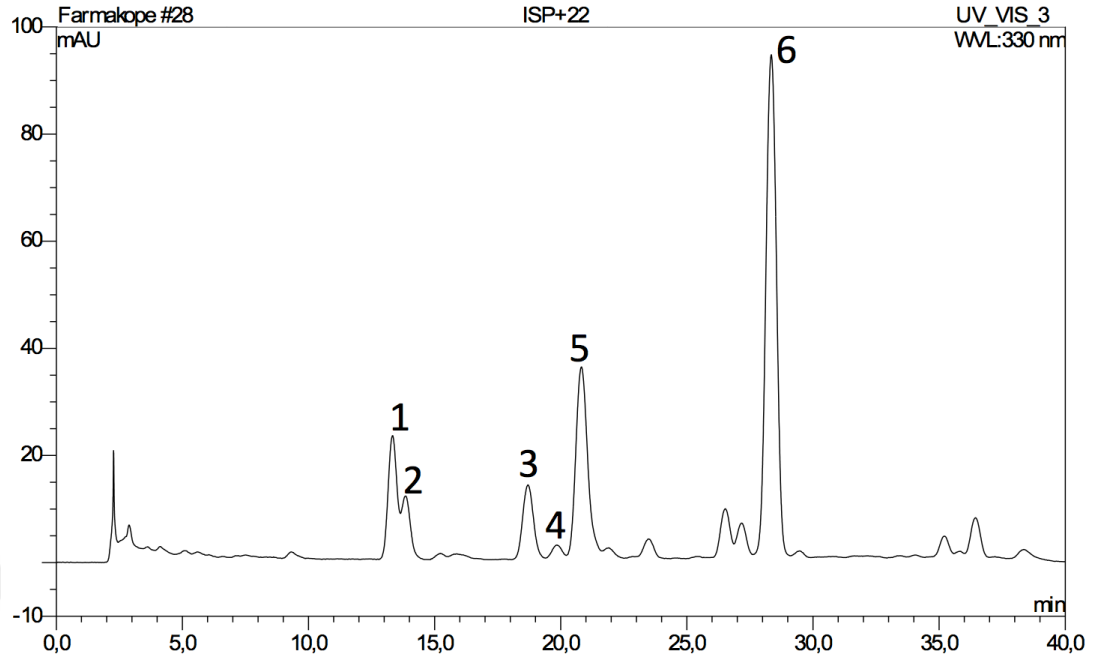
Şekil 4.46. RD-1 kromatogramı (Kr-1) ile standart Kemferol 3-*O*-glukozit (5) (Kr-2) karşılaştırılması.



Şekil 4.47. Kemferol 3-*O*-glukozit (5)'in RD-1 metanol ekstresine eklenmesi eklenmesi ile elde edilen HPLC kromatogramı.



Şekil 4.48. RD-1 kromatogramı (Kr-1) ile standart Kemferol 3-*O*-ramnozit (6) (Kr-2) kromatogramlarının parmak izi karşılaştırması.



Şekil 4.49. Kemferol 3-*O*-ramnozit (6)'in RD-1 metanol ekstresine eklenmesi ile elde edilen HPLC kromatogramı.

HPLC Yönteminin Validasyonu

Sistem Uygunluk Testi

Optimize edilen yöntemin analize uygunluğu ve analiz için yeterli olup olmadığının belirlenebilmesi için sistem uygunluk testleri, United States Pharmacopeia (USP) ve Food Drug Administation (FDA) tarafından önerilen parametreler göz önünde bulundurularak Bölüm 3.6.4.'te belirtildiği gibi değerlendirilmiştir (120,121). K3GLU için 50 µg/mL konsantrasyonda 10 tekrar yapılarak belirlenen sistem uygunluk parametreleri bulguları Tablo 4.4.'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Sistem uygunluk parametreleri.

Test edilen parametreler	K3GLU
Ortalama alıkonma zamanı (dk)	20.51
Enjeksiyon kesinliği[a]	0.25
Kapasite faktörü[b]	7.54
Ayırıcılık	3.83
Pik asimetri oranı (EP)	0.98
Ortalama teorik tabaka sayısı	15928

[a]Alıkonma zamanlarının % BSS değerleri şeklinde verilmiştir (n=10), [b]Ölü hacim, aynı koşullarda urasil enjeksiyonu yapılarak bulunmuştur: t_0 = 2.40 dk

Kararlılık

Bölüm 3.6.4.'te belirtildiği gibi 50 µg/mL kemferol 3-*O*-glukozit için uygulanan kısa dönem kararlılık bulguları Tablo 4.5.'te verilmiştir.

Tablo 4.5. K3GLU kısa dönem karalılık bulguları

K3GLU Kısa Dönem Kararlılık (24 saat oda sıcaklığı)	
Zaman	**Pik Alanı**
0. Saat*	16.27
24 Saat*	16.30
Ortalama	16.28
Standart Sapma	0.02
% BSS	0.14

*: n= 3

K3GLU uzun dönem kararlılığının test edilebilmesi için 4 °C sıcaklıkta 2 ay süreyle saklanan numunenin farklı zaman dilimleri içerisinde analizleri yapılmış ve ölçülen pik alanlarının % BSS değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.6.).

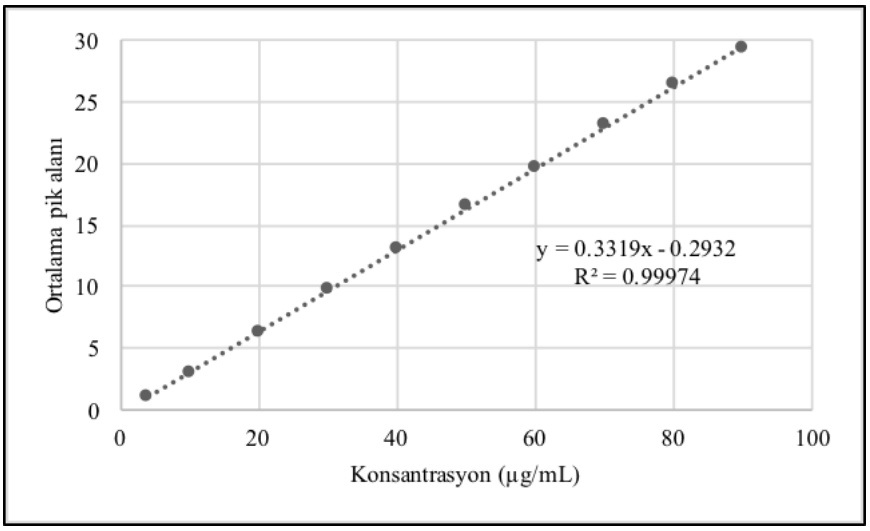
Tablo 4.6. K3GLU için uzun dönem kararlılık bulguları.

K3GLU Uzun Dönem Kararlılık (4 ºC sıcaklıkta 2 ay)	
	Pik Alanı
Veri aralığı*	16.13-17.55
Ortalama	16.69
Standart Sapma	0.39
% BSS	2.35

*: n = 24

Doğrusallık

Optimize edilmiş koşullar kullanılarak 10 farklı konsantrasyonda (4 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL, 50 µg/mL, 60 µg/mL, 70 µg/mL, 80 µg/mL ve 90 µg/mL) hazırlanan çözeltilerin her birinin 6 tekrarlı olacak şekilde analizleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra konsantrasyona karşı pik alanlarından yararlanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 4.50.).



Şekil 4.50. K3GLU için elde edilen kalibrasyon eğrisi grafiği.

Doğrusallık parametresi için gerçekleştirilen testlerin sonuçları Tablo 4.7.'te özetlenmiştir.

Tablo 4.7. K3GLU için elde edilen doğrusallık bulguları.

	K3OGLU
Doğruluk*	99.8892 ± 1.8868
Regresyon Denklemi	y = 0.3319x - 0.2932
Kesişim[a]	0.2932
Eğim[b]	0.3319
Kesişimin Standart Hatası	0.1018
Kesişimin Standart Sapması	0.3218
Korelasyon katsayısı (r)	0.9997
Tanımlayıcılık (R^2)	0.9998
Doğrusallık aralığı	4-90 µg/mL
LOD	0.2308
LOQ	0.7692

*n= 6; y=bx + a; x: derişim (µg/mL), y: Pik alan oranları, a: Kesişim, b: Eğim.

Duyarlılık

Bölüm 3.6.4.'te anlatıldığı gibi hesaplanan S/G oranının 3 olduğu LOD ve S/G oranının 10 olduğu LOQ değerleri hesaplanmış ve bulgular Tablo 4.7.'de verilmiştir.

Doğruluk

Bölüm 3.6.4.'te anlatıldığı gibi bitki ekstresine bilinen miktarlarda (10 µg/mL, 20 µg/mL ve 30 µg/mL) K3GLU standart maddesi eklenmiş; % geri kazanım, SS ve % BSS değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.8.).

Tablo 4.8. Doğruluk parametresi bulguları.

	Örnekten gelen (µg/mL)	Eklenen madde (µg/mL)	Ortalama bulunan (µg/mL)	% Geri kazanım	SS	% BSS
K3GLU	74.4	10	87.74	103.54	0.28	0.95
		20	94.81	100.07	0.05	0.15
		30	103.71	99.02	0.02	0.07

Kesinlik

Cihaz Enjeksiyon Tekrarlanabilirliği

Cihaz enjeksiyon tekrarlanabilirliğinin test edilebilmesi için K3GLU maddesinin 50 µg/mL konsantrasyonu 10 tekrarlı analiz edilmiş ve pik alanları üzerinden hesaplanan sonuçlar ortalama, SS ve % BSS şeklinde verilmiştir (Tablo 4.9.)

Tablo 4.9. Cihaz enjeksiyon tekrarlanabilirliği.

Enjeksiyon Sayısı	**K3GLU 50 µg/mL (Pik Alanı)**
1	16.23
2	16.13
3	16.18
4	16.32
5	16.27
6	16.13
7	16.18
8	16.18
9	16.44
10	16.21
Ort.	16.23
SS	0.09
% BSS	0.58

Gün içi kesinlik çalışmalarında aynı gün içerisinde 3 farklı konsantrasyonda (20, 50 ve 80 µg/mL) 6 seride hazırlanan K3GLU standart çözeltileri analiz edilmiş ve pik alanlarının ortalama, SS ve % BSS değerleri verilmiştir (Tablo 4.10.).

Tablo 4.10. Gün içi kesinlik bulguları.

	K3OGLU		
	20 µg/mL	**50 µg/mL**	**80 µg/mL**
Veri Aralığı (Pik Alanı)	6.20-6.34	16.01-16.27	25.47-25.89
Ortalama	6.28	16.17	25.71
SS	0.05	0.09	0.19
% BSS	0.84	0.58	0.72

n = 6

Günler arası kesinlik çalışmalarında 6 farklı günde gerçekleştirilen analizler ile tekrarlanabilirlik test edilmiş ve sonuçlar ortalama, SH, SS ve BSS değerleri olarak verilmiştir (Tablo 4.11.).

Tablo 4.11. Günler arası kesinlik bulguları.

	K3OGLU		
	20 µg/mL	**50 µg/mL**	**80 µg/mL**
Veri Aralığı	6.10-6.51	16.13-16.97	25.63-27.27
Ortalama	6.36	16.54	26.18
SS	0.09	0.28	0.44
% BSS	1.43	1.69	1.66

n = 36

Sağlamlık

Yöntemin sağlamlığı, belirlenen yöntemin akış hızı, kolon sıcaklığı, hareketli faz pH'sı ve dedektör dalga boyunda ufak değişiklikler yapılarak test edilmiştir. Her seferinde yalnızca bir parametrede değişiklik yapılmış ve analizler 6 tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Analiz için K3GLU standart maddesi 50 µg/mL konsantrasyonda sisteme verilmiş ve alıkonma zamanları ile pik alanlarında oluşan değişiklikler % bağıl standart sapma olarak verilmiştir (Tablo 4.12.).

Tablo 4.12. Geliştirilen HPLC yönteminin sağlamlık parametreleri.

Değişiklik yapılan parametre	**Değişiklik**	**Alıkonma zamanı (dk)**	**% BSS**	**Pik alanı**	**% BSS**
Optimum koşullar*	**-**	**20.41**	**-**	**16.51**	**-**
Akış hızı (mL/dk)	1.15	20.97	1.91	17.12	2.57
	1.25	19.87	1.90	15.97	2.35
Kolon sıcaklığı (°C)	24.5	20.52	0.38	16.66	0.64
	25.5	20.38	0.10	16.62	0.47
Hareketli faz pH'sı	2.45	20.47	0.21	16.55	0.17
	2.55	20.44	0.10	16.47	0.17
Dedektör dalga boyu (nm)	329	20.38	0.10	16.48	0.13
	331	20.38	0.10	16.5	0.04

*n=6, optimum koşullar: Akış hızı: 1.2 mL/dk. Sıcaklık: 25 °C, pH: 2.50, Dedektör dalga boyu: 330 nm.

4.3. Uçucu Yağ Analizi

4.3.1. Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometresi (GC-MS)

Bölüm 3.7.'de anlatıldığı gibi mikrodistilasyon ve hidrodistilasyon ile elde edilen numunelerin içerdiği uçucu bileşenler sırasıyla Tablo 4.13. ve Tablo 4.14.'te verilmiştir. Gül sularının uçucu bileşik profilleri de SPME yönteminden yararlanılarak elde edilmiştir (Tablo 4.15.).

Tablo 4.13. Mikrodistilasyon ile elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	**RRI**	**RD-1 Kuru**	**RD-1 Dond.**	**RD-2 Kuru**	**RD-3 Kuru**	**RD-4 Kuru**	**RD-11 Kuru**
p-simen	1213	-	0.45	-	-	-	-
cis-rozoksit	1362	-	1.71	e	e	1.03	1.49
trans-rozoksit	1377	-	0.67	e	e	e	0.96
furfural	1479	-	-	0.26	-	0.73	-
neroloksit	1480	-	0.18	-	-	-	-
bisikloelemen	1495	-	-	0.53	-	-	-
pentadekan	1500	-	-	-	0.76	-	-
benzaldehit	1541	-	0.46	-	0.98	0.84	-
linalol	1553	-	1.12	1.48	-	1.53	1.71
β-kopaen	1597	-	-	0.25	-	-	-
hekzadekan	1600	-	-	0.12	-	-	-
β-karyofillen	1612	-	-	0.49	-	-	-
sitronellil format	1628	-	-	0.71	-	-	-
fenil asetaldehit	1663	-	-	-	2.37	2.09	-
trans-verbenol	1683	-	-	-	-	-	0.85
α-humulen	1687	-	-	0.3	-	-	-
neral	1694	-	e	-	-	-	-
heptadekan	1700	3.46	1.64	0.32	4.21	1.42	1.08
α-murolen	1704	-	-	0.45	-	-	-
1-heptadeken	1719	-	-	-	e	-	-
bisikloseskifellandren	1722	-	-	0.1	-	-	-
germakren D	1726	-	-	0.45	-		-
geranial	1740	-	0.57	0.19	e	0.53	0.72
bisiklogermakren	1755	-	-	0.48	-		-
sitronellol	1772	1.06	20.69	13.15	5.3	14.1	10.89
δ-kadinen	1773	-	-	1.45	-	0.13	-

Tablo 4.13. (devam) Mikrodistilasyon ile elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	**RRI**	**RD-1 Kuru**	**RD-1 Dond.**	**RD-2 Kuru**	**RD-3 Kuru**	**RD-4 Kuru**	**RD-11 Kuru**
Oktadekan	1800	-	-	-	0.88	-	-
nerol	1808	-	1.1	2.2	-	1.26	e
2-fenietil asetat	1838	-	0.62	-	-	-	-
geraniol	1857	2.97	5.59	4.57	2.13	8.03	8.39
benzil alkol	1896	-	0.46	-	-	0.24	
nonadekan	1900	19.3	19.62	3.93	44.39	12.13	11.08
1-nonadeken	1915	3.29	2	0.5	5.14	e	0.96
α-agarofuran	1916	-	-	0.47	-	-	-
bilinmeyen I (bp 81, m^+ 222)	1924	-	-	9.46	-	0.57	-
bilinmeyen II (bp 81, m^+ 222)	1928	-	-	3.96	-	0.33	-
fenil etil alkol	1937	-	23.97	0.77	8.16	35.99	9.00
eikosan	2000	4.72	2.42	0.33	3.29	0.1	2.36
izokaryofillen oksit	2001	-	-	0.43	-	-	-
karyofillen oksit	2008	-	-	5.57	-	1.68	-
perilla alkol	2029	-	-	0.2	-	-	-
metil öjenol	2030	-	2.04	0.48	3.41	2.46	2.45
(*E*)-nerolidol	2050	-	-	1.07	-	-	-
ledol	2057	-	-	e	-	-	-
germakren D-4-ol	2069	-	-	2.99	-	-	-
kubenol	2080	-	-	e	-	-	-
1-epi-kubenol	2088	-	-	1.15	-	-	-
elemol	2096	-	-	0.72	-	-	-
heneikosan	2100	24.77	10.37	1.27	15.54	7.09	12.31
allosedrol	2104	-	-	-	-	-	2.06
10-epi-γ-ödesmol	2127	-	-	3.65	-	0.65	-
sedrol	2143	9.5	e	-	-	-	27.58

Tablo 4.13. (devam) Mikrodistilasyon ile elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	**RRI**	**RD-1 Kuru**	**RD-1 Dond.**	**RD-2 Kuru**	**RD-3 Kuru**	**RD-4 Kuru**	**RD-11 Kuru**
spatulenol	2144	-	-	3.31	-	e	-
5-epi-7-epi-α- ödesmol	2157	-	-	0.22	-	-	-
öjenol	2186	-	0.83	-	-	-	e
T-kadinol	2187	-	-	1.08	-	-	-
T-murolol	2209	-	-	2.02	-	e	-
kopaborneol	2210	-	-	0.74	-	-	-
δ-kadinol (=toreyol)	2219	-	-	0.33	-	-	-
karvakrol	2239	-	-	1.06	-	-	-
α- ödesmol	2250	-	-	0.87	-	-	-
α-kadinol	2255	4.83	e	6.01	-	-	-
β- ödesmol	2257	-	-	1.55	-	1.27	-
trikosan	2300	8.88	2.75	e	3.45	1.65	2.58
2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol*	2310	8.19	e	-	-	-	-
karyofilledienol II	2324	-	-	1.69	-	-	-
kaur-16-ene	2438	-	-	0.71	-	-	-
bilinmeyen III (bp 91, m^+ 220)	2440	-	-	8.61	-	1.59	-
pentakosan	2500	4.42	e	-	-	2.07	0.64

RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır. **%:** FID verilerine göre hesaplanmıştır. **e:** (<%0.1).
*Kütle spektrumu benzerliğinden tanımlanmıştır.

Tablo 4.14. Hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	RRI	RD-1 Kuru	RD-1 Dond.	RD-2 Kuru	RD-3 Kuru	RD-4 Kuru	RD-11 Kuru	RD-11 Taze	RD-TCGY
α-pinen	1032	-	-	-	-	-	-	0.82	1.19
β-pinen	1118	-	-	-	-	-	-	0.18	0.23
sabinen	1132	-	-	-	-	-	-	0.06	0.08
mirsen	1174	-	-	-	-	-	-	0.38	0.48
α-terpinen	1188	-	-	-	-	-	-	0.02	-
limonen	1203	-	-	-	-	-	-	0.11	0.14
β-fellandren	1218	-	-	-	-	-	-	-	0.04
(Z)-β-osimen	1246	-	-	-	-	-	-	0.03	0.04
γ-terpinen	1255	-	-	-	-	-	-	0.05	0.06
(*E*)-β-osimen	1266	-	-	-	-	-	-	-	0.07
p-simen	1280	-	-	-	-	-	-	0.06	0.07
terpinolen	1290	-	-	-	-	-	-	0.04	0.06
6-metil-5-hepten-2-on	1348	-	-	-	-	-	-	0.07	0.08
cis-rozoksit	1362	-	-	0.38	-	-	0.1	0.46	0.54
trans-rozoksit	1377	-	-	0.25	-	-	e	0.18	0.2
menton	1475	-	-	-	-	-	-	0.75	0.86
furfural	1479	0.98	-	-	-	-	-	-	-
α-kopaen	1497	-	-	-	-	-	-	0.2	0.21
pentadekan	1500	-	0.16	0.19	0.59	0.18	0.21	-	-
izomenton	1503	-	-	-	-	-	-	1.04	1.16
β-burbonen	1535	-	0.09	-	-	-	-	0.22	0.23
linalol	1553	1.43	0.22	0.95		0.2	0.31	0.54	0.56
β-yılangen	1589	-	0.08	-	-	-	-	-	-
α-guayen	1596	-	0.41	0.65	0.09	0.1	-	0.46	0.49
hekzadekan	1600	-	-	-	0.28	0.04	-	-	-
terpinen-4-ol	1611	-	-	-	-	-	-	e	0.2

Tablo 4.14. (devam) Hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	RRI	RD-1 Kuru	RD-1 Dond.	RD-2 Kuru	RD-3 Kuru	RD-4 Kuru	RD-11 Kuru	RD-11 Taze	RD-TCGY
β-karyofillen	1612	-	0.32	0.5	0.1	-	-	0.88	0.92
sitronellil format	1628	-	-	-	-	0.1	-	1.96	2.13
sitronellil asetat	1668	-	-	-	-	-	-	0.47	0.51
neril format	1684	-	-	-	-	-	-	0.32	0.38
α-humulen	1687	-	0.11	0.65	0.16	-	-	0.51	0.52
neral	1694	-	-	-	-	-	-	0.24	0.28
heptadekan	1700	1.33	2.21	0.93	7.98	2.21	0.92	1.2	0.92
γ-murolen	1704	-	-	-	-	-	-	0.13	-
α-terpineol	1706	-	-	-	-	-	-	0.8	1.00
geranil format	1715	-	-	-	-	-	-	0.75	0.79
1-heptadeken	1719	-	-	-	0.88	0.3	-	-	-
germakren D	1726	-	0.92	0.31	-	-	-	0.81	0.81
δ-guayen	1730	-	0.23	0.33	-	-	-	0.28	0.41
geranial	1740	-	0.14	0.26	-	-	-	0.51	-
(*E,E*)-*α*-farnesen	1758	-	0.11	-	-	-	-	-	-
geranil asetat	1765	-	-	-	-	-	-	0.67	0.69
sitronellol	1772	2.09	8.48	13.93	1.97	1.94	1.27	35.44	37.85
δ-kadinen	1773	-	-	-	-			0.53	0.48
oktadekan	1800	0.81	0.47		0.98	0.4	0.32	-	-
nerol	1808	-	0.04	1.03	-	0.2	e	5.76	6.62
2-tridekanon	1815	-	-	-	0.24	-	-	-	-
geranil izobütirat	1819	-	-	-	-	-	-	e	e
2-tridekanal	1830	-	-	-	-	-	0.12	-	-
geraniol	1857	1.82	1.81	5.84	0.29	0.45	0.71	13.27	13.88
(*E*)-geranil aseton	1868	-	0.05	-	e	-	-	-	-
benzil alkol	1896	-	0.05	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.14. (devam) Hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	RRI	RD-1 Kuru	RD-1 Dond.	RD-2 Kuru	RD-3 Kuru	RD-4 Kuru	RD-11 Kuru	RD-11 Taze	RD-TCGY
nonadekan	1900	17.72	34.39	18.79	58.48	37.81	20.26	10.61	7.7
geranil bütirat	1901	-	-	-	-	-	-	-	0.32
1-nonadeken	1915	2.00	2.11	0.99	9.62	5.23	2.80	0.45	0.60
fenil etil alkol	1937	0.70	4.48	2.51	-	-	1.00	1.99	1.93
eikosan	2000	3.10	4.29	3.18	3.39	3.92	4.12	0.97	0.64
(*E*)-9-eikosen	2016	-	-	-	0.38	0.23	0.44	-	-
metil öjenol	2030	-	0.53	0.98	0.27	-	-	1.23	1.30
pentadekanal	2041	-	-	-	-	e	e	-	-
(*E*)-nerolidol	2050	-	0.10	-	-	-	-	-	-
heneikosan	2100	25.39	23.42	26.76	10.79	26.25	32.36	4.72	2.76
neril tiglat	2122	-	-	-	-	-	-	0.57	0.60
heneikosen	2127	-	0.30	-	-	0.5	-		
10-epi-γ-eudesmol	2127	-	-	-	-		-	1.7	1.73
hekzadekanal	2135	-	-	-	-	0.32	-	-	-
sedrol	2143	-	-	-	-	0.56	2.79	-	-
spatulenol	2144	-	-	-	0.30	-		-	-
neointermedeol	2153	-	-	-	-	-	0.5	-	-
1-tetradekanol	2179	-	-	-	-	0.21	-	-	-
öjenol	2186	-	0.54	-	-	-	-	-	-
T-kadinol	2187	-	-	-	0.24	0.19	0.66	-	-
fenil etil hekzanoat	2195	-	-	0.53	-	-	-	-	-
dokosan	2200	2.13	0.08	1.34	-	0.86	1.14	-	-
T-murolol	2209	-	-	-	0.26	-	-	-	-
fenil etil tiglat	2214	-	-	-	-	-	-	0.54	0.64
metil hekzadekanoat	2226	-	0.06	-	-	0.74	-	-	-
pogostol	2228	-	-	0.41	-	-	-	-	-

Tablo 4.14. (devam) Hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	RRI	RD-1 Kuru	RD-1 Dond.	RD-2 Kuru	RD-3 Kuru	RD-4 Kuru	RD-11 Kuru	RD-11 Taze	RD-TCGY
α-kadinol	2255	-	-	-	0.87	-	2.03	-	-
sitronellik asit	2260	-	-	-	-	-	-	e	0.35
torilenol	2278	-	-	-	0.18	-	0.21	-	-
trikosan	2300	14.97	0.1	9.04	0.52	7.43	10.35	0.92	0.64
nerolik asit	2308	-		0.5	-	-	-	-	-
oktil benzoat	2325	2.87	-	-	-	-	-	-	-
(*Z*)-9-trikosen	2337	-	0.37	-	-	-	e	-	-
geranik asit	2349	-		1.03	-	-	-	e	e
oktadekanal	2357	-	0.39	-	-	-	-	-	-
(2*E*,6*E*)-farnesol	2369	-	-	-	-	e		0.91	0.61
manoil oksit	2376	-	-	-	-	0.4	1.23	-	-
farnesil aseton	2384	-	-	-	-	e	-	-	-
tetrakosan	2400	1.23	0.43	0.81	-	0.38	0.7	-	-
pentakosan	2500	5.02	1.6	2.98	-	1.5	3.14	0.42	0.19
dodekanoik asit	2503	0.2	-	0.41	-	0.49	2.94	-	-
sitronellil benzoat	2512	-	-	-	-	0.53	-	-	-
9-pentakosen	2521	-	-	-	-	0.23	-	-	-
abietatrien	2524	-	-	-	-	0.89	0.29	-	-
tetradekanoik asit	2670	4.23	-	1.84	-	0.91	2.19	-	-
heptakosan	2700	1.8	1.48	0.83	-	1.33	1.11	-	-
fenil etil benzoat	2733	e	-	0.8	0.73	0.25	1.02	-	-
hekzadekanoik asit	2931	1.08	0.22	e	-	0.37	1.12	-	-

RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır. **%:** FID verilerine göre hesaplanmıştır. **e:** (<%0.1).

Tablo 4.15. SPME ile gül sularından elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	RRI	RD-1 Kuru	RD-1 Dond.	RD-2 Kuru	RD-3 Kuru	RD-4 Kuru	RD-11 Kuru	RD-11 Taze	TCGS-1	TCGS-2	TCGS-3	TCGS-4
α-pinen	1032	-	-	-	-	23.03	-	-	-	-	-	-
hekzanal	1093	3.37	-	-	-	-	-	0.26	-	-	-	-
anhidrolinalol oksit	1120	-	-	-	-	-	-	-	-	1.10	11.32	-
mirsen	1174	-	-	1.49	-	6.45	-	-	1.04	1.24		1.88
1,4 sineol	1187	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.60	-
α-terpinen	1188	-	-	-	-	1.26	-	-	-	-	-	-
heptanal	1194	4.49	5.05	1.26	-	-	-	1.50	-	-	-	-
limonen	1203	-	-	-	-	25.00	-	-	0.45		-	e
izoamilalkol	1212	-	-	-	-	-	-	-	-	1.60	-	-
p-simen	1213	-	-	-	-	21.05	2.90	-	e	-	-	-
1,8-sineol	1213	7.06	2.71	-	-	-	13.14	-	-	-	3.49	-
β-fellandren	1218	-	-	-	-	4.28	-	-	-	-	-	-
(Z)-3-hekzanal	1225	-	-	1.46	-	-	-	0.78	-	-	-	-
(Z)-3-hexanal	1225	-	1.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Z)-β-osimen	1246	-	-	-	-	-	-	-	0.12	e	-	e
γ-terpinen	1255	-	-	-	-	8.83	-	-	-	-	-	-
(*E*)-β-osimen	1266	-	-	0.74	-		-	-	0.48	0.94	-	0.91
terpinolen	1290	-	-	-	-	0.87	-	-	0.07	-	-	-
6-metil-5-hepten-2-on	1348	-	-	0.58	-	-	-	0.40	-	0.58	-	e
1-hekzanol	1360	-	-	-	-	-	-	2.35	-	-	-	-
cis-rozoksit	1362	6.54	12.78	8.14	7.01	-	4.80	3.07	2.89	3.33	4.90	2.29
trans-rozoksit	1377	2.50	5.52	3.24	3.10	-	1.87	0.97	0.70	0.16	e	0.54
alloosimen	1382	-	-	-	-	-	-	-	0.09	0.14	-	0.16
(Z)-3-hexen-1-ol	1391	-	0.09	-	-	-		0.20	-	0.44	0.63	-
nonanal	1400	0.41	0.72	0.22	0.92	-	-	-	-	-	-	-
α-fenkon	1406	-	-	-	-	1.62	-	-	-	-	-	-
(Z)-2-hexen-1-ol	1418	-	0.18	-	-	-	-	2.21	-	-	-	-
(*E*)-2-oktenal	1441	-	0.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.15. (devam) SPME ile gül sularından elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	RRI	RD-1 Kuru	RD-1 Dond.	RD-2 Kuru	RD-3 Kuru	RD-4 Kuru	RD-11 Kuru	RD-11 Taze	TCGS-1	TCGS-2	TCGS-3	TCGS-4
trans-linalol oksit (*furanoid*)	1450	-	-	0.15	-	-	-	0.32	-	-	-	-
α,p-dimetilsitiren	1452	-	-		-	0.40	-	-	-	-	-	-
1-okten-3-ol	1452	-	-	0.11	-	-	-	-	-	-	-	-
1-heptanol	1463	-	0.13		-	-	-	0.20		0.20	-	0.10
6-metil-5-hepten-2-ol	1467	-	0.49	0.04	-	-		-	-	0.10	-	0.03
dihidromirsenol	1473	-	-	-	-	-	-	-	-	0.26	-	-
menton	1475	-	-	-	-	-	-	0.31	0.44	-	-	-
furfural	1479	38.06	0.56	2.47	2.84	0.44	10.43	6.58	-	-	-	-
neroloksit	1480	-	1.34	0.84	0.39	-	-	-	-	0.34	0.55	0.15
oktil asetat	1483	-	-	-	-	0.33	-	-	-	-	-	-
sitronellal	1487	-	0.17	0.08	0.76	-	-	-	0.14	0.08	-	-
2-etil hekzanol	1496	-	0.30	-		-	-	-	-	0.06	-	-
pentadekan	1500	-	-	-	4.13	-	-	-	-	-	-	-
izomenton	1503	-	-	-		-	-	-	0.28	-	-	-
dekanal	1506	-	-	-	0.60	0.21	-	-	0.44	-	-	-
kamfor	1532	-	0.17	-	-	-	0.61	-	-	-	-	-
β-burbonen	1535	-	-	-	0.36	-	-	-	-	-	-	-
benzaldehit	1541	2.61	1.91	2.22	1.52	-	2.53	0.50	0.31	-	-	-
(*E*)-2-nonenal	1548	-	0.15	0.24	0.77	-	-	-	-	-	-	-
linalol	1553	11.29	4.15	13.55	5.16	0.28	16.96	8.70	5.39	30.23	0.13	13.27
oktanol	1562	-	0.11	0.18			-	-	-	-	-	-
linalil asetat	1565	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	-	-
trans-*α*-bergamoten	1568	-	-	-	-	0.17	-	-	-	-	-	-
pentil hekzanoat	1570	-	-	-	-	0.13	-	-	-	-	-	-
5-metil-2-furfural	1585	0.43	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-	-
mirsenon	1591	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.45	-
α-guayen	1596	-	-	-	2.66	-	-	-	0.07	-	-	-

Tablo 4.15. (devam) SPME ile gül sularından elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	RRI	RD-1 Kuru	RD-1 Dond.	RD-2 Kuru	RD-3 Kuru	RD-4 Kuru	RD-11 Kuru	RD-11 Taze	TCGS-1	TCGS-2	TCGS-3	TCGS-4
(*E,Z*)-nonadienal	1597	-	0.10	0.33	-	-	-	-	-	-	-	-
hekzadekan	1600	-	-	-	0.50	-	-	-	-	-	-	-
neomentol	1604	-	-	-	-	-	-	-	0.05	-	-	-
terpinen-4-ol	1611	-	0.54	0.36	-	-	-	0.78	0.16	1.99	1.26	0.74
β-karyofillen	1612	-	-	0.17	2.67	1.14	-	-	0.08	-	-	-
hotrienol	1616	-	-	0.05	-	-	-	0.20	-	-	-	-
undekanal	1617	-	-	-	0.36	-	-	-	-	-	-	-
sitronellil format	1628	-	0.05	-	0.45	-	-	-	0.28	-	-	-
p-menth-1-en-9-al	1637	-	0.33	0.16	0.27	-	-	-		-	-	-
mentol	1638	-	-	0.14	-	-	-	-	0.08	-	-	-
metil benzoat	1641	-	-	-	-	-	-	-	0.07	-	-	-
etil dekanoat	1647	-	-	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-
(*z*)-osimenol	1657	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.27	-
fenil asetaldehit	1658	2.10	0.20	-	-	-	3.22	0.57	-	-	-	-
sitronellil asetat	1668	-	-	-	1.47	0.06	-	-	0.52	-	-	-
dimetil oktanol	1668	-	-	-	-	-	-	-	2.47	-	-	-
10-undekanal*	1670	-	-	-	-	-	-	-	1.27	-	-	-
asetofenon	1671	-	-	-	-	-	-	1.28	-	-	-	-
(*E*)-osimenol	1684	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07	1.27	-
metil kavikol	1687	-	-	-	-	0.40	-	-	-	-	-	-
α-humulen	1687	-	-	0.15	2.22	-	-	-	-	-	-	-
neral	1694	-	1.04	0.94	0.38	-	-	0.36	0.44	-	-	0.18
heptadekan	1700	-	0.43	0.35	5.23	0.15	-	-	-	-	-	0.11
γ-murolen	1704	-	-	-	0.30	-	-	-	-	-	-	-
α-terpineol	1706	0.46	0.17	0.82	e	0.08	-	0.75	0.23	11.60	3.73	1.37
borneol	1719	-	-	0.06	-	-	-	-	0.16	-	-	-
1-heptadeken	1719	-	-	-	1.48	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.15. (devam) SPME ile gül sularından elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	RRI	RD-1 Kuru	RD-1 Dond.	RD-2 Kuru	RD-3 Kuru	RD-4 Kuru	RD-11 Kuru	RD-11 Taze	TCGS-1	TCGS-2	TCGS-3	TCGS-4
kabreuva oksit II	1722	-	-	-	0.32	-	-	-	-	-	-	-
2-undekanol	1722	-	-	-	0.57	-	-	-	-	-	-	-
δ-guayen	1730	-	-	0.09	1.48	-	-	-	0.07	-	-	-
neril asetat	1733	-	-	-	-	-	-	-	0.09	-	-	-
p-menta-1,5-dien-8-ol	1738	-	-	-	-	-	-	-	-	0.17	-	
geranial	1740	-	1.90	1.49	0.65	-	-	0.51	0.67	0.10	-	0.37
β-selinen	1742	-	-	-	0.49	-	-	-	-	-	-	-
benzil asetat	1747	-	-	-	-	-	-	-	0.07	-	-	-
karvon	1751	-	0.06	0.20	-	0.32	-	-	-	-	-	-
geranil asetat	1765	-	-	-	-	-	-	-	0.96	-	-	-
kabreuva oksit IV	1768	-	-	-	0.20	-	-	-	-	-	-	-
2-fenil-2-propanol*	1770	-	-	-	-	-	-	0.78	-	-	-	-
sitronellol	1772	-	33.46	29.48	26.78	0.62	25.15	35.87	34.81	21.17	0.70	27.00
δ-kadinen	1773	-	-		0.81	-	-	-	-	-	-	-
metil fenilasetat	1779	-	-		-	-	-	-	-	-	0.11	-
p-metil asetofenon	1797	-	-		-	-	-	-	-	-	0.25	-
metil salisilat	1798	-	0.16	0.06	-	-	-	-	-	-		-
etil fenilasetat	1800	-	-		-	-	-	-	0.07		0.36	-
2-feniletil format	1808	-	-	0.71	-	-	-	-	-	-	-	-
nerol	1808	-	0.92	2.01	0.27	-	e	1.98	6.33	1.13	-	9.00
2-tridekanon	1815	-	-		1.55	-	-	-	-	-	-	
2-fenietil asetat	1834	-	0.60	1.45		-	-	1.75	5.39	0.75	1.50	0.98
(*E*)-*β*-damaskenon	1838	-	0.13	0.24	0.46	-	-	-	0.30	-	-	-
(*E*)-anetol	1845	-	-	-	-	1.21	-	-	-	-	-	-
geraniol	1857	2.44	5.43	11.27	1.72	-	4.83	6.96	7.44	2.10	-	11.47
p-simen-8-ol	1864	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.15	-
(*E*)-geranil aseton	1868	-	0.08	0.10	1.24	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.15. (devam) SPME ile gül sularından elde edilen uçucu bileşikler.

Bileşik	RRI	RD-1 Kuru	RD-1 Dond.	RD-2 Kuru	RD-3 Kuru	RD-4 Kuru	RD-11 Kuru	RD-11 Taze	TCGS-1	TCGS-2	TCGS-3	TCGS-4
α-iyonon	1871	-	-	-	-	-	-	-	0.28	-	-	-
benzil alkol	1896	-	0.38	0.13	0.21	-	-	e	0.05	0.26	1.04	0.49
nonadekan	1900	1.44	0.39	0.30	2.72	0.19	-	-	-	0.19	-	0.17
1-nonadeken	1916	-	0.26	0.09	1.11	0.04	-	-	-	-	-	-
fenil etil alkol	1937	3.14	12.57	4.87	6.28	0.17	10.29	10.67	10.85	11.64	41.03	25.35
(*E*)-*β*-iyonon	1958	-	-	-	-	-	-	-	0.08	0.24	0.20	-
difenil eter*	1992	-	-	-	-	-	-	-	3.37	-	-	-
metil öjenol	2030	-	1.33	2.45	2.89	-	-	5.21		3.77	7.79	1.65
salvial-4(14)-en-1-on	2037	-	-	-	0.06	-	-	-	-	-	-	-
humulen epoksit ii	2071	-	-	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-
heneikosan	2127	-	-	-	0.10	-	-	-	-	-	-	-
10-epi-γ-eudesmol	2127	-	-	-		-	-	0.23	0.02	-	-	-
öjenol	2186	-	0.57	0.46	0.20	-	-	2.83	0.90	1.73	3.51	0.87
fenil etil hekzanoat	2195	-	-	-	0.13	-	-	-	-	-	-	-
dokosan	2200	-	-	1.23	-	-	-	-	-	-	-	-
trans-metilizoöjenol	2200	-	-	-	-	-	-	-	0.09	-	-	-
α-(triklorometil)benzil asetat*	2210	-	-	-	-	-	-	-	6.02	-	-	-
karvakrol	2239	-	-	-	-	0.27	-	0.94	-	-	-	-
(Z)-9-trikosen	2337	-	-	1.13	-	-	-	-	-	-	-	-

RRI: Relatif tutunma zamanı indisi *n*-alkan serisine göre hesaplanmıştır. **%:** FID verilerine göre hesaplanmıştır. **e:** (<%0.1)
***Kütle spekturumu benzerliğinden tanımlanmıştır.

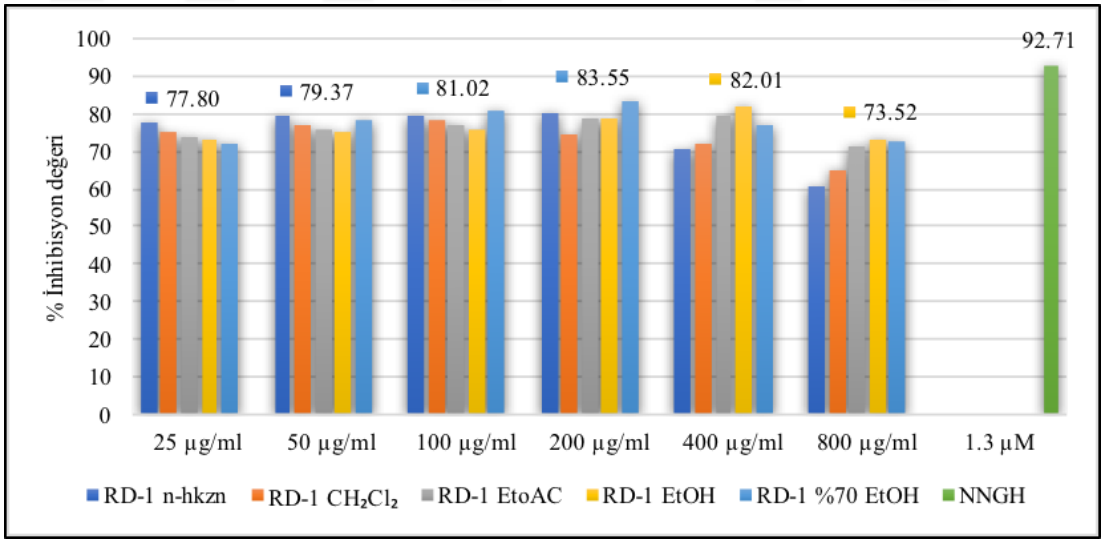
4.4. Matriks Metalloproteinaz İnhibitör Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

4.4.1. MMP-1 İnhibitör Aktivite Tayini

Rosa damascena petallerinden elde edilen *n*-hekzan (*n*-hkzn), diklorometan (CH_2Cl_2), etil asetat (EtOAc), etanol:su (70:30) (% 70 EtOH) ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonu (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-1 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.16., Şekil 4.51.).

Tablo 4.16. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-1 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3µM
***n*-hkzn**	77.80	79.37	79.72	80.13	70.69	60.52	
CH_2Cl_2	75.23	77.10	78.39	74.72	72.01	64.88	
EtOAc	74.06	75.84	77.23	79.06	79.60	71.56	
EtOH	73.36	75.11	75.57	78.90	82.01	73.52	
% 70 EtOH	72.01	78.44	81.02	83.55	76.94	72.76	
NNGH							92.71



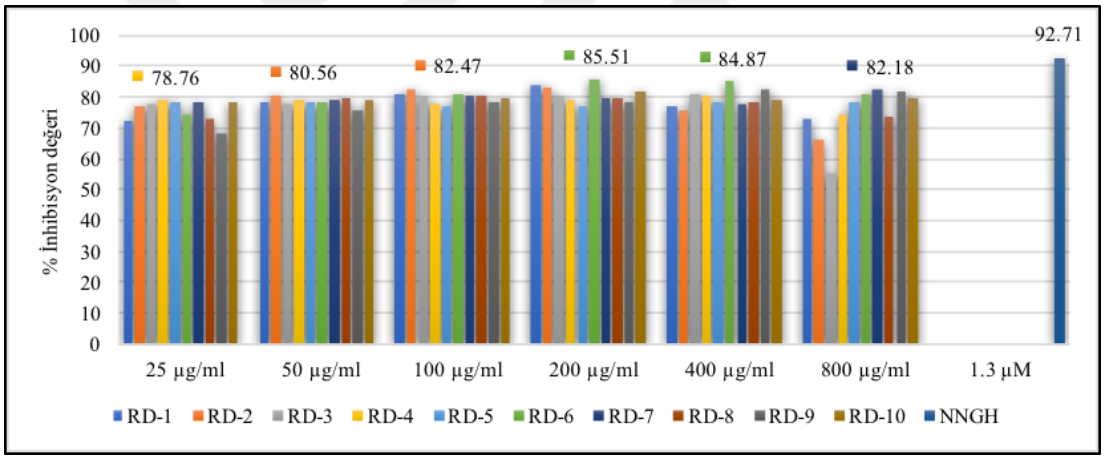
Şekil 4.51. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-1 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

10 farklı *R. damascena* bitkisinin petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstreleri 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-1 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve

sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.17., Şekil 4.52.).

Tablo 4.17. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70'lik EtOH ekstrelerinin MMP-1 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3 µM
RD-1	72.01	78.44	81.02	83.55	76.94	72.76	
RD-2	76.68	80.56	82.47	83.04	75.29	66.31	
RD-3	77.32	77.60	80.06	80.35	81.24	55.26	
RD-4	78.76	78.85	77.73	79.06	80.10	74.04	
RD-5	78.35	78.67	76.75	77.28	78.52	78.08	
RD-6	74.04	78.58	81.08	85.51	84.87	81.36	
RD-7	78.37	78.92	80.51	80.01	77.85	82.18	
RD-8	73.15	79.61	80.22	79.83	78.67	73.27	
RD-9	68.41	75.39	78.55	78.10	82.70	81.52	
RD-10	78.42	79.03	79.78	81.63	79.31	79.58	
NNGH							92.71



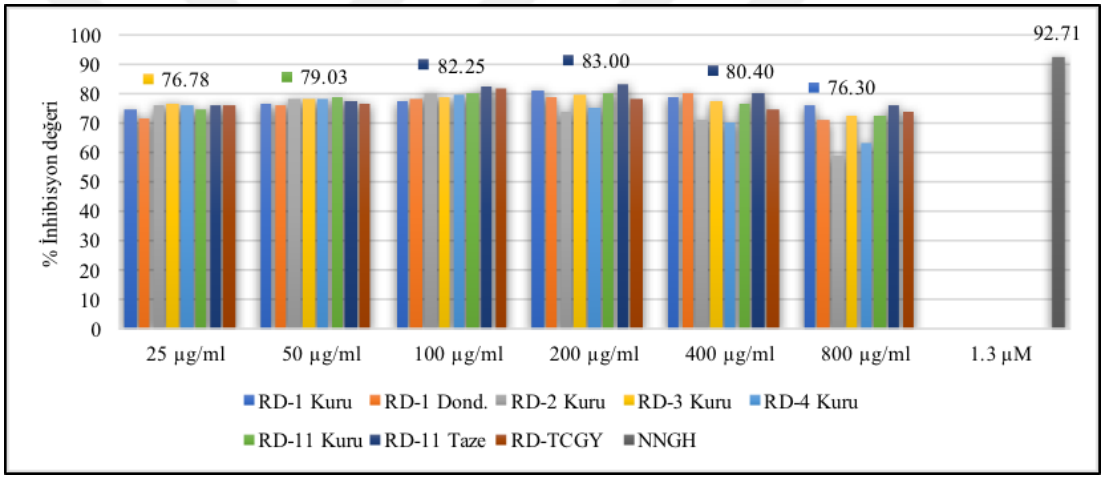
Şekil 4.52. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70'lik EtOH ekstrelerinin MMP-1 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı olan *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ ile RD ticari uçucu yağı (RD-TCGY) 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-1 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.18., Şekil 4.53.).

Tablo 4.18. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-1 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3 µM
RD-1 Kuru*	74.72	76.64	77.32	80.67	78.55	76.30	
RD-1 Dond.**	71.58	75.82	78.01	78.69	80.13	71.19	
RD-2 Kuru	75.75	78.08	80.54	73.90	71.31	58.72	
RD-3 Kuru	76.78	78.21	78.76	79.89	77.46	72.65	
RD-4 Kuru	75.96	77.87	79.44	75.02	70.21	62.94	
RD-11 Kuru	74.59	79.03	79.99	80.13	76.37	72.17	
RD-11 Taze***	75.75	77.19	82.25	83.00	80.40	76.00	
RD-TCGY	76.12	77.03	81.45	77.89	74.76	73.67	
NNGH							92.71

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Dond..: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.



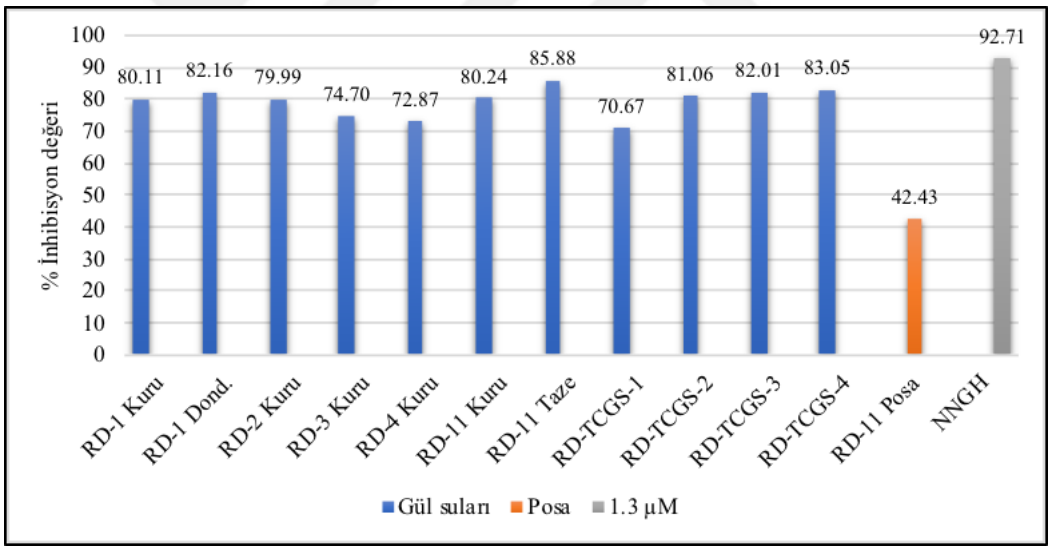
Şekil 4.53. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-1 inhibisyon yüzdeleri.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon sonucu elde edilen gül suları ile RD-11 kodlu Isparta gülünün posa suyu ve 4 farklı ticari gül suyu MMP-1 enzim inhibisyonu açısından test edilmiştir. Sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.19., Şekil 4.54.).

Tablo 4.19. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-1 inhibisyon yüzdeleri.

	Gül suları	1.3 µM
RD-1 Kuru*	80.11	
RD-1 Dond.**	82.16	
RD-2 Kuru	79.99	
RD-3 Kuru	74.70	
RD-4 Kuru	72.87	
RD-11 Kuru	80.24	
RD-11 Taze***	**85.88**	
RD-TCGS-1	70.67	
RD-TCGS-2	81.06	
RD-TCGS-3	82.01	
RD-TCGS-4	83.05	
RD-11 Posa****	42.43	
NNGH		**92.71**

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Dond.: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.
****Posa: Hidrodistilasyon sırasında numunenin kaynatıldığı sulu ekstre.



Şekil 4.54. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-1 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

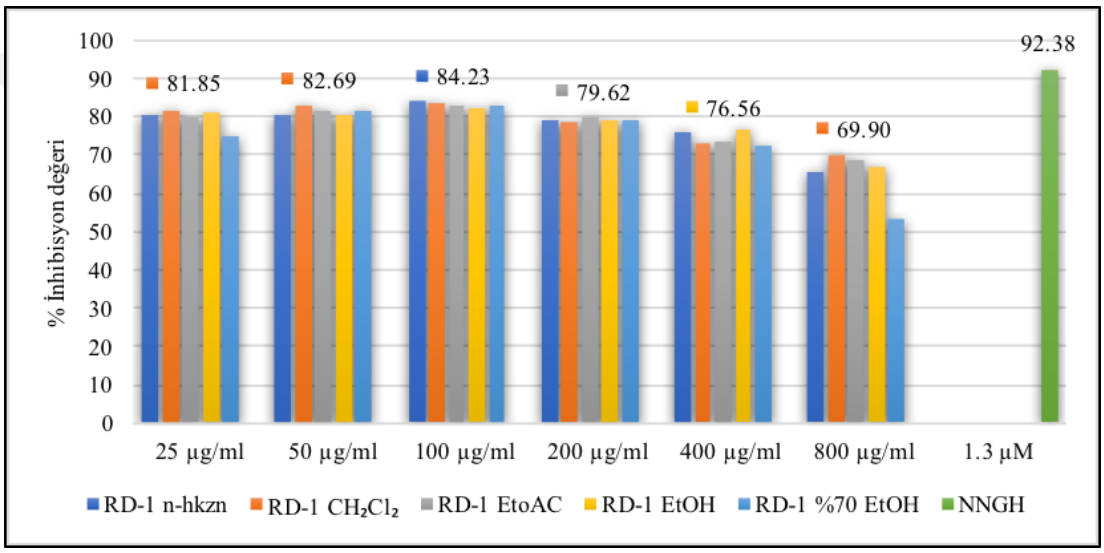
4.4.2. MMP-2 İnhibitör Aktivite Tayini

Rosa damascena petallerinden elde edilen *n*-hekzan (*n*-hkzn), diklorometan (CH_2Cl_2), etil asetat (EtOAc), etanol:su (70:30) (% 70 EtOH) ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonu (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800

µg/mL) MMP4-2 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.20., Şekil 4.55.).

Tablo 4.20. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-2 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	**Konsantrasyon**						
	25 µg/mL	**50 µg/mL**	**100 µg/mL**	**200 µg/mL**	**400 µg/mL**	**800 µg/mL**	**1.3µM**
***n*-hkzn**	80.19	80.62	84.23	79.38	76.08	65.41	
CH_2Cl_2	81.85	82.69	83.38	78.69	72.85	69.90	
EtOAc	80.00	81.54	82.77	79.62	73.87	68.79	
EtOH	80.69	80.65	82.08	79.08	76.56	67.10	
% 70 EtOH	74.77	81.54	82.88	78.85	72.15	53.15	
NNGH							92.38

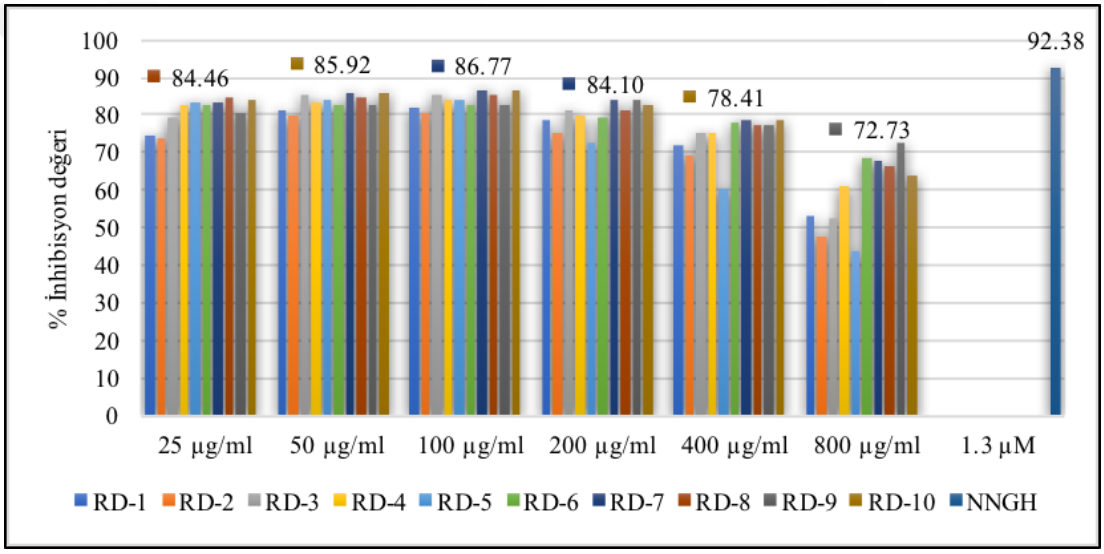


Şekil 4.55. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-2 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

10 farklı *R. damascena* bitkisinin petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstreleri 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-2 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.21., Şekil 4.56.).

Tablo 4.21. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-2 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	**50 µg/mL**	**100 µg/mL**	**200 µg/mL**	**400 µg/mL**	**800 µg/mL**	**1.3µM**
RD-1	74.77	81.54	82.88	78.85	72.15	53.15	
RD-2	73.62	80.23	80.85	75.10	69.00	47.92	
RD-3	79.38	85.08	85.23	81.36	75.08	52.38	
RD-4	82.62	83.62	84.00	79.92	75.00	61.18	
RD-5	83.46	83.92	84.23	72.56	60.41	43.82	
RD-6	82.46	82.54	82.77	79.00	77.62	68.38	
RD-7	83.31	85.69	86.77	84.10	78.36	67.90	
RD-8	84.46	84.54	85.08	81.18	77.31	66.72	
RD-9	80.77	82.31	82.54	83.69	77.38	72.73	
RD-10	84.00	85.92	86.46	82.85	78.41	63.56	
NNGH							92.38



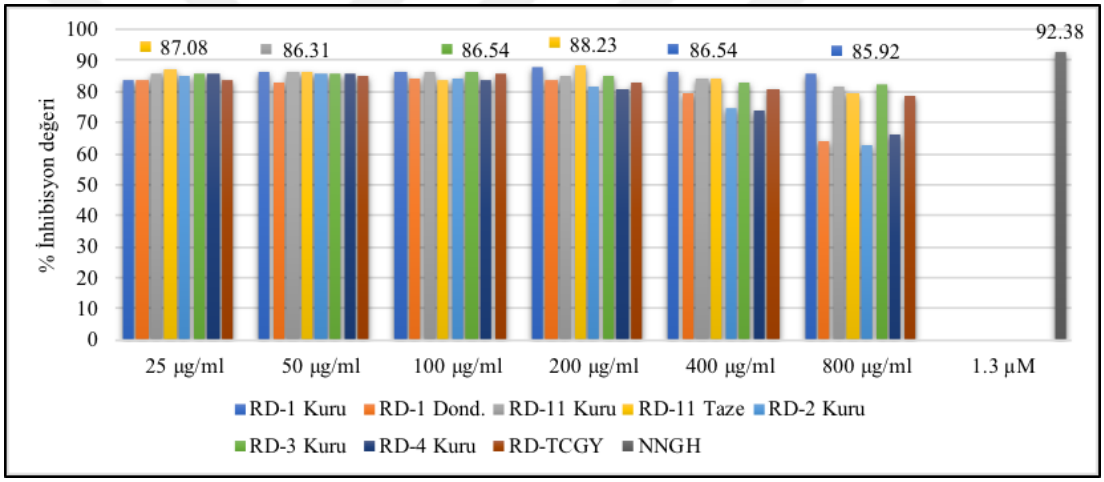
Şekil 4.56. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-2 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ ile RD ticari uçucu yağı (RD-TCGY) 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-2 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.22., Şekil 4.57.).

Tablo 4.22. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-2 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3 µM
RD-1 Kuru*	83.92	86.23	86.38	88.00	86.54	85.92	
RD-1 Dond.**	83.92	83.08	84.12	83.54	79.79	63.90	
RD-2 Kuru	85.54	86.31	86.46	85.27	84.13	81.92	
RD-3 Kuru	87.08	86.15	84.00	88.23	84.15	79.46	
RD-4 Kuru	85.31	86.00	84.08	81.64	74.92	62.67	
RD-11 Kuru	85.62	85.77	86.54	85.36	83.31	82.62	
RD-11 Taze***	85.54	86.00	83.85	80.74	74.18	66.44	
RD-TCGY	83.46	85.00	85.77	83.05	80.54	79.03	
NNGH							92.38

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Dond.: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.



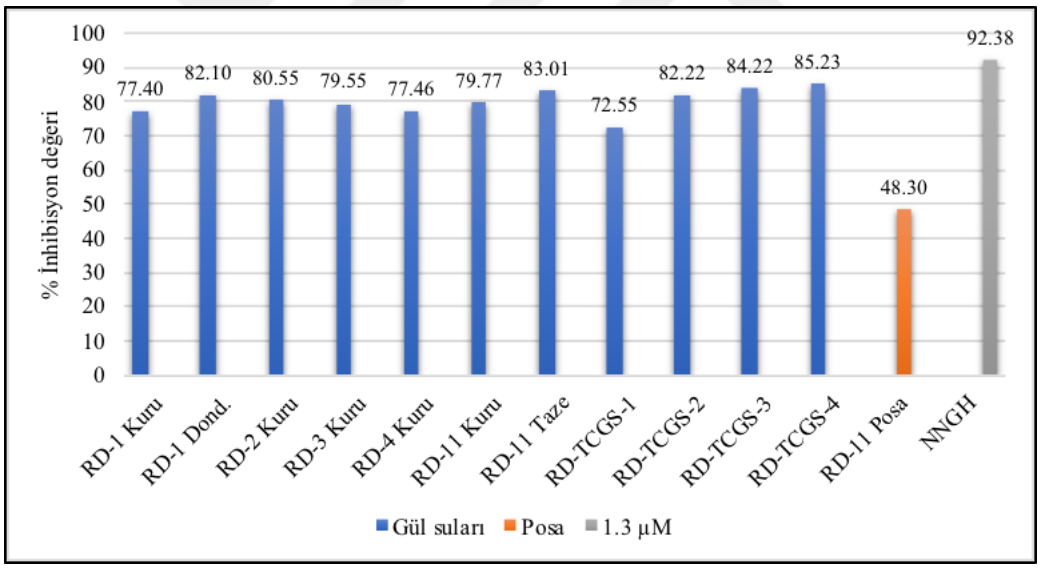
Şekil 4.57. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-2 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon sonucu elde edilen gül suları ile RD-11 kodlu Isparta gülünün posa suyu ve 4 farklı ticari gül suyu MMP-2 enzim inhibisyonu açısından test edilmiştir. Sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.23., Şekil 4.58.).

Tablo 4.23. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-2 inhibisyon yüzdeleri.

	Gül suları	1.3 µM
RD-1 Kuru*	77.40	
RD-1 Dond.**	82.10	
RD-2 Kuru	80.55	
RD-3 Kuru	79.55	
RD-4 Kuru	77.46	
RD-11 Kuru	79.77	
RD-11 Taze***	83.01	
RD-TCGS-1	72.55	
RD-TCGS-2	82.22	
RD-TCGS-3	84.22	
RD-TCGS-4	**85.23**	
RD-11 Posa****	48.30	
NNGH		**92.38**

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Taze: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.
****Posa: Hidrodistilasyon sırasında numunenin kaynatıldığı sulu ekstre.



Şekil 4.58. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-2 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

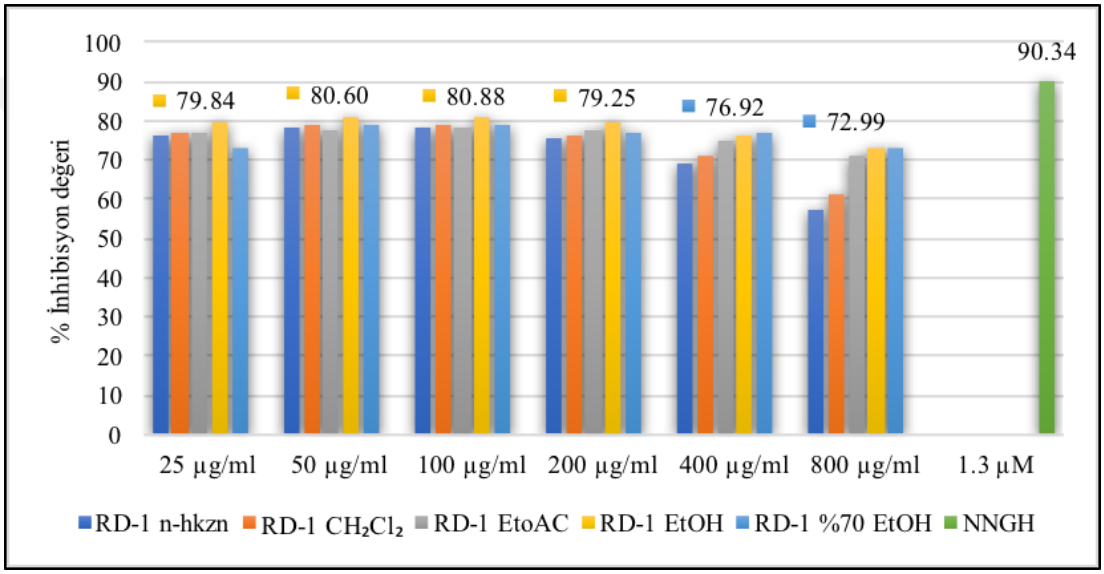
4.4.3. MMP-3 İnhibitör Aktivite tayini

Rosa damascena petallerinden elde edilen *n*-hekzan (*n*-hkzn), dilorometan (CH_2Cl_2), etil asetat (EtOAc), etanol:su (70:30) (% 70 EtOH) ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonu (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800

µg/mL) MMP-3 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.24., Şekil 4.59.).

Tablo 4.24. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-3 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3µM
***n*-hkzn**	76.36	77.93	78.52	75.53	69.38	57.32	
CH_2Cl_2	76.78	78.73	78.87	76.09	71.25	61.07	
EtOAc	77.06	77.82	78.24	77.75	74.97	71.32	
EtOH	79.84	80.60	80.88	79.25	76.23	72.92	
% 70 EtOH	73.03	78.80	79.08	76.85	76.92	72.99	
NNGH							90.34

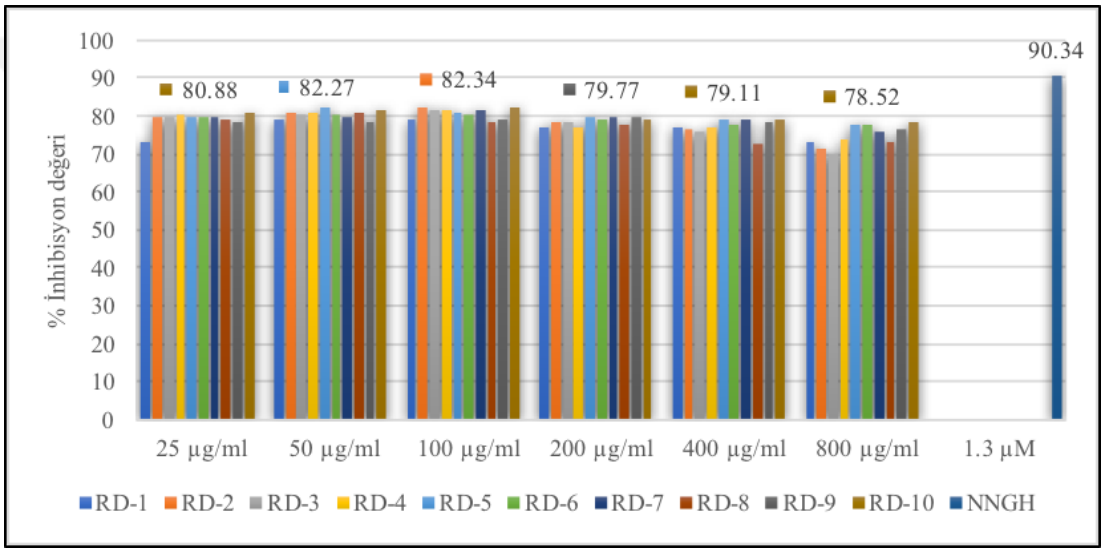


Şekil 4.59. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-3 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

10 farklı *R. damascena* bitkisinin petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstreleri 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-3 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.25., Şekil 4.60.).

Tablo 4.25. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-3 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	**50 µg/mL**	**100 µg/mL**	**200 µg/mL**	**400 µg/mL**	**800 µg/mL**	**1.3µM**
RD-1	73.03	78.80	79.08	76.85	76.92	72.99	
RD-2	79.87	80.60	82.34	78.10	76.36	71.11	
RD-3	79.70	80.05	81.37	78.31	75.50	70.22	
RD-4	80.33	80.95	81.65	77.02	77.23	73.90	
RD-5	79.77	82.27	80.88	79.56	78.94	77.82	
RD-6	79.35	79.98	80.12	78.87	77.86	77.55	
RD-7	79.63	79.91	81.30	79.32	78.90	75.91	
RD-8	78.87	80.74	78.45	77.69	72.47	73.34	
RD-9	78.10	78.59	78.87	79.77	78.66	76.23	
RD-10	80.88	81.37	82.00	79.01	79.11	78.52	
NNGH							90.34



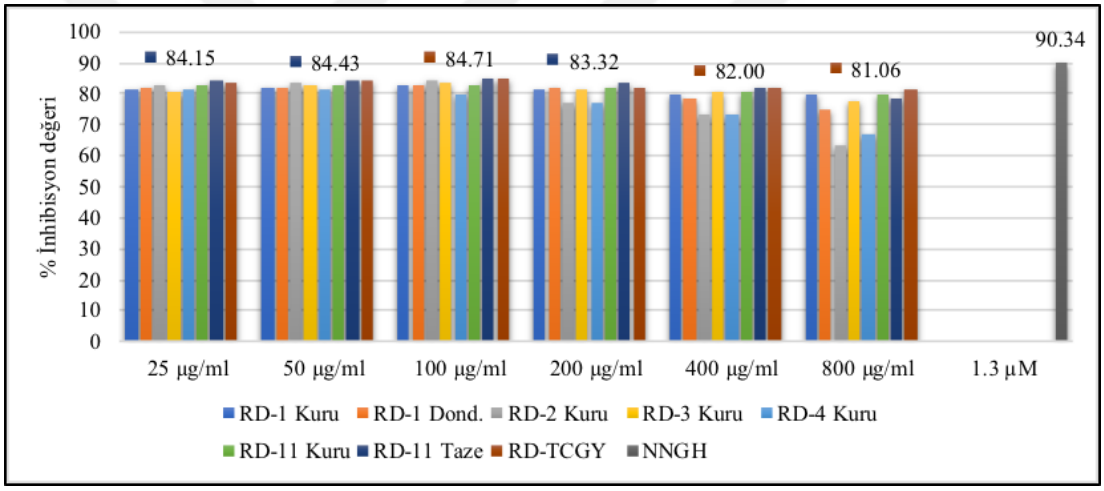
Şekil 4.60. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-3 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ ile RD ticari uçucu yağı (RD-TCGY) 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-3 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.26, Şekil 4.61.).

Tablo 4.26. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-3 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3 µM
RD-1 Kuru*	81.37	82.41	82.76	81.23	80.05	79.91	
RD-1 Dond.**	82.06	82.27	83.18	82.45	78.24	74.94	
RD-2 Kuru	83.04	83.32	84.57	77.16	73.34	63.64	
RD-3 Kuru	80.81	82.90	83.59	81.30	80.88	77.89	
RD-4 Kuru	81.16	81.44	79.94	77.23	73.79	67.22	
RD-11 Kuru	82.55	82.69	82.97	82.00	80.74	79.63	
RD-11 Taze***	84.15	84.43	84.64	83.32	81.93	78.42	
RD-TCGY	83.25	84.29	84.71	82.06	82.00	81.06	
NNGH							90.34

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Taze: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.



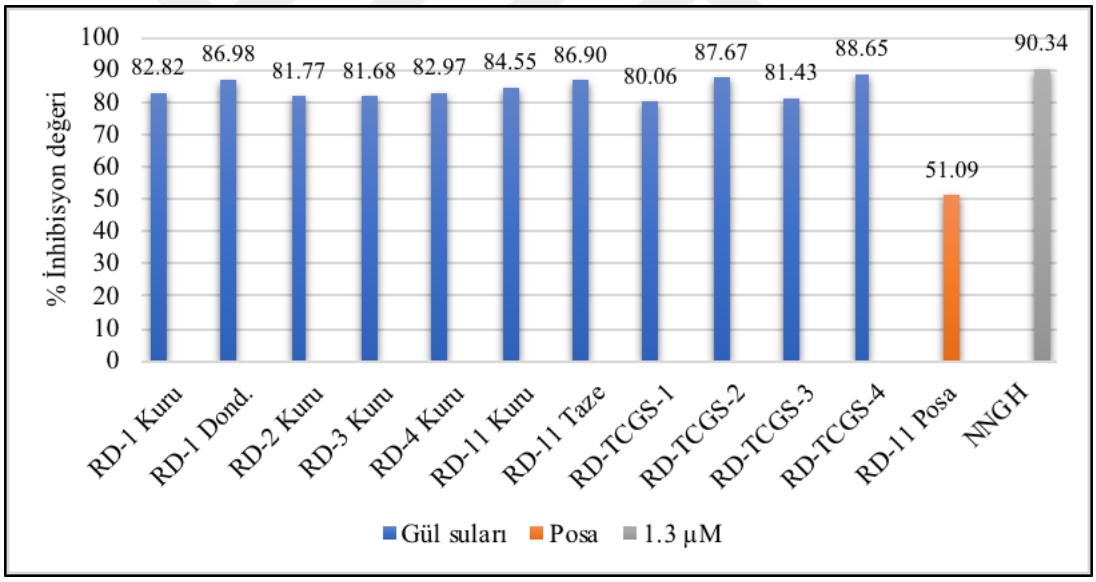
Şekil 4.61. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-3 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon sonucu elde edilen gül suları ile RD-11 kodlu Isparta gülünün posa suyu ve 4 farklı ticari gül suyu MMP-3 enzim inhibisyonu açısından test edilmiştir. Sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.27., Şekil 4.62.).

Tablo 4.27. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-3 inhibisyon yüzdeleri.

	Gül suları	1.3 µM
RD-1 Kuru*	82.82	
RD-1 Dond.**	86.98	
RD-2 Kuru	81.77	
RD-3 Kuru	81.68	
RD-4 Kuru	82.97	
RD-11 Kuru	84.55	
RD-11 Taze***	86.90	
RD-TCGS-1	80.06	
RD-TCGS-2	87.67	
RD-TCGS-3	81.43	
RD-TCGS-4	**88.65**	
RD-11 Posa****	51.09	
NNGH		90.34

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Taze: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.
****Posa: Hidrodistilasyon sırasında numunenin kaynatıldığı sulu ekstre



Şekil 4.62. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-3 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

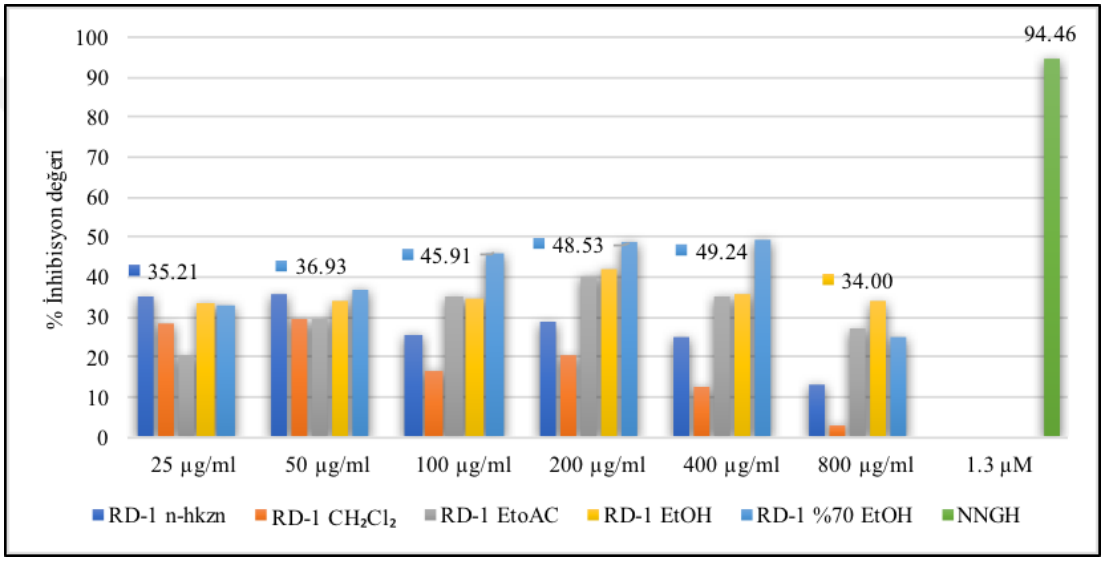
4.4.4. MMP-8 İnhibitör Aktivite tayini

Rosa damascena petallerinden elde edilen *n*-hekzan (*n*-hkzn), dilorometan (CH_2Cl_2), etil asetat (EtOAc), etanol:su (70:30) (% 70 EtOH) ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonu (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800

µg/mL) MMP-8 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.28., Şekil 4.63.).

Tablo 4.28. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-8 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	**Konsantrasyon**						
	25 µg/mL	**50 µg/mL**	**100 µg/mL**	**200 µg/mL**	**400 µg/mL**	**800 µg/mL**	**1.3µM**
***n*-hkzn**	35.21	35.61	25.62	28.85	24.96	13.21	
CH_2Cl_2	28.35	29.56	16.64	20.27	12.40	3.00	
EtOAc	20.27	29.66	35.01	40.05	35.41	27.34	
EtOH	33.70	34.20	34.70	41.77	35.97	34.00	
% 70 EtOH	32.79	36.93	45.91	48.53	49.24	24.81	
NNGH							94.46

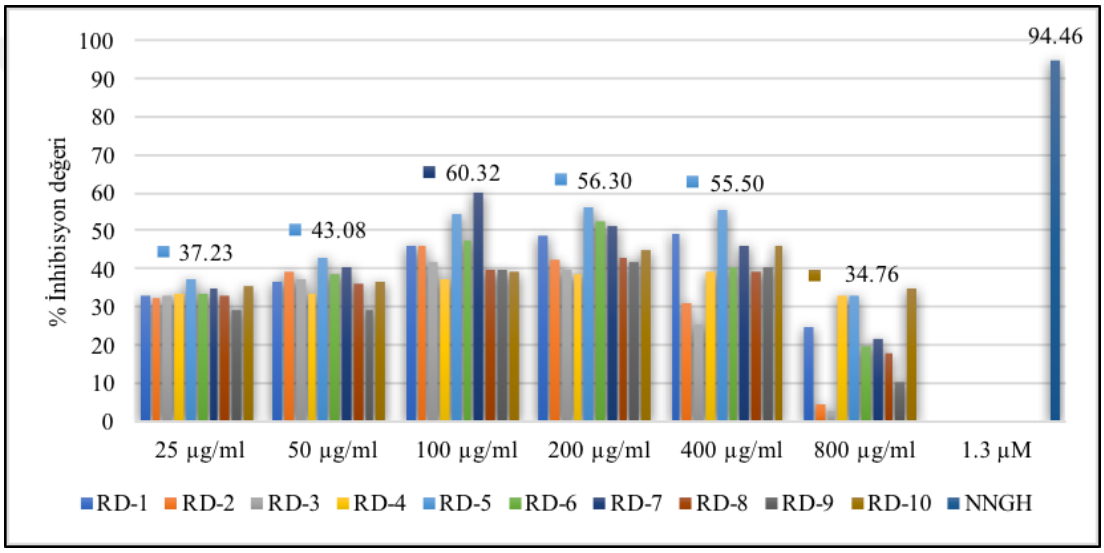


Şekil 4.63. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-8 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

10 farklı *R. damascena* bitkisinin petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstreleri 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-8 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.29., Şekil 4.64.).

Tablo 4.29. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-8 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	**50 µg/mL**	**100 µg/mL**	**200 µg/mL**	**400 µg/mL**	**800 µg/mL**	**1.3µM**
RD-1	32.79	36.93	45.91	48.53	49.24	24.81	
RD-2	32.38	39.10	45.91	42.68	30.77	4.33	
RD-3	33.19	37.28	41.47	39.75	25.32	2.65	
RD-4	33.39	33.80	37.23	38.34	39.35	33.09	
RD-5	37.23	43.08	54.08	56.30	55.50	32.58	
RD-6	33.64	38.34	47.52	52.17	40.76	19.46	
RD-7	35.11	40.51	64.38	51.11	46.01	21.79	
RD-8	33.19	35.92	39.65	43.08	39.35	17.95	
RD-9	29.00	29.25	39.55	41.67	40.66	9.87	
RD-10	35.51	36.72	39.45	44.60	45.91	34.76	
NNGH							94.46



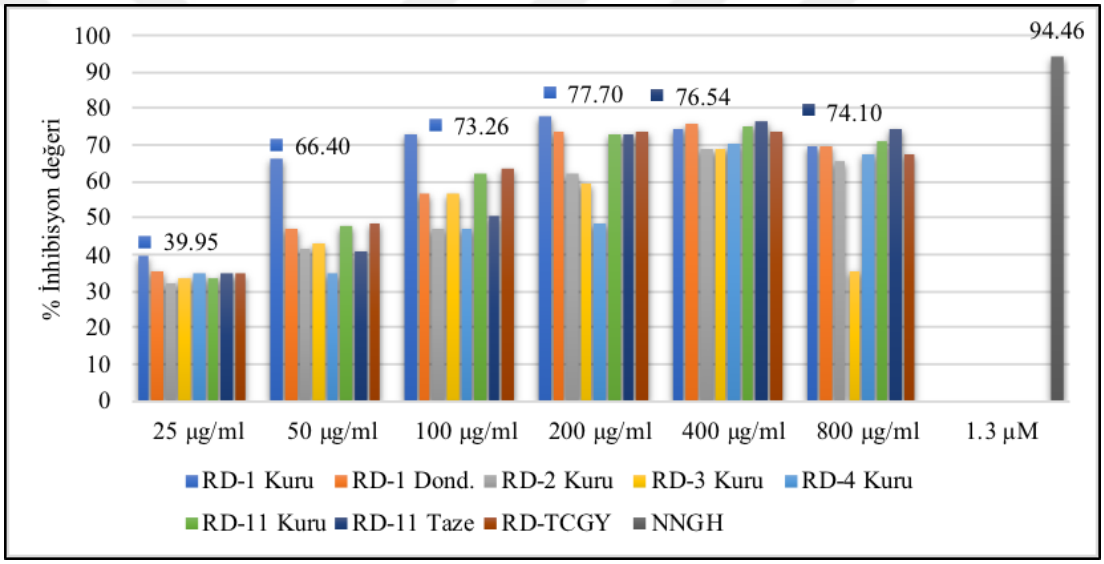
Şekil 4.64. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-8 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ ile RD ticari uçucu yağı (RD-TCGY) 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-8 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.30., Şekil 4.65).

Tablo 4.30. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-8 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3 µM
RD-1 Kuru*	39.95	66.40	73.26	77.70	74.65	69.77	
RD-1 Dond.**	35.87	47.42	56.41	73.46	75.99	69.89	
RD-2 Kuru	32.28	41.87	47.42	62.06	69.21	65.49	
RD-3 Kuru	33.29	42.98	56.51	59.64	68.77	35.26	
RD-4 Kuru	34.60	34.70	47.42	48.53	70.01	67.61	
RD-11 Kuru	33.39	47.62	61.86	72.86	75.32	70.67	
RD-11 Taze***	35.11	40.86	50.55	73.16	76.54	74.10	
RD-TCGY	34.91	48.44	63.33	73.55	74.01	67.87	
NNGH							94.46

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Taze: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.



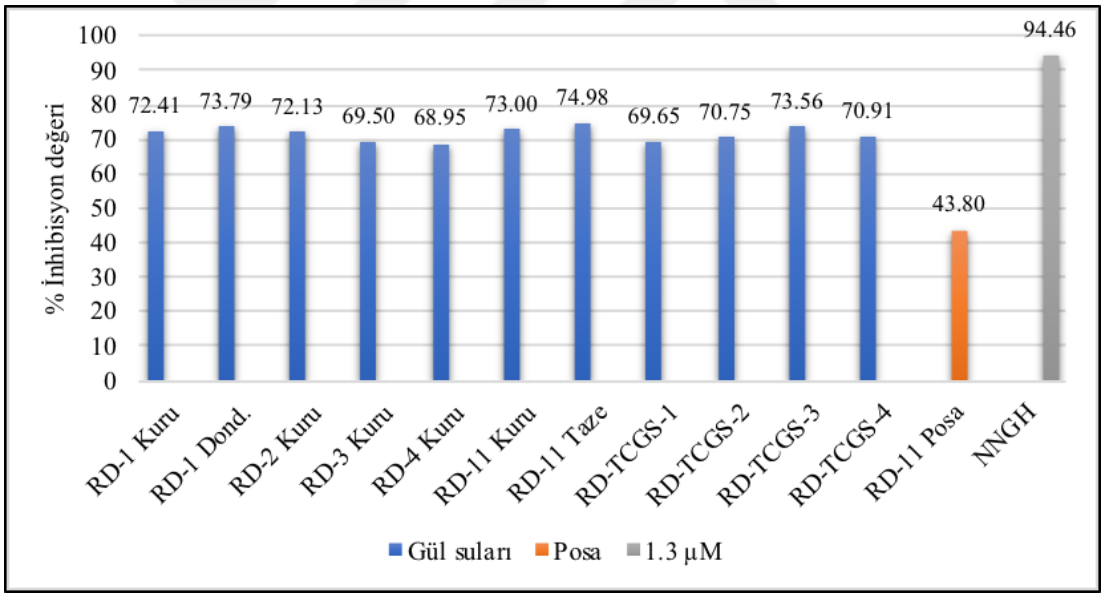
Şekil 4.65. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-8 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon sonucu elde edilen gül suları ile RD-11 kodlu Isparta gülünün posa suyu ve 4 farklı ticari gül suyu MMP-8 enzim inhibisyonu açısından test edilmiştir. Sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.31, Şekil 4.66.).

Tablo 4.31. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-8 inhibisyon yüzdeleri.

	Gül suları	1.3 µM
RD-1 Kuru*	72.41	
RD-1 Dond.**	73.79	
RD-2 Kuru	72.13	
RD-3 Kuru	69.50	
RD-4 Kuru	68.95	
RD-11 Kuru	73.00	
RD-11 Taze***	**74.98**	
RD-TCGS-1	69.65	
RD-TCGS-2	70.75	
RD-TCGS-3	73.56	
RD-TCGS-4	70.91	
RD-11 Posa****	43.80	
NNGH		**94.46**

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Taze: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.
****Posa: Hidrodistilasyon sırasında numunenin kaynatıldığı sulu ekstre



Şekil 4.66. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-8 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

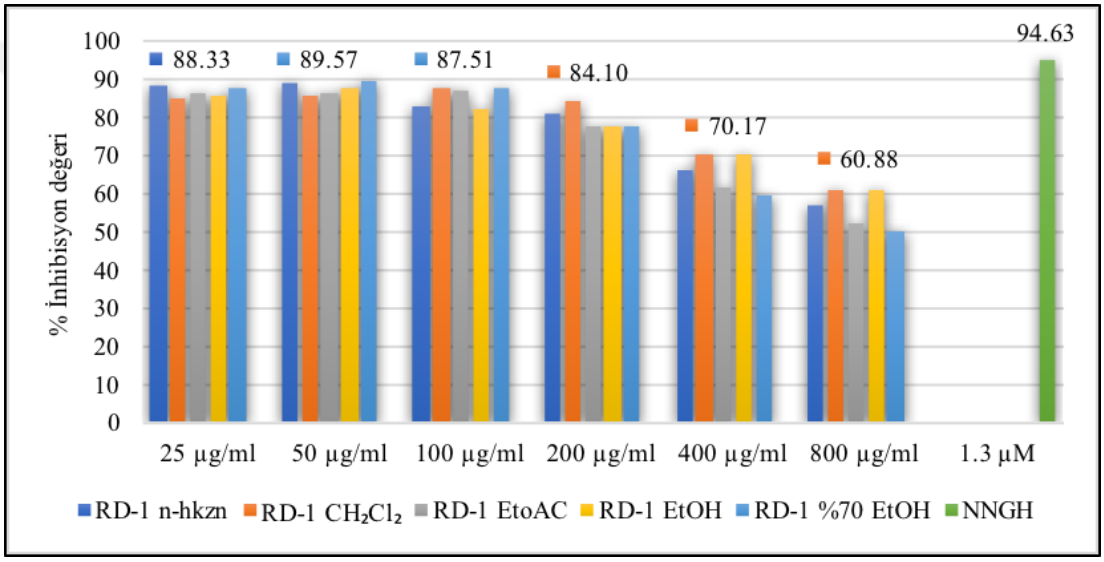
4.4.5. MMP-9 İnhibitör Aktivite tayini

Rosa damascena petallerinden elde edilen *n*-hekzan (*n*-hkzn), dilorometan (CH_2Cl_2), etil asetat (EtOAc), etanol:su (70:30) (% 70 EtOH) ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonu (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800

µg/mL) MMP-9 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.32, Şekil 4.67.).

Tablo 4.32. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-9 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	**Konsantrasyon**						
	25 µg/mL	**50 µg/mL**	**100 µg/mL**	**200 µg/mL**	**400 µg/mL**	**800 µg/mL**	**1.3µM**
***n*-hkzn**	88.33	88.75	83.07	80.69	66.14	56.85	
CH_2Cl_2	85.03	85.24	87.20	84.10	70.17	60.88	
EtOAc	86.27	86.48	87.09	77.18	61.18	51.89	
EtOH	85.34	87.51	82.45	77.18	70.06	60.77	
% 70 EtOH	87.71	89.57	87.51	77.29	59.43	50.14	
NNGH							94.63

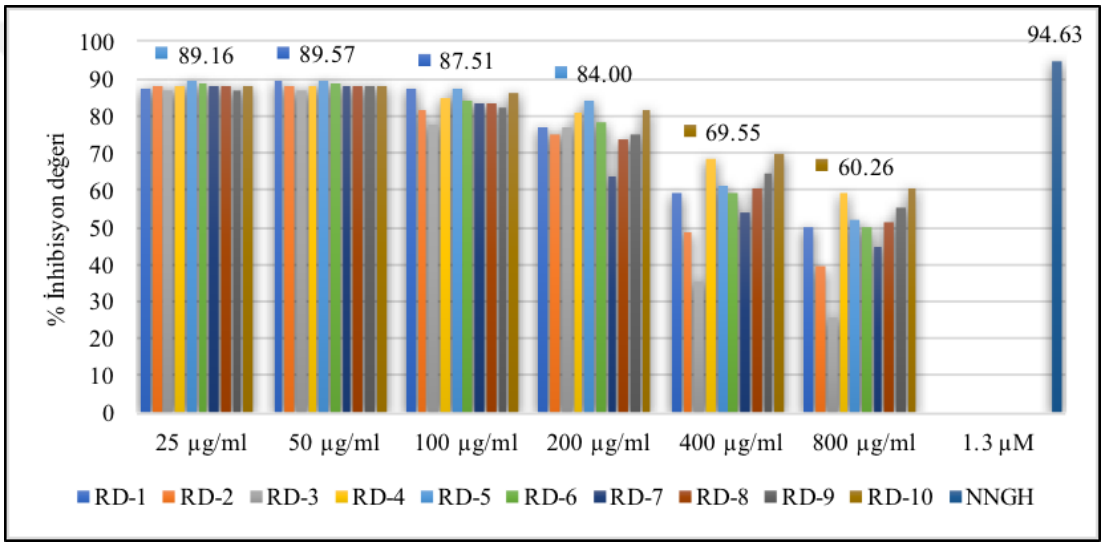


Şekil 4.67. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-9 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

10 farklı *R. damascena* bitkisinin petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstreleri 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-9 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.33., Şekil 4.68.).

Tablo 4.33. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-9 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	**50 µg/mL**	**100 µg/mL**	**200 µg/mL**	**400 µg/mL**	**800 µg/mL**	**1.3µM**
RD-1	87.71	89.57	87.51	77.29	59.43	50.14	
RD-2	88.13	88.33	81.42	75.12	48.69	39.40	
RD-3	86.78	87.09	77.91	76.77	35.28	25.98	
RD-4	87.92	88.02	84.72	80.59	68.51	59.22	
RD-5	89.16	89.37	87.20	84.00	61.29	52.00	
RD-6	88.75	88.85	84.31	78.42	59.12	49.83	
RD-7	87.82	88.13	83.28	63.77	53.96	44.67	
RD-8	88.02	88.13	83.79	73.78	60.36	51.07	
RD-9	86.99	87.92	81.93	75.02	64.28	54.99	
RD-10	88.02	88.23	85.86	81.83	69.55	60.26	
NNGH							94.63



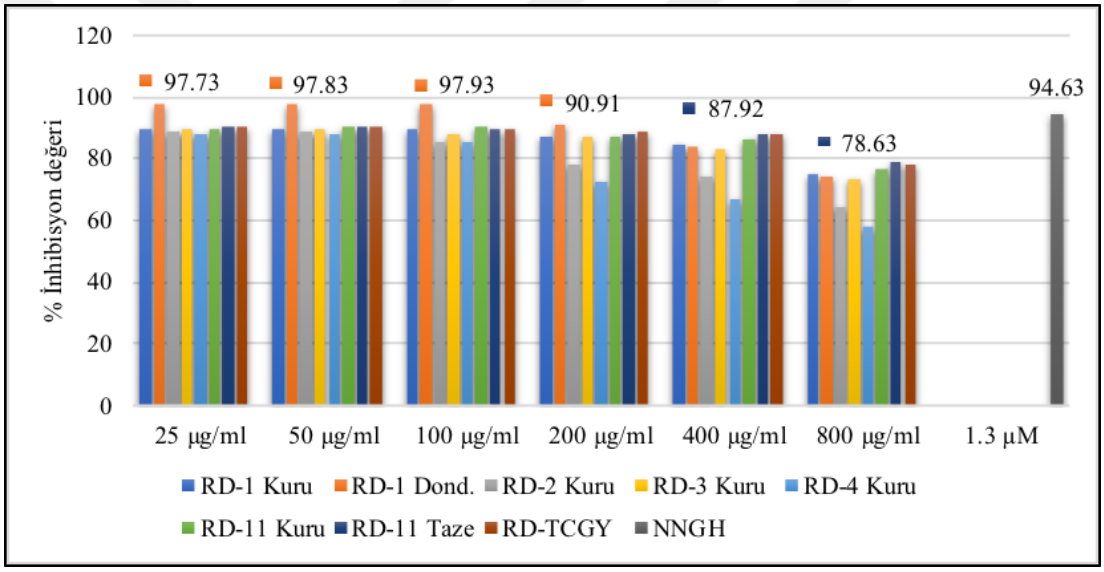
Şekil 4.68. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-9 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ ile RD ticari uçucu yağı (RD-TCGY) 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-9 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.34., Şekil 4.69.).

Tablo 4.34. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-9 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3 µM
RD-1 Kuru*	89.68	89.88	89.16	87.51	84.41	75.12	
RD-1 Dond.**	97.73	97.83	97.93	90.91	83.58	74.29	
RD-2 Kuru	88.54	88.85	85.75	78.32	73.98	64.69	
RD-3 Kuru	89.16	89.57	88.02	87.51	82.86	73.57	
RD-4 Kuru	87.82	88.02	85.44	72.85	67.28	57.98	
RD-11 Kuru	89.68	89.98	90.19	87.51	86.27	76.98	
RD-11 Taze***	90.60	90.71	89.68	88.13	87.92	78.63	
RD-TCGY	89.98	90.29	89.47	88.75	87.82	78.53	
NNGH							94.63

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Taze: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.



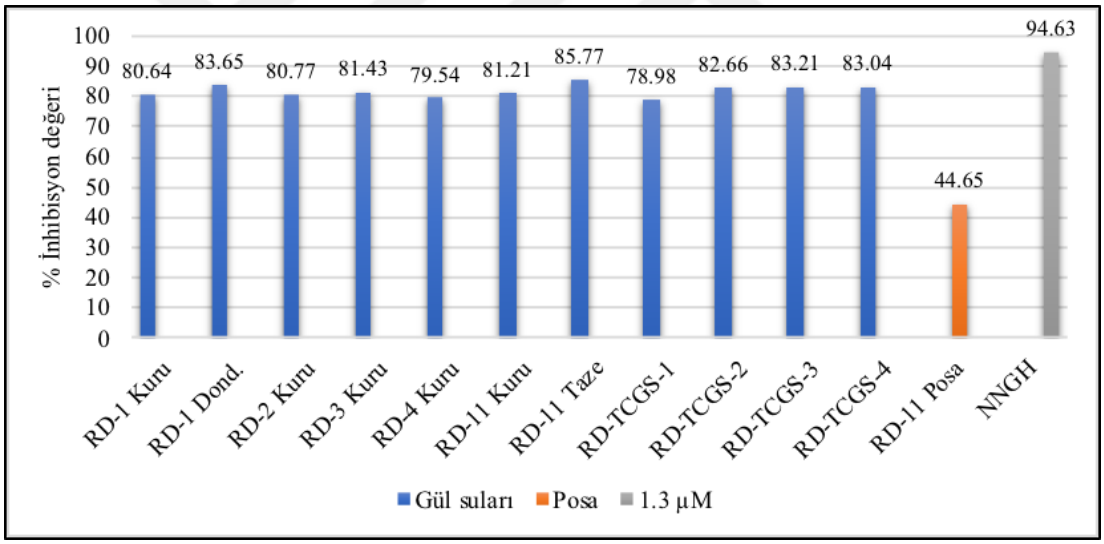
Şekil 4.69. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-9 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon sonucu elde edilen gül suları ile RD-11 kodlu Isparta gülünün posa suyu ve 4 farklı ticari gül suyu MMP-9 enzim inhibisyonu açısından test edilmiştir. Sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.35., Şekil 4.70.).

Tablo 4.35. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-9 inhibisyon yüzdeleri.

	Gül suları	1.3 µM
RD-1 Kuru*	80.64	
RD-1 Dond.**	83.65	
RD-2 Kuru	80.77	
RD-3 Kuru	81.43	
RD-4 Kuru	79.54	
RD-11 Kuru	81.21	
RD-11 Taze***	**85.77**	
RD-TCGS-1	78.98	
RD-TCGS-2	82.66	
RD-TCGS-3	83.21	
RD-TCGS-4	83.04	
RD-11 Posa****	44.65	
NNGH		**94.63**

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Taze: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.
****Posa: Hidrodistilasyon sırasında numunenin kaynatıldığı sulu ekstre



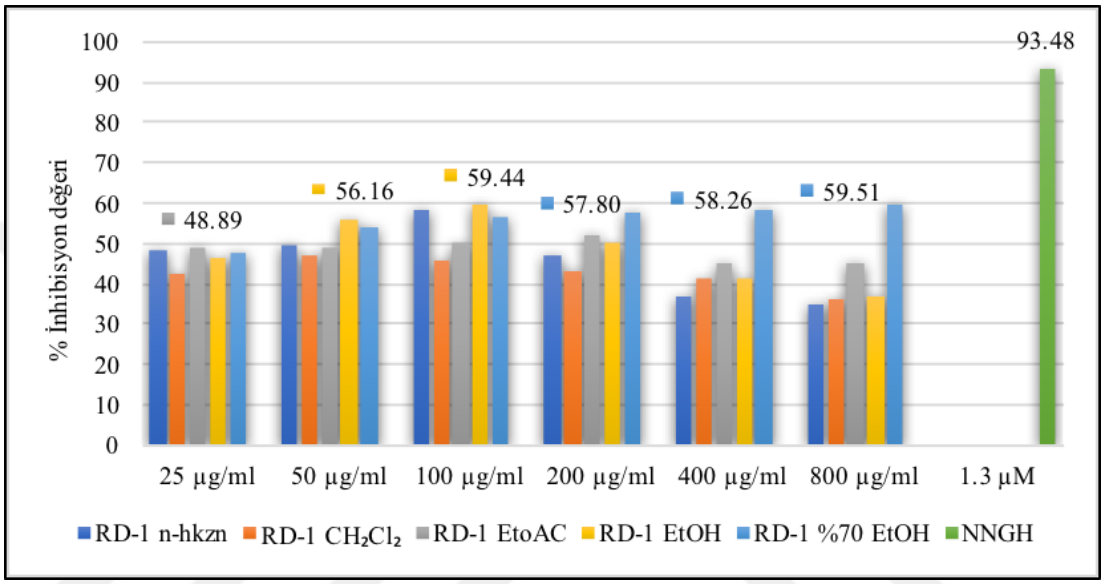
Şekil 4.70. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-9 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

4.4.6. MMP-13 İnhibitör Aktivite tayini

Rosa damascena petallerinden elde edilen *n*-hekzan (*n*-hkzn), diklorometan (CH_2Cl_2), etil asetat (EtOAc), etanol:su (70:30) (% 70 EtOH) ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonu (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-13 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.36., Şekil 4.71.).

Tablo 4.36. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-13 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3µM
***n*-hkzn**	48.30	49.61	58.26	47.18	36.95	35.05	
CH_2Cl_2	42.52	47.18	45.80	43.44	41.34	36.10	
EtOAc	48.89	49.02	49.87	51.84	44.82	45.31	
EtOH	46.66	56.16	59.44	50.00	41.41	37.02	
% 70 EtOH	47.70	54.00	56.43	57.80	58.26	59.51	
NNGH							93.48

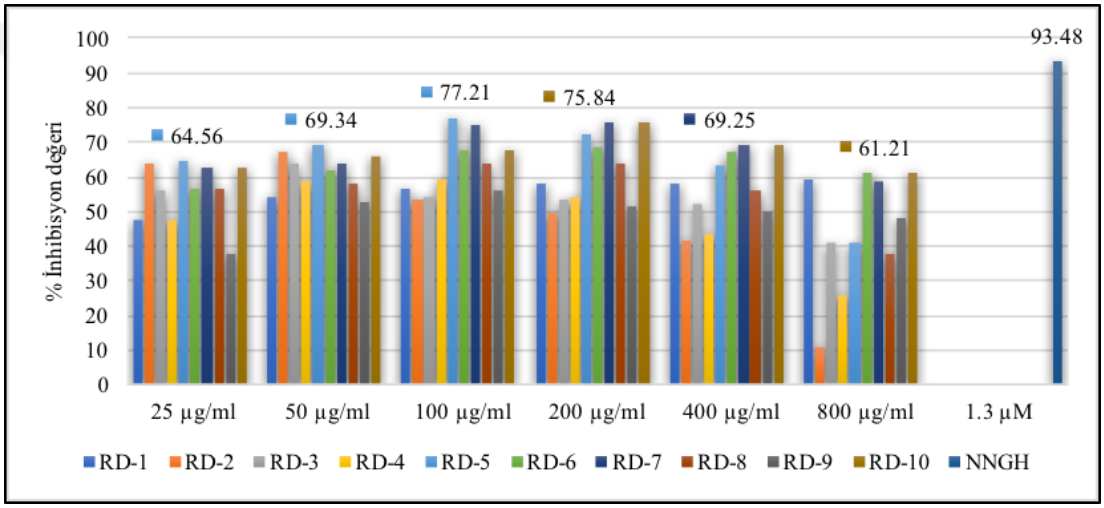


Şekil 4.71. RD-1 petal ekstrelerinin MMP-13 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

10 farklı *R. damascena* bitkisinin petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstreleri 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-13 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.37., Şekil 4.72.).

Tablo 4.37. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-13 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3µM
RD-1	47.70	54.00	56.43	57.80	58.26	59.51	
RD-2	63.90	67.11	53.61	49.21	41.80	10.82	
RD-3	56.03	63.90	54.30	53.48	52.23	40.82	
RD-4	47.51	58.72	59.31	53.80	43.84	25.80	
RD-5	64.56	69.34	77.21	72.36	63.44	40.75	
RD-6	56.56	61.67	67.84	68.23	67.15	61.02	
RD-7	62.79	64.10	74.92	75.77	69.25	58.59	
RD-8	56.72	57.90	63.90	63.97	55.77	37.51	
RD-9	37.54	53.02	55.77	51.64	50.16	48.49	
RD-10	62.79	65.74	67.97	75.84	69.15	61.21	
NNGH							93.48



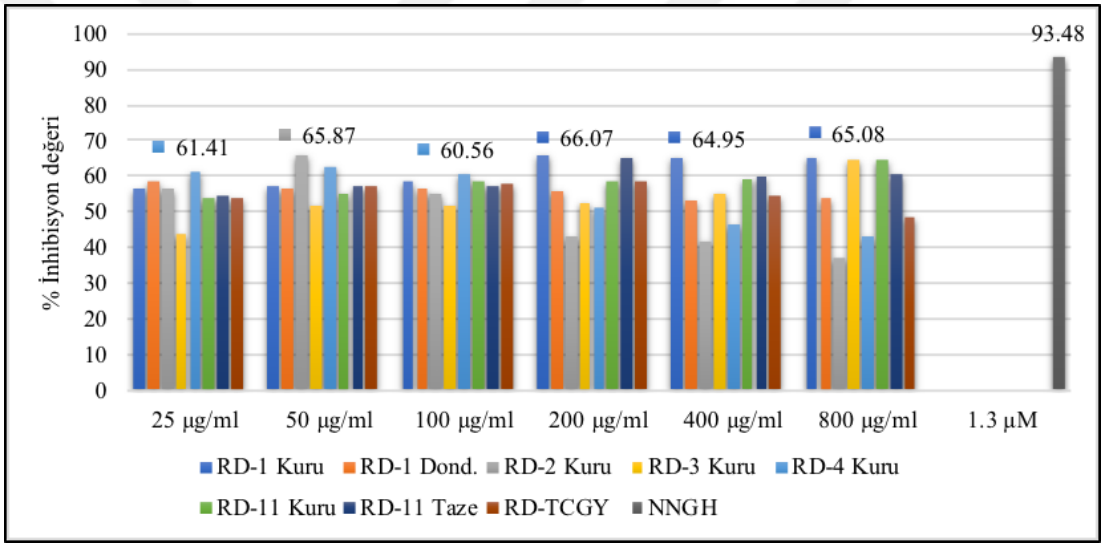
Şekil 4.72. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin MMP-13 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ ile RD ticari uçucu yağı (RD-TCGY) 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) MMP-13 enzim inhibisyonu açısından test edilmiş ve sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.38., Şekil 4.73.).

Tablo 4.38. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağın MMP-13 inhibisyon yüzdeleri.

Numune	Konsantrasyon						
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL	1.3 µM
RD-1 Kuru*	56.43	57.34	58.59	66.07	64.95	65.08	
RD-1 Dond.**	58.69	56.23	56.75	55.67	52.89	54.00	
RD-2 Kuru	56.30	65.87	55.51	43.41	41.54	37.34	
RD-3 Kuru	43.97	51.57	51.90	52.56	55.38	64.92	
RD-4 Kuru	61.41	62.39	60.56	51.51	46.62	43.18	
RD-11 Kuru	54.13	55.31	58.72	58.85	59.05	64.36	
RD-11 Taze***	54.72	57.48	57.02	65.05	60.00	60.92	
RD-TCGY	53.74	57.34	57.67	58.26	54.43	48.36	
NNGH							93.48

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Taze: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.



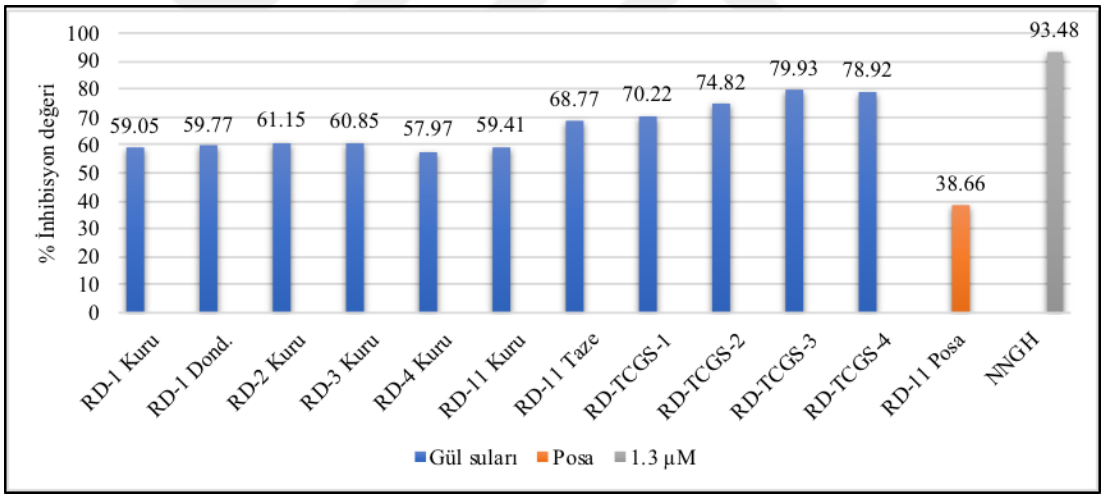
Şekil 4.73. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların MMP-13 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

İkisi Isparta, üçü İran kaynaklı *R. damascena* (RD) petallerinden hidrodistilasyon sonucu elde edilen gül suları ile RD-11 kodlu Isparta gülünün posa suyu ve 4 farklı ticari gül suyu MMP-13 enzim inhibisyonu açısından test edilmiştir. Sonuçlar pozitif standart olarak kullanılan NNGH ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Tablo 4.39., Şekil 4.74.).

Tablo 4.39. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-13 inhibisyon yüzdeleri.

	Gül suları	1.3 µM
RD-1 Kuru*	59.05	
RD-1 Dond.**	59.77	
RD-2 Kuru	61.15	
RD-3 Kuru	60.85	
RD-4 Kuru	57.97	
RD-11 Kuru	59.41	
RD-11 Taze***	68.77	
TCGS-1	70.22	
TCGS-2	74.82	
TCGS-3	**79.93**	
TCGS-4	78.92	
RD-11 Posa****	38.66	
NNGH		**93.48**

*Kuru: Kurutulmuş RD petalinden elde edilen UY.
**Taze: 6 ay süreyle derin dondurucuda saklanmış taze RD petallerinden elde edilen UY.
***Taze: Taze petallerden elde edilen UY.
****Posa: Hidrodistilasyon sırasında numunenin kaynatıldığı sulu ekstre



Şekil 4.74. *Rosa damascena* gül suları ve posasının MMP-13 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

4.5. Antioksidan Kapasite Çalışmalarına Ait Bulgular

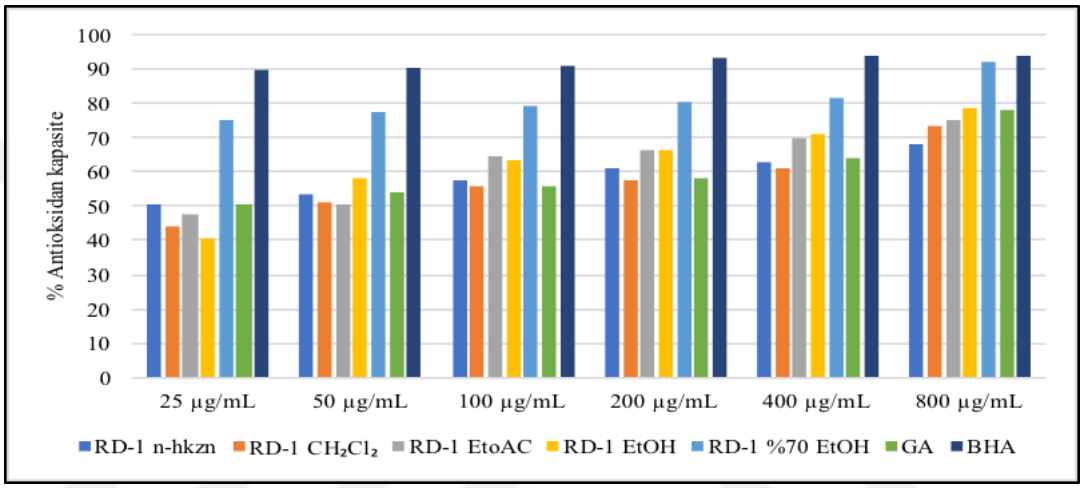
4.5.1. *β*-karoten linoleik asit yöntemi

RD-1 petallerinden hazırlanan 5 farklı ekstrenin (*n*-hekzan, diklorometan, etilasetat, etanol, % 70 etanol) 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) toplam antioksidan kapasiteleri *β*-karoten linoleik asit yöntemi ile belirlenmiştir (Tablo. 4.40., Şekil 4.75.).

Tablo 4.40. RD-1 petal ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri (%).

Numune	Konsantrasyon (µg/mL)					
	25	**50**	**100**	**200**	**400**	**800**
RD-1 *n*-hkzn	50.72	53.57	57.67	60.92	62.62	67.87
RD-1 CH_2Cl_2	44.18	50.87	55.77	57.82	61.17	73.22
RD-1 EtOAc	47.53	50.77	64.72	66.12	70.11	74.96
RD-1 EtOH	40.73	57.87	63.22	66.17	71.14	78.46
RD-1 % 70 EtOH	74.91	77.21	79.37	80.33	81.51	91.91
GA	50.77	54.12	56.03	58.33	63.86	78.11
BHA	89.77	90.12	91.22	93.24	93.98	94.16

[1] % Antioksidan Kapasite = 100 x [1-(As^0 - As^{120}) / (Ak^0 - Ak^{120})].
Sonuçlar ortalama değer olarak verilmiştir (n=3).

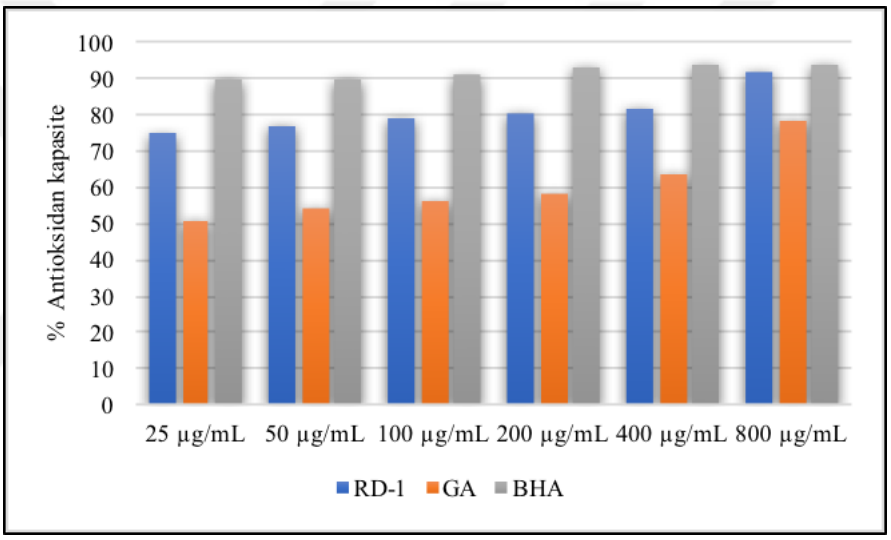


Şekil 4.75. RD-1 petal ekstrelerinin toplam antioksidan kapasitesi (%).

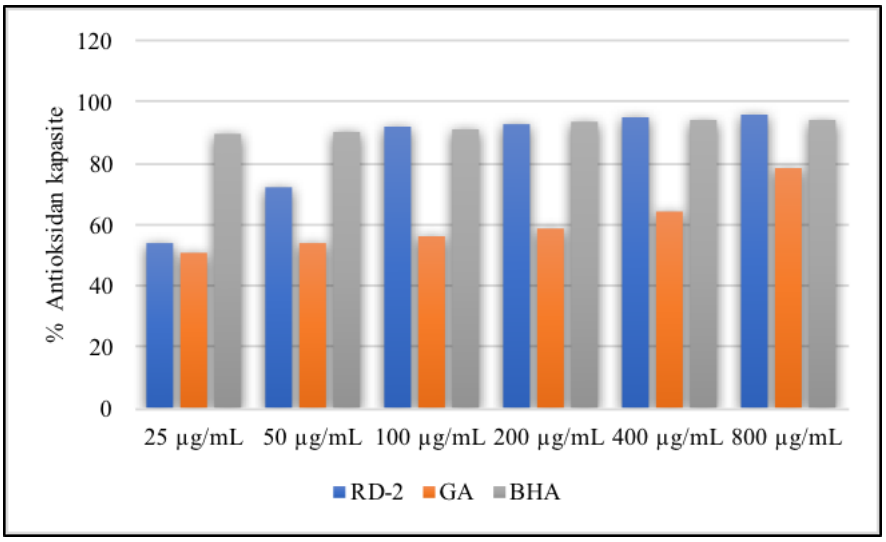
RD-1 - RD-10 petallerinden hazırlanan % 70 EtOH ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) toplam antioksidan kapasiteleri *β*-karoten-linoleik asit yöntemi ile belirlenmiştir (Tablo. 4.41., Şekil 4.76. - Şekil 4.85.).

Tablo 4.41. RD-1 - RD-10 % 70 EtOH petal ekstrelerinin toplam antioksidan kapasitesi (%).

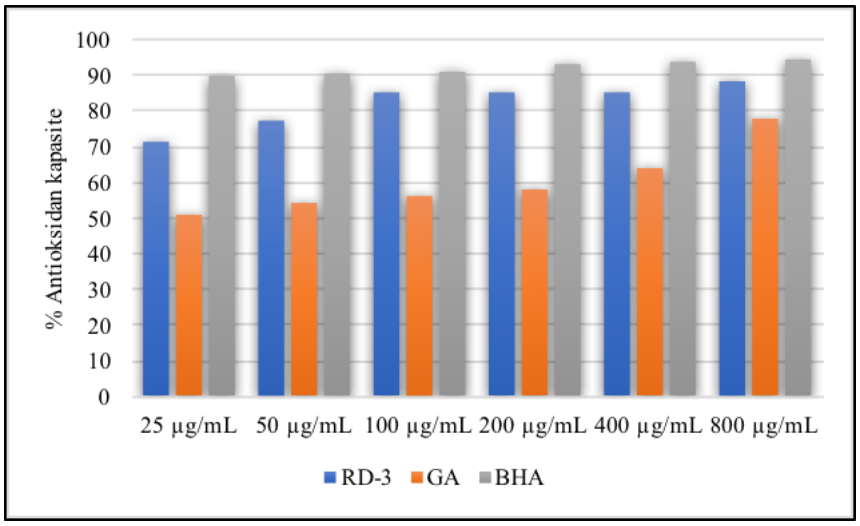
Numuneler	Konsantrasyon (µg/mL)					
	25	50	100	200	400	800
RD-1	74.91	77.21	79.37	80.33	81.51	91.91
RD-2	54.27	71.87	92.00	92.99	95.10	95.88
RD-3	71.16	77.14	84.91	85.01	85.41	88.14
RD-4	54.17	67.77	74.46	75.68	87.12	90.18
RD-5	54.17	71.31	74.76	87.12	91.95	93.11
RD-6	47.63	54.42	71.41	74.19	78.41	88.15
RD-7	54.37	56.89	60.13	65.79	75.01	92.20
RD-8	43.93	50.97	57.82	68.12	85.41	95.60
RD-9	47.58	49.87	54.42	61.27	71.56	92.30
RD-10	54.32	56.56	57.87	75.11	78.46	92.30
GA	50.77	54.12	56.03	58.33	63.86	78.11
BHA	89.77	90.12	91.22	93.24	93.98	94.16



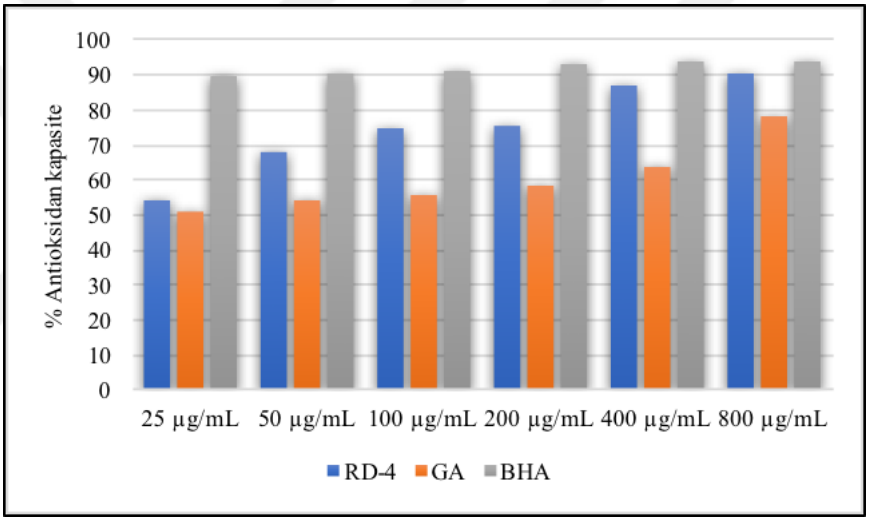
Şekil 4.76. RD-1 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi.



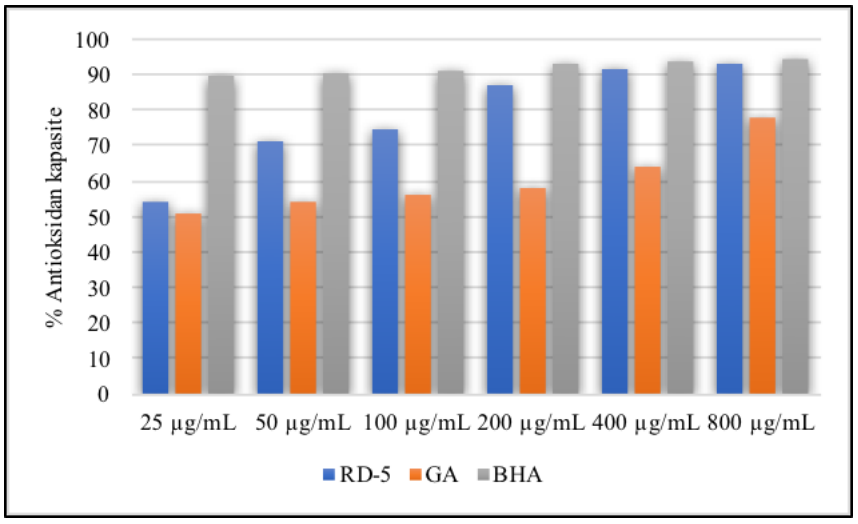
Şekil 4.77. RD-2 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi.



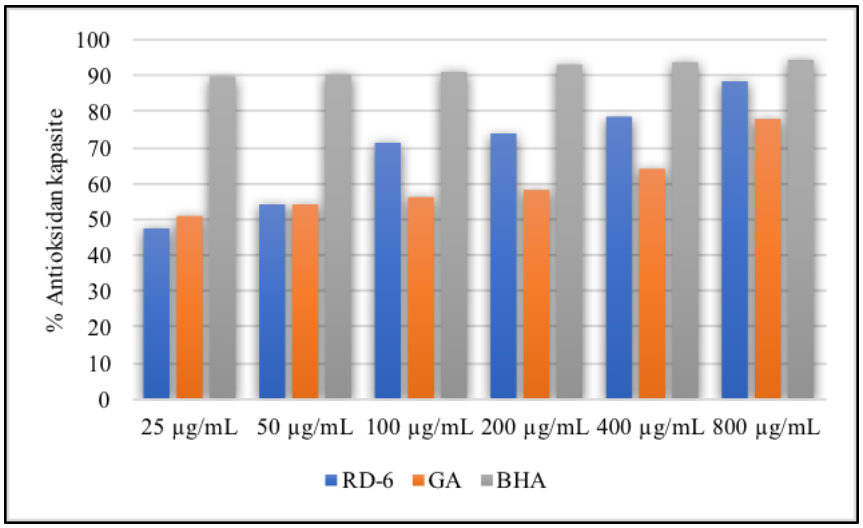
Şekil 4.78. RD-3 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi.



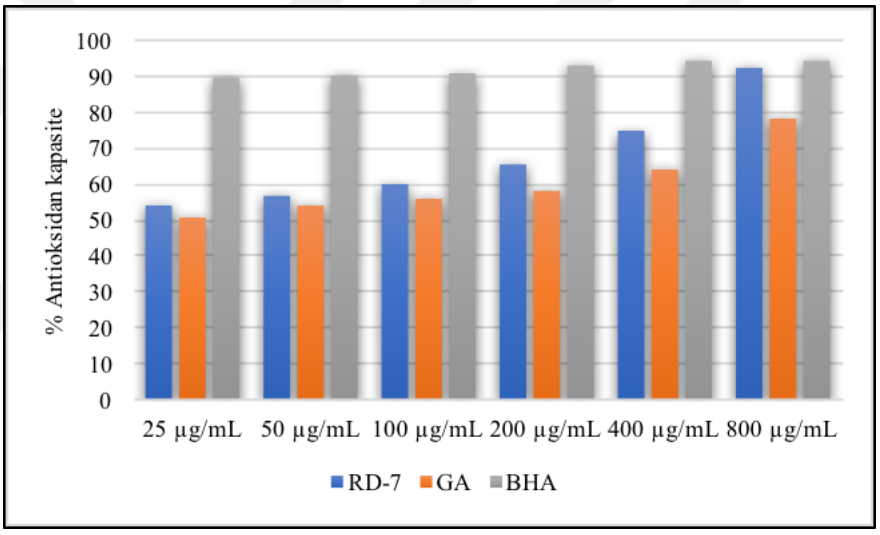
Şekil 4.79. RD-4 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi.



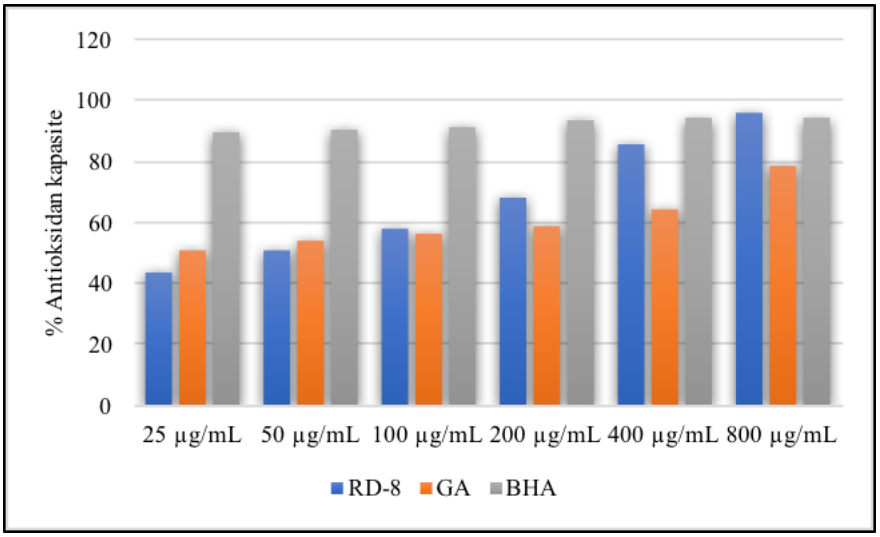
Şekil 4.80. RD-5 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi.



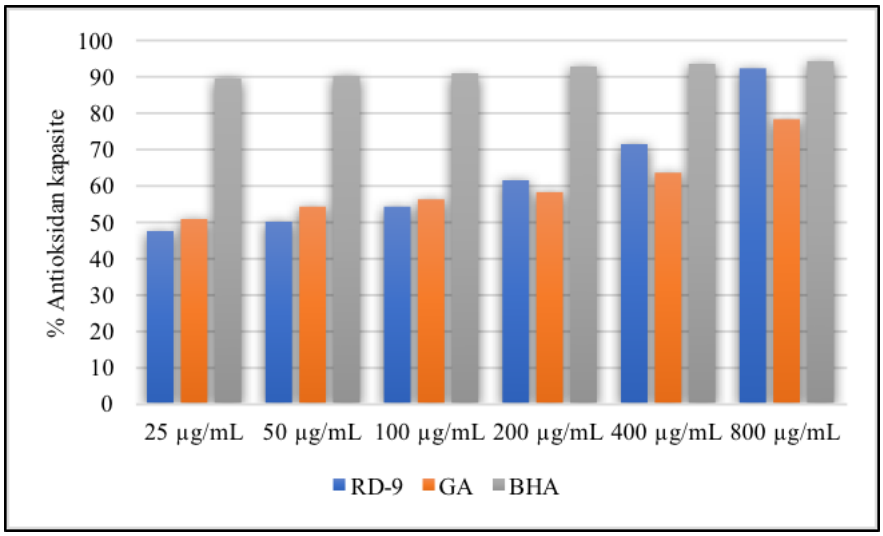
Şekil 4.81. RD-6 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi.



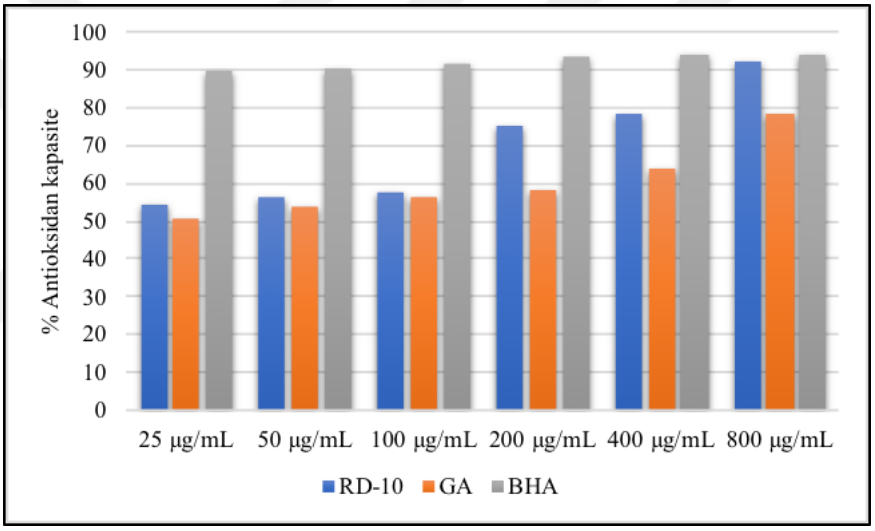
Şekil 4.82. RD-7 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi.



Şekil 4.83. RD-8 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi.



Şekil 4.84. RD-9 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi.

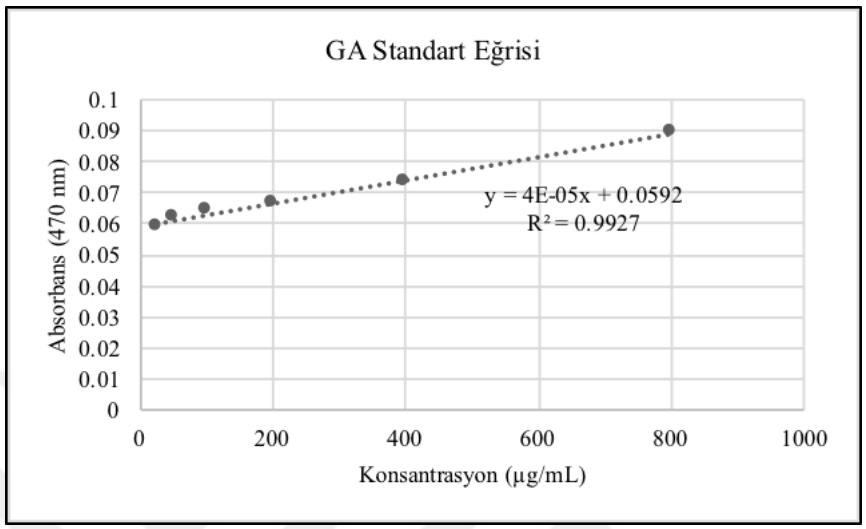


Şekil 4.85. RD-10 % 70 EtOH petal ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi.

RD-1 farklı petal ekstrelerini ve tüm RD petallerinin % 70 EtOH ekstrelerini kendi aralarında karşılaştırmak için gallik asit ekivalan (GAE) değerleri hesaplanmıştır. Bunun için gallik asitin 6 farklı konsantrasyonda toplam antioksidan kapasitesi değerlendirilmiş ve konsantrasyona karşı absorbans değerleri kullanılarak standart eğri oluşturulmuştur (Tablo 4.42., Şekil 4.86.). Standart eğriden elde edilen formül kullanılarak tüm ekstrelerin mg gallik asite karşılık gelen g ekstre (GAE) miktarları belirlenmiştir (Tablo 4.43., Tablo 4.44., Şekil 4.87., Şekil 4.88).

Tablo 4.42. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (470 nm).

Numune	Konsantrasyon (µg/mL)					
	25	**50**	**100**	**200**	**400**	**800**
GA	0.059	0.062	0.064	0.067	0.073	0.089

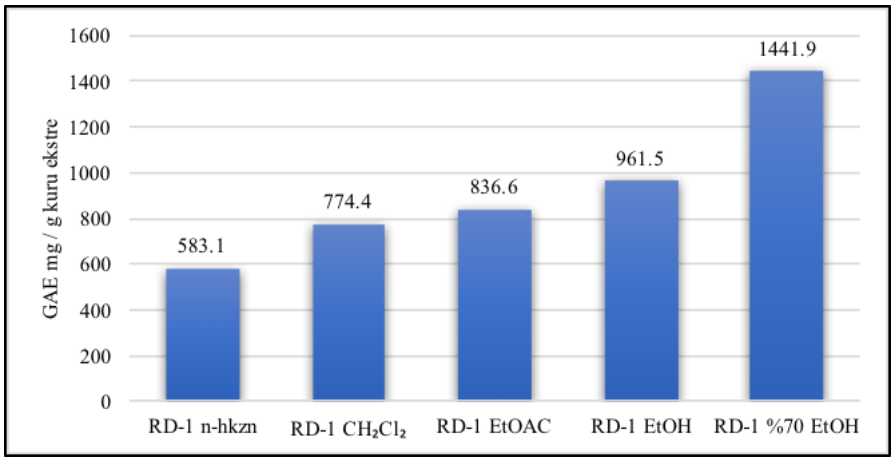


Şekil 4.86. Gallik asit standart eğrisi.

Tablo 4.43. RD-1 petal ekstreleri toplam antioksidan kapasiteleri.

Numune	GAE*
RD-1 *n*-hkzn	583.14
RD-1 CH_2Cl_2	774.38
RD-1 EtOAc	836.59
RD-1 EtOH	961.53
RD-1 % 70 EtOH	1441.88

*: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.

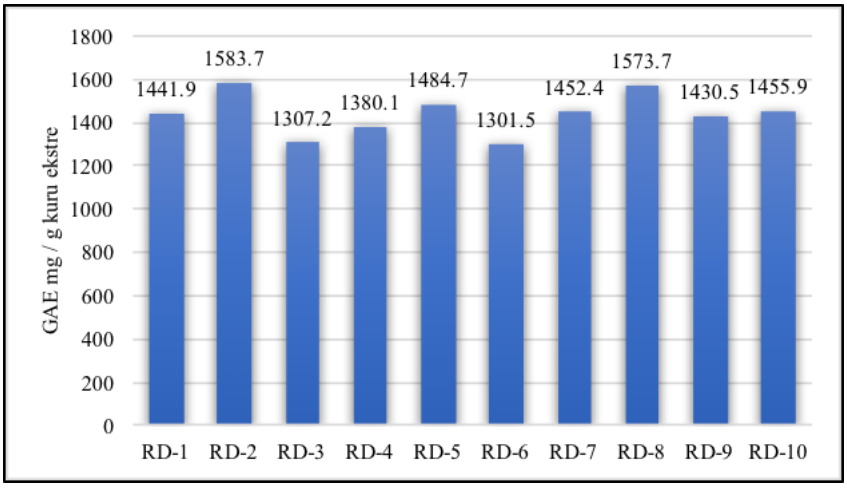


Şekil 4.87. RD-1 petal ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri.

Tablo 4.44. RD-1 - RD-10 petal ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri.

Numune	GAE*
RD-1	1441.9
RD-2	1583.7
RD-3	1307.2
RD-4	1380.1
RD-5	1484.7
RD-6	1301.5
RD-7	1452.4
RD-8	1573.7
RD-9	1430.5
RD-10	1455.9

*: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.



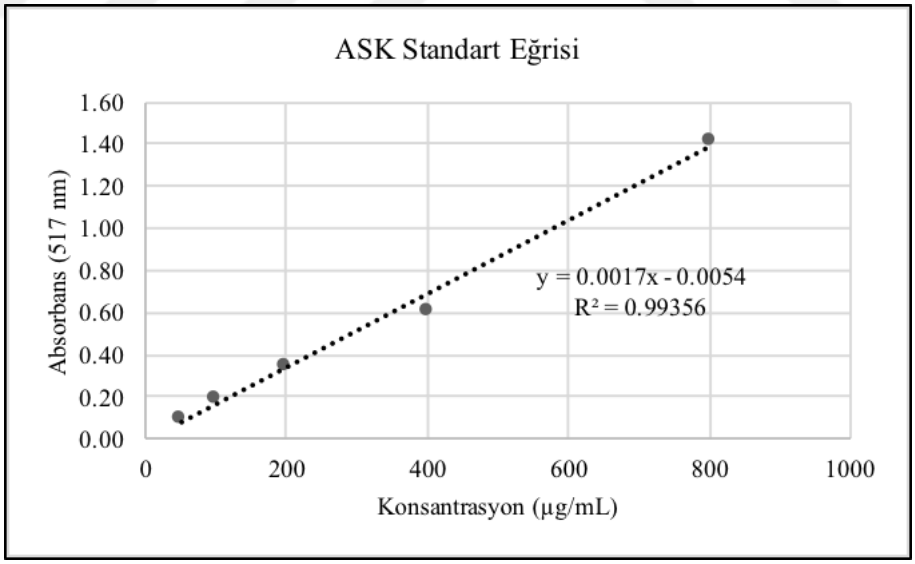
Şekil 4.88. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri.

4.5.2. Demir Redükleyici Antioksidan Kapasite (FRAP)

RD-1 farklı ekstrelerinin (*n*-hekzan, diklorometan, etilasetat, etanol, % 70 etanol) ve RD-1 – RD-10 % 70 etanol ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) demir redükleyici antioksidan kapasiteleri FRAP yöntemi ile test edilmiştir. Sonuçlar askorbik asit ekivalan (ASKE) ve gallik asit ekivalan (GAE) olarak verilmiştir. Bunun için askorbik asit (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) ve gallik asit (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL ve 400 µg/mL) konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri ölçülmüş ve standart eğrileri çizilmiştir (Tablo 4.45., Tablo 4.46., Şekil 4.89., Şekil 4.90.). Bu eğrilerden elde edilen formüller kullanılarak ASKE ve GAE değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.47., Tablo 4.48., Şekil 4.91., Şekil 4.92.).

Tablo 4.45. Askorbik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (700 nm).

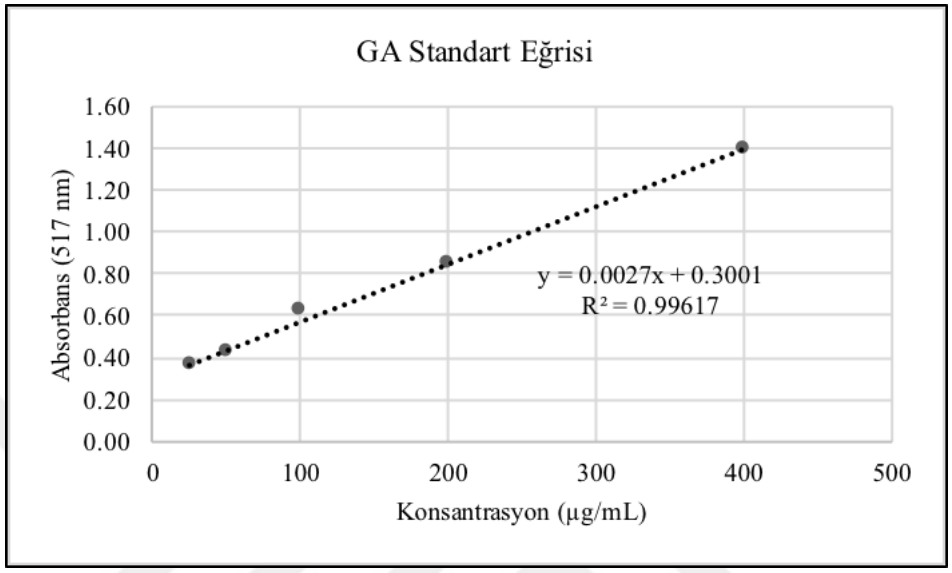
Numune	**Konsantrasyon (µg/mL)**					
	25	**50**	**100**	**200**	**400**	**800**
ASK	0.04	0.09	0.19	0.35	0.61	1.41



Şekil 4.89. Askorbik asit standart eğrisi.

Tablo 4.46. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (700 nm).

Numune	Konsantrasyon (µg/mL)				
	25	**50**	**100**	**200**	**400**
GA	0.36	0.42	0.62	0.84	1.39

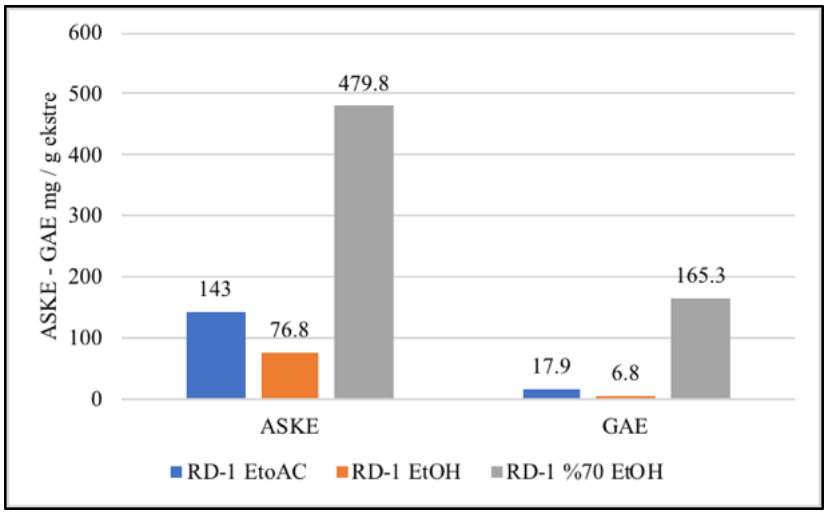


Şekil 4.90. GA standart eğrisi.

Tablo 4.47. RD-1 petal ekstrelerinin demir redükleme kapasiteleri.

Numune	ASKE*	GAE**
RD-1 *n*-hkzn	-	-
RD-1 CH_2Cl_2	-	-
RD-1 EtOAc	143.0	17.9
RD-1 EtOH	76.8	6.8
RD-1 % 70 EtOH	479.8	165.3

*: mg askorbik asit / g ekstre olarak verilmiştir.
**: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.

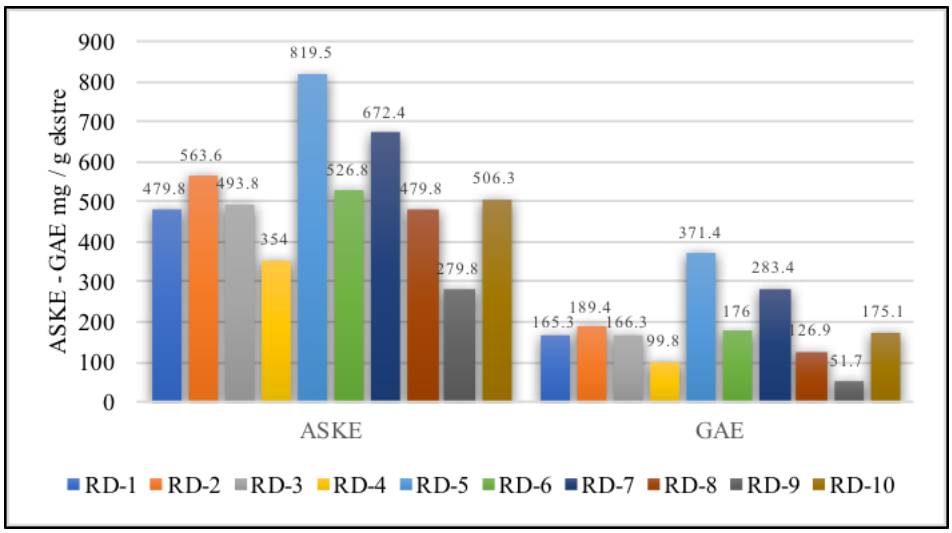


Şekil 4.91. RD-1 petal ekstreleri demir redükleme kapasiteleri.

Tablo 4.48. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin demir redükleme kapasiteleri.

Numune	ASKE*	GAE**
RD-1	479.8	165.3
RD-2	563.6	189.4
RD-3	493.8	166.3
RD-4	354.0	99.8
RD-5	819.5	371.4
RD-6	526.8	176
RD-7	672.4	283.4
RD-8	479.8	126.9
RD-9	279.8	51.7
RD-10	506.3	175.1

*: mg askorbik asit / g ekstre olarak verilmiştir.
**: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.



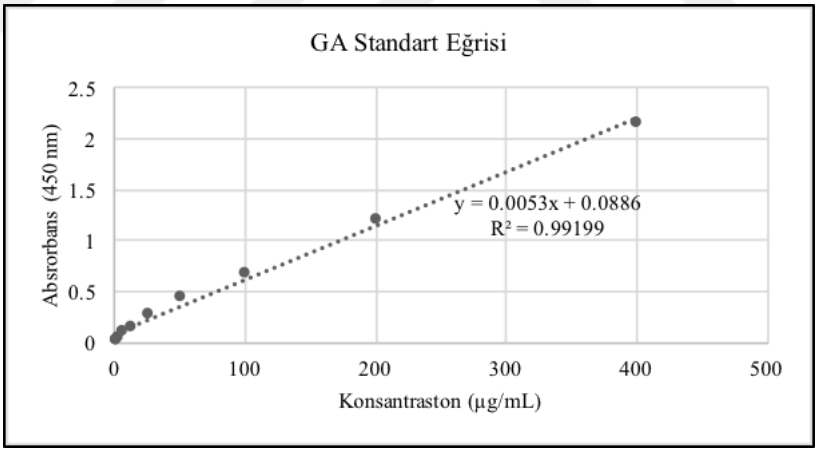
Şekil 4.92. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin demir redükleme kapasiteleri.

4.5.3. Bakır Redükleyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC)

RD-1 farklı ekstrelerinin (*n*-hekzan, diklorometan, etilasetat, etanol, % 70 etanol) ve RD-1 – RD-10 % 70 etanol ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) bakır redükleyici antioksidan kapasiteleri CUPRAC yöntemi ile test edilmiştir. Sonuçlar gallik asit ekivalan (GAE) olarak verilmiştir. Bunun için gallik asitin farklı konsantrasyonlarına (0.78 µg/mL, 1.56 µg/mL, 3.13 µg/mL, 6.25 µg/mL, 12.5 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL ve 400 µg/mL) karşılık gelen absorbans değerleri ölçülmüş ve standart eğrisi çizilmiştir (Tablo 4.49., Şekil 4.93.). Bu eğriden elde edilen formül kullanılarak GAE değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.50, Tablo 4.51., Şekil 4.94., Şekil 4.95.).

Tablo 4.49. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (450 nm).

Numune	**Konsantrasyon (µg/mL)**									
	0.78	**1.56**	**3.13**	**6.25**	**12.5**	**25**	**50**	**100**	**200**	**400**
GA	0.02	0.03	0.05	0.11	0.16	0.28	0.44	0.68	1.20	2.15

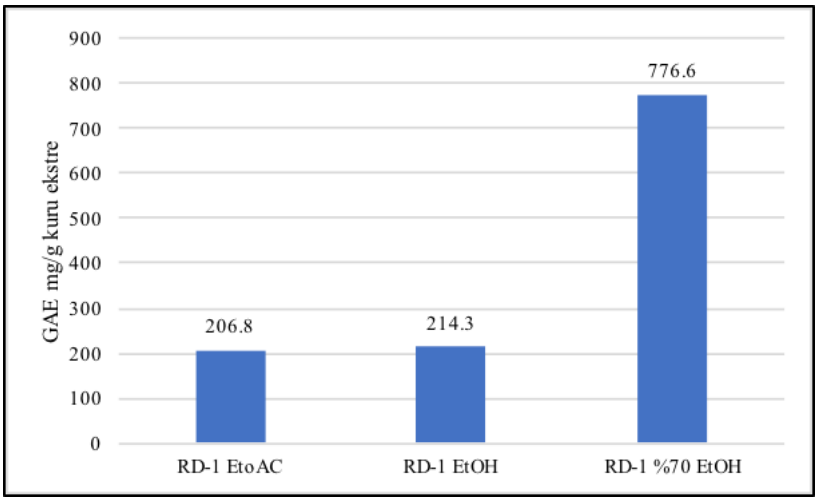


Şekil 4.93. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri.

Tablo 4.50. RD-1 petal ekstrelerinin bakır redükleme kapasiteleri.

Numune	**GAE***
RD-1 *n*-hkzn	-
RD-1 CH_2Cl_2	-
RD-1 EtOAc	206.79
RD-1 EtOH	214.34
RD-1 % 70 EtOH	776.60

*: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.

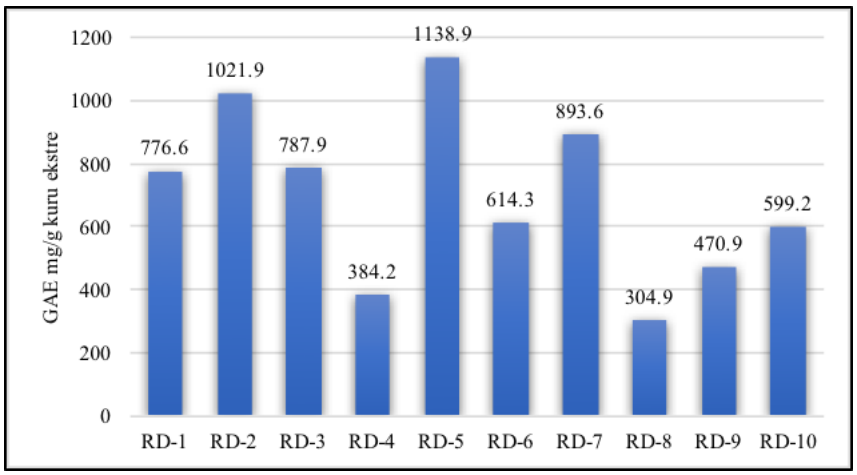


Şekil 4.94. RD-1 petal ekstrelerinin bakır redükleme kapasiteleri.

Tablo 4.51. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin bakır redükleme kapasiteleri.

Numune	GAE*
RD-1	776.6
RD-2	1021.9
RD-3	787.9
RD-4	384.2
RD-5	1138.9
RD-6	614.3
RD-7	893.6
RD-8	304.9
RD-9	470.9
RD-10	599.2

*: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.



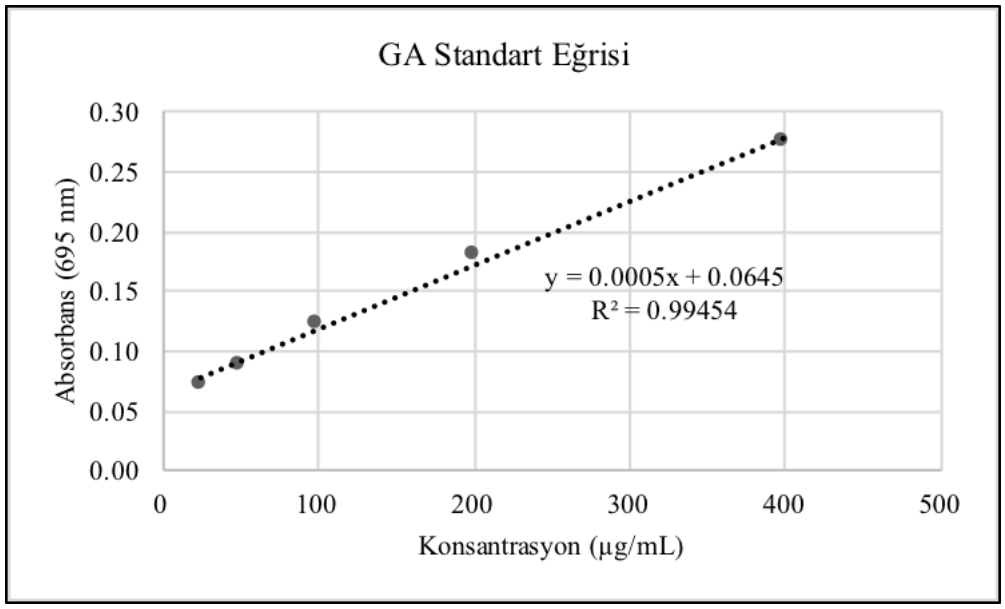
Şekil 4.95. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin bakır redükleme kapasiteleri.

4.5.4. Fosfomolibdat Antioksidan Kapasite Tayini

RD-1 farklı ekstrelerinin (*n*-hekzan, diklorometan, etilasetat, etanol, % 70 etanol) ve RD-1 - RD-10 % 70 etanol ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) toplam antioksidan kapasiteleri fosfomolibdat antioksidan kapasite tayini yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuçlar gallik asit ekivalan (GAE) ve askorbik asit ekivalan (ASKE) olarak verilmiştir. Bunun için gallik asit (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL ve 400 µg/mL) ve askorbik asit (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri ölçülmüş ve standart eğrileri çizilmiştir (Tablo 4.52., Tablo 4.53., Şekil 4.96., Şekil 4.97.). Bu eğrilerden elde edilen formüller kullanılarak GAE ve ASKE değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.54., Tablo 4.55. Şekil 4.98., Şekil 4.99.).

Tablo 4.52. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (695 nm).

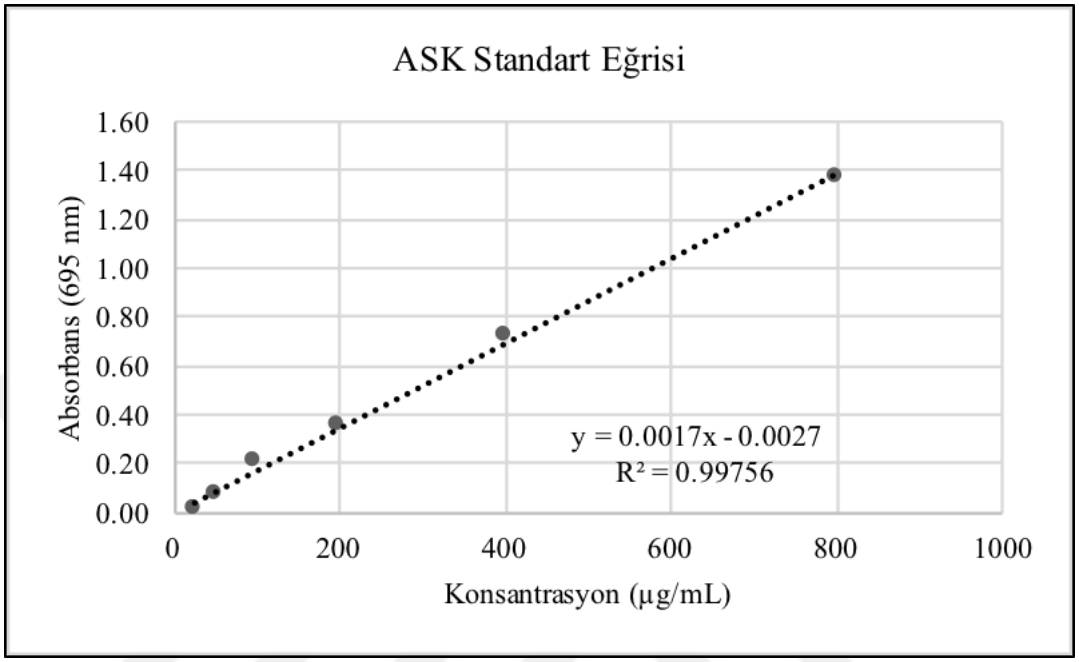
Numune	**Konsantrasyon (µg/mL)**				
	25	**50**	**100**	**200**	**400**
GA	0.07	0.09	0.12	0.18	0.28



Şekil 4.96. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri.

Tablo 4.53. Askorbik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (695 nm).

Numune	Konsantrasyon (µg/mL)					
	25	**50**	**100**	**200**	**400**	**800**
ASK	0.01	0.07	0.20	0.36	0.72	1.37

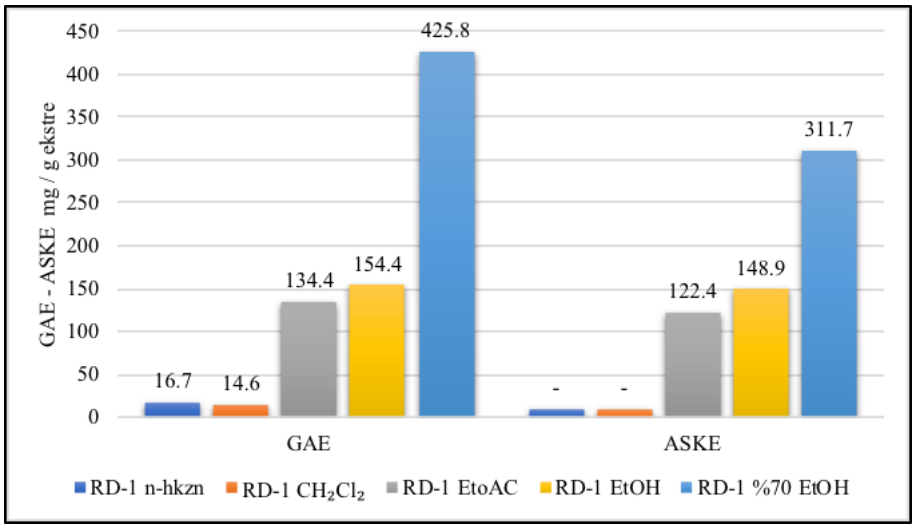


Şekil 4.97. Askorbik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (695 nm).

Tablo 4.54. RD-1 petal ekstreleri toplam antioksidan kapasiteleri.

Numune	GAE*	ASKE**
RD-1 *n*-hkzn	16.7	-
RD-1 CH_2Cl_2	14.6	-
RD-1 EtOAc	134.4	122.4
RD-1 EtOH	154.4	148.9
RD-1 % 70 EtOH	425.8	311.7

*: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.
**: mg askorbik asit / g ekstre olarak verilmiştir.

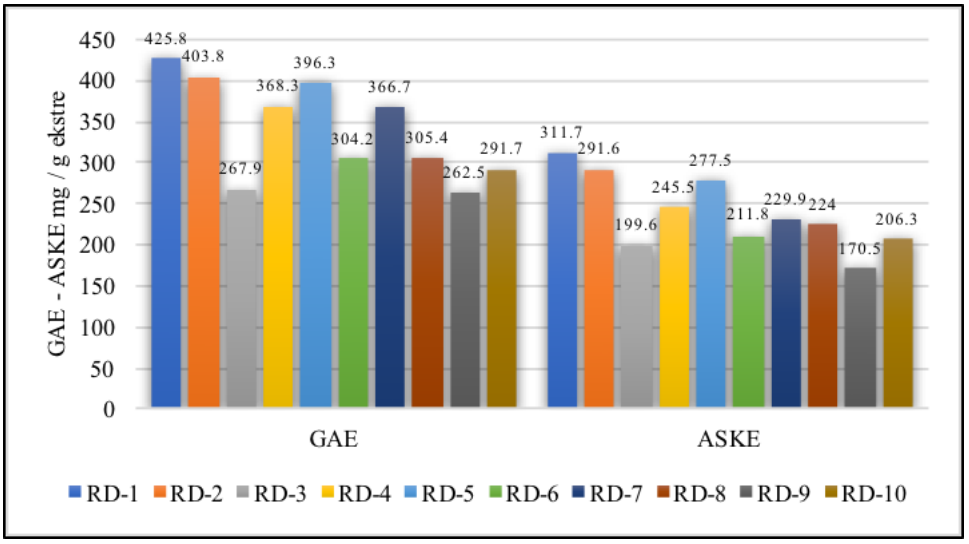


Şekil 4.98. RD-1 petal ekstreleri toplam antioksidan kapasiteleri.

Tablo 4.55. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri.

Numune	GAE*	ASKE**
RD-1	425.8	311.7
RD-2	403.8	291.6
RD-3	267.9	199.6
RD-4	368.3	245.5
RD-5	396.3	277.5
RD-6	304.2	211.8
RD-7	366.7	229.9
RD-8	305.4	224.0
RD-9	262.5	170.5
RD-10	291.7	206.3

*: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.
**: mg askorbik asit / g ekstre olarak verilmiştir.



Şekil 4.99. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin toplam antioksidan kapasiteleri.

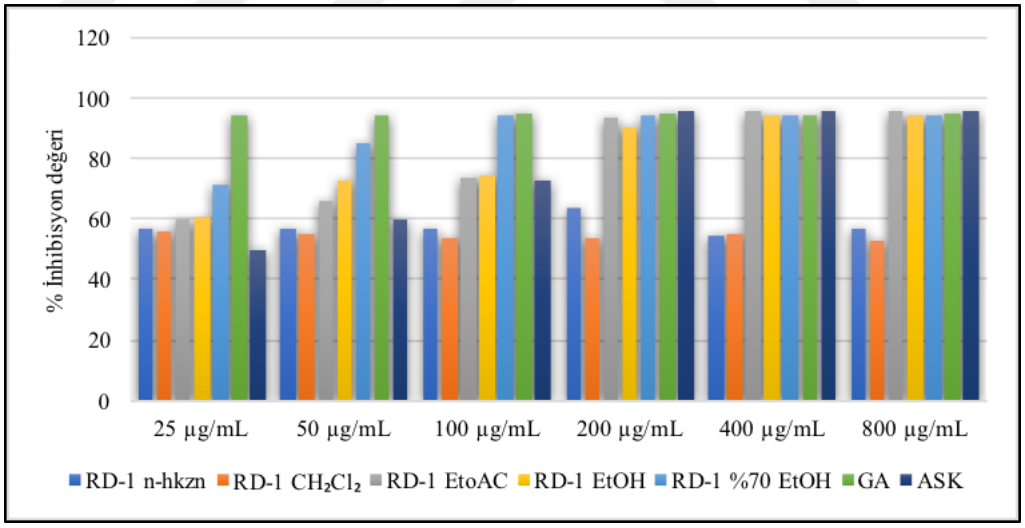
4.6. Radikal Süpürücü Kapasite Çalışmalarına Ait Bulgular

4.6.1. DPPH Radikalini Süpürücü Kapasite

RD-1 petallerinden hazırlanan 5 farklı ekstrenin (*n*-hekzan, diklorometan, etilasetat, etanol, % 70 etanol) 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) DPPH radikalini süpürücü kapasiteleri belirlenmiştir (Tablo. 4.56, Şekil 4.100.).

Tablo 4.56. RD-1 petal ekstrelerinin DPPH radikalini süpürme kapasiteleri.

Numune	% İnhibisyon					
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
RD-1 *n*-hkzn	56.65	56.86	57.19	63.55	54.79	57.07
RD-1 CH_2Cl_2	55.79	55.02	53.53	53.83	55.10	53.20
RD-1 EtOAc	59.59	65.89	73.49	93.42	95.57	95.51
RD-1 EtOH	60.28	72.66	74.25	90.18	94.69	94.50
RD-1 % 70 EtOH	71.51	85.01	94.42	94.19	94.65	94.00
GA	94.63	94.59	94.75	94.80	94.71	95.13
ASK	49.67	60.08	72.83	95.86	95.94	96.09

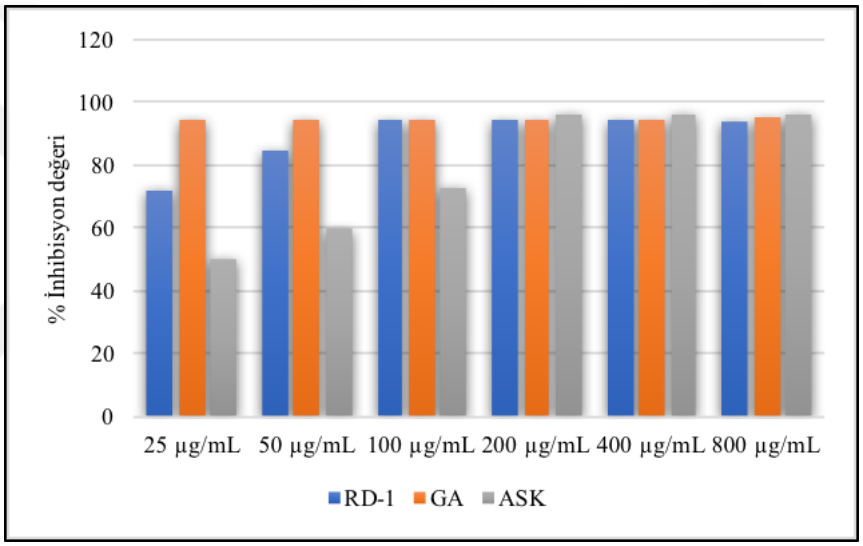


Şekil 4.100. RD-1 petal ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü kapasiteleri.

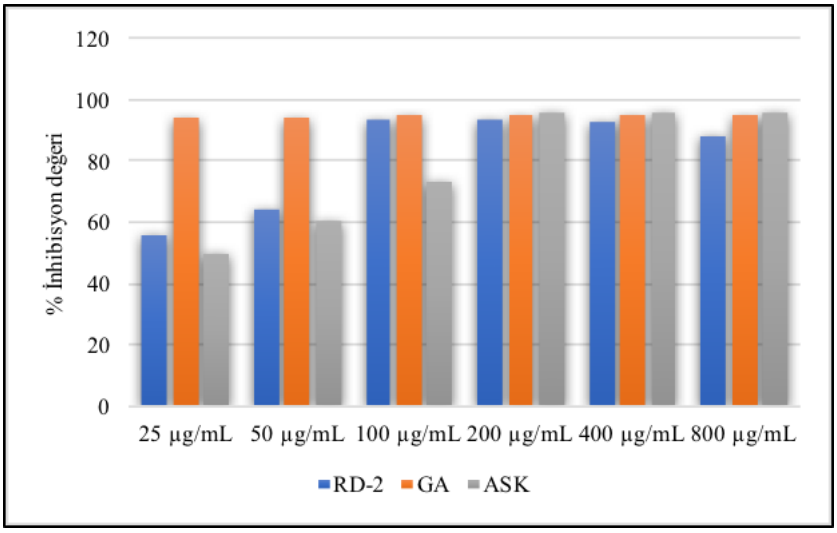
RD-1 - RD-10 petallerinden hazırlanan % 70 EtOH ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) DPPH radikal süpürücü kapasiteleri belirlenmiştir (Tablo. 4.57., Şekil 4.101. - Şekil 4.110).

Tablo 4.57. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü kapasiteleri.

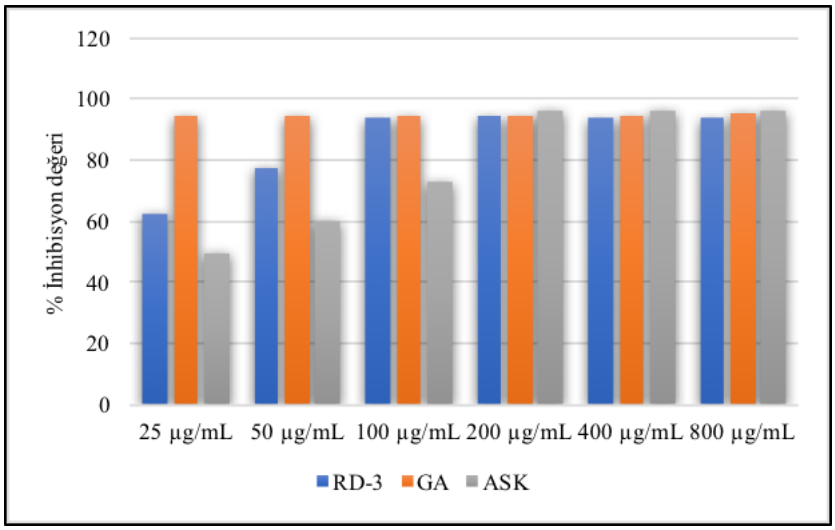
Numune	% İnhibisyon					
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
RD-1	71.51	85.01	94.42	94.19	94.65	94.00
RD-2	56.19	63.96	93.79	93.14	92.43	87.98
RD-3	62.31	77.13	93.94	94.67	94.19	94.17
RD-4	66.60	74.04	92.43	94.63	94.11	93.85
RD-5	76.34	80.60	92.87	93.73	94.17	93.92
RD-6	73.89	84.78	93.37	94.23	93.98	93.83
RD-7	66.47	82.36	93.83	94.52	94.61	93.94
RD-8	62.00	76.34	90.49	93.56	94.40	94.06
RD-9	61.56	74.02	88.52	93.92	94.40	94.27
RD-10	63.04	73.62	82.23	92.47	93.52	93.85
GA	94.63	94.59	94.75	94.80	94.71	95.13
ASK	49.67	60.08	72.83	95.86	95.94	96.09



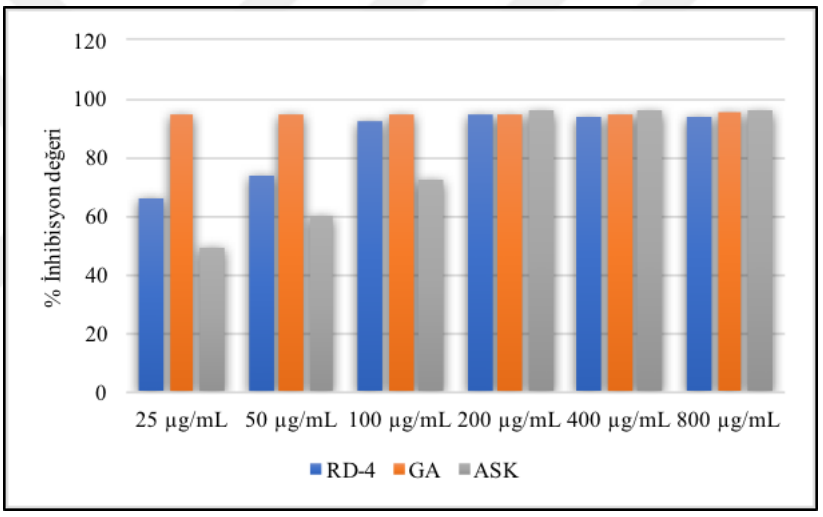
Şekil 4.101. RD-1 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi.



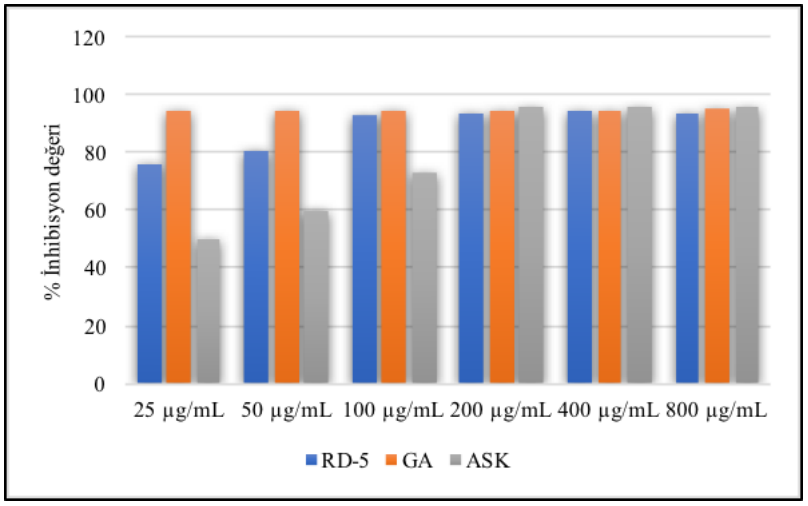
Şekil 4.102. RD-2 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi.



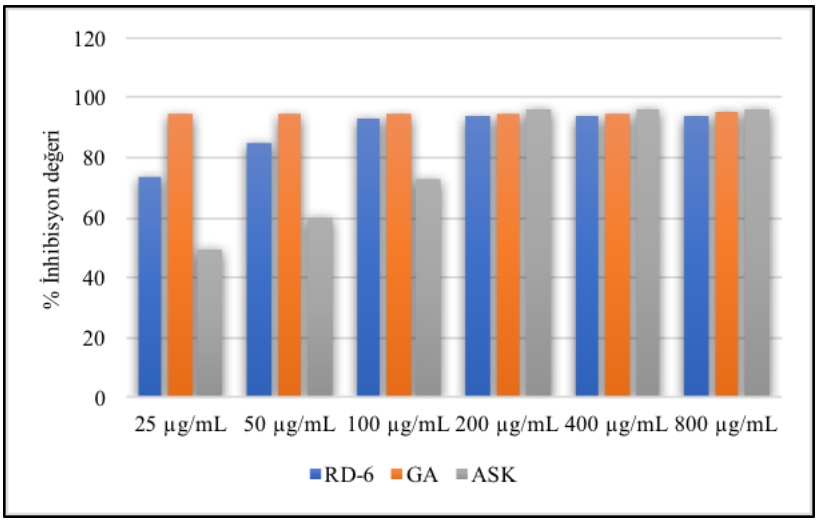
Şekil 4.103. RD-3 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi.



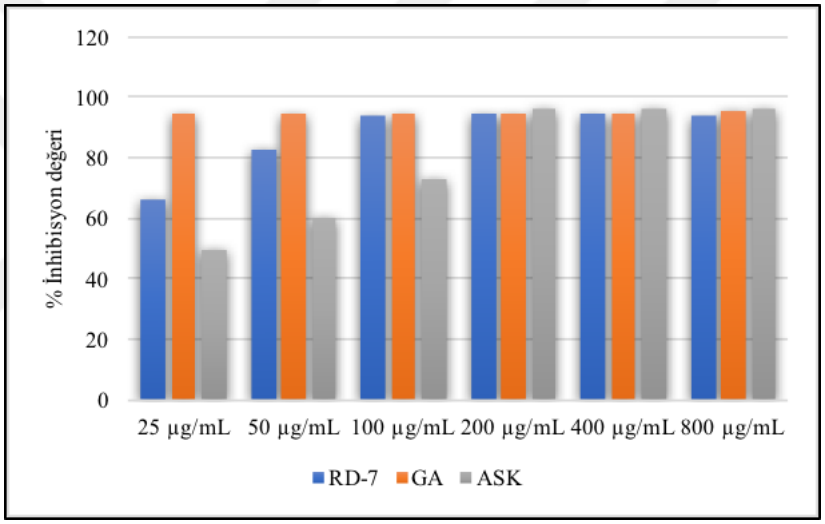
Şekil 4.104. RD-4 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi.



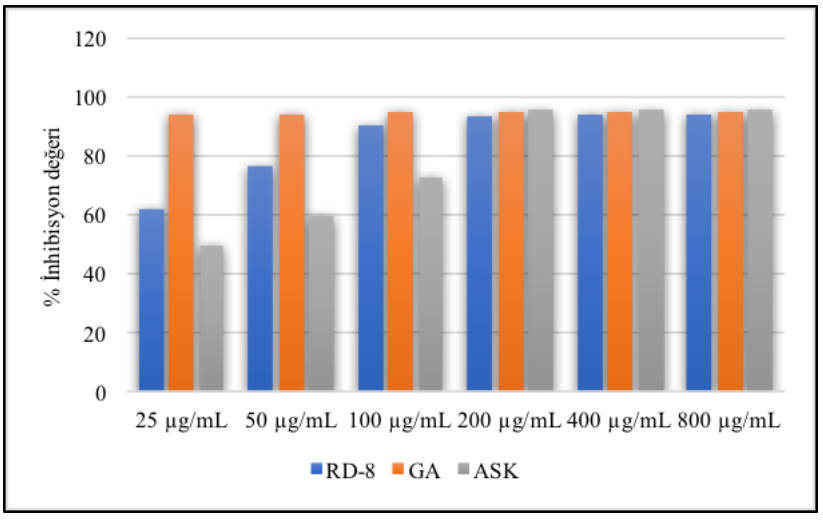
Şekil 4.105. RD-5 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi.



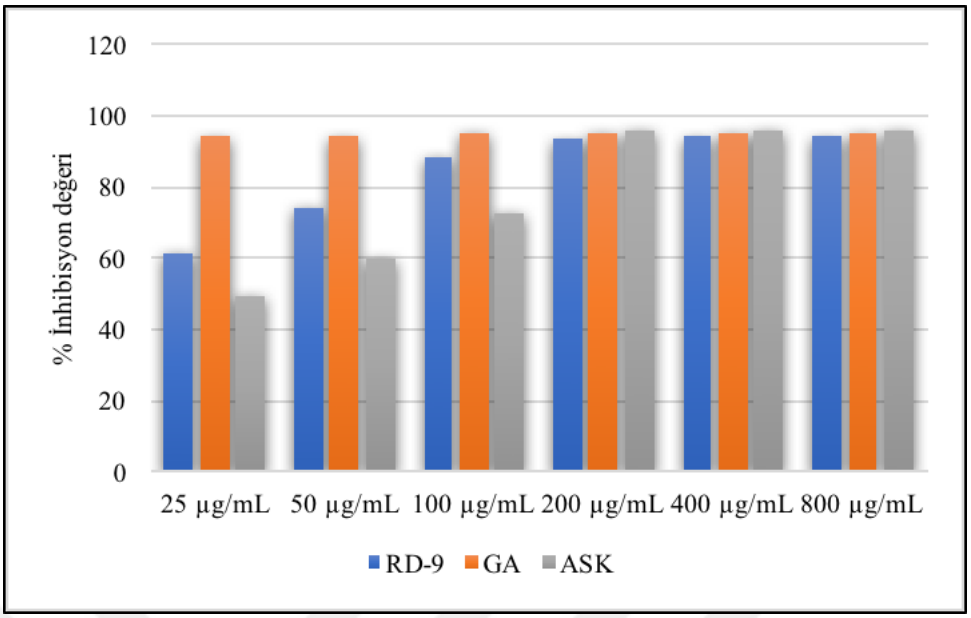
Şekil 4.106. RD-6 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi.



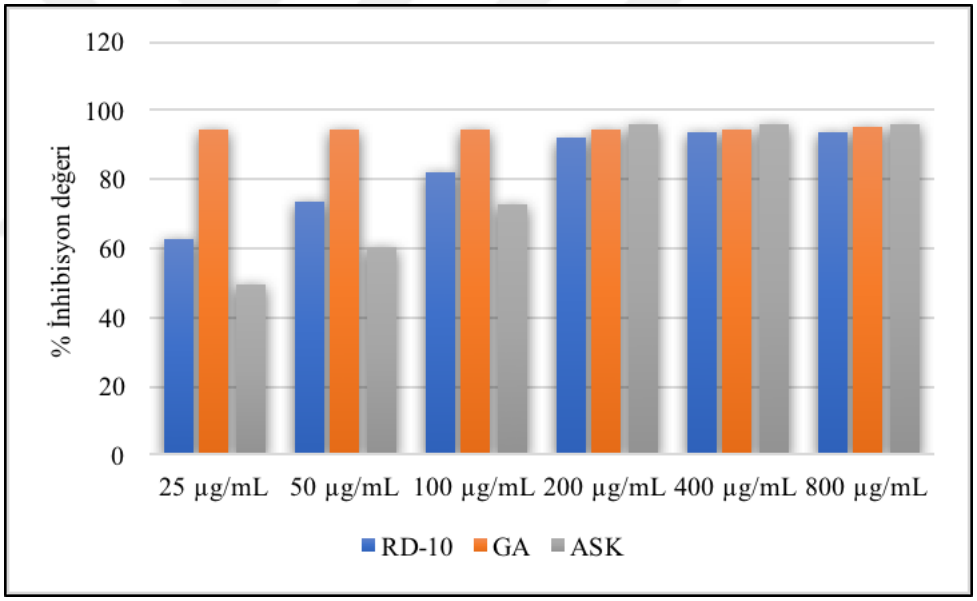
Şekil 4.107. RD-7 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi.



Şekil 4.108. RD-8 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi.



Şekil 4.109. RD-9 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi.



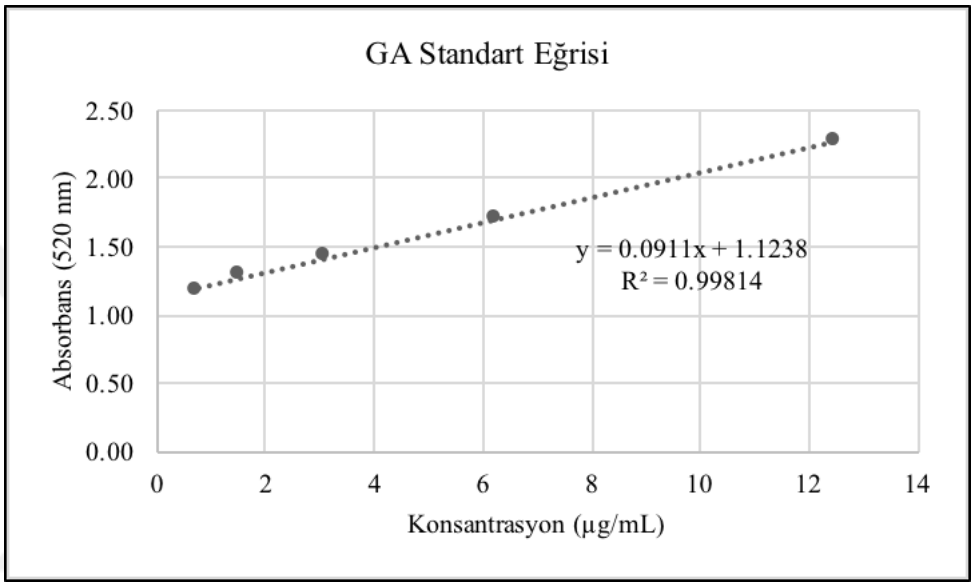
Şekil 4.110. RD-10 % 70 EtOH petal ekstresinin DPPH radikal süpürücü kapasitesi.

RD-1 farklı petal ekstrelerini ve tüm RD petallerinin % 70 EtOH ekstrelerini kendi aralarında karşılaştırmak için gallik asit ekivalan (GAE) değerleri hesaplanmıştır. Bunun için gallik asitin 5 farklı konsantrasyonda (0.78 µg/mL, 1.56 µg/mL, 3.13 µg/mL, 6.25 µg/mL ve 12.5 µg/mL) DPPH radikal süpürücü kapasitesi değerlendirilmiş ve konsantrasyona karşı absorbans değerleri kullanılarak standart eğri oluşturulmuştur (Tablo 4.58., Şekil 4.111.). Standart eğriden elde edilen formül

kullanılarak tüm ekstrelerin mg gallik asite karşılık gelen g ekstre (GAE) miktarları belirlenmiştir (Tablo 4.59., Tablo 4.60., Şekil 4.112., Şekil 4.113.).

Tablo 4.58. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (520 nm).

Numune	**Konsantrasyon (µg/mL)**				
	0.78	**1.56**	**3.13**	**6.25**	**12.5**
GA	1.17	1.29	1.41	1.69	2.26

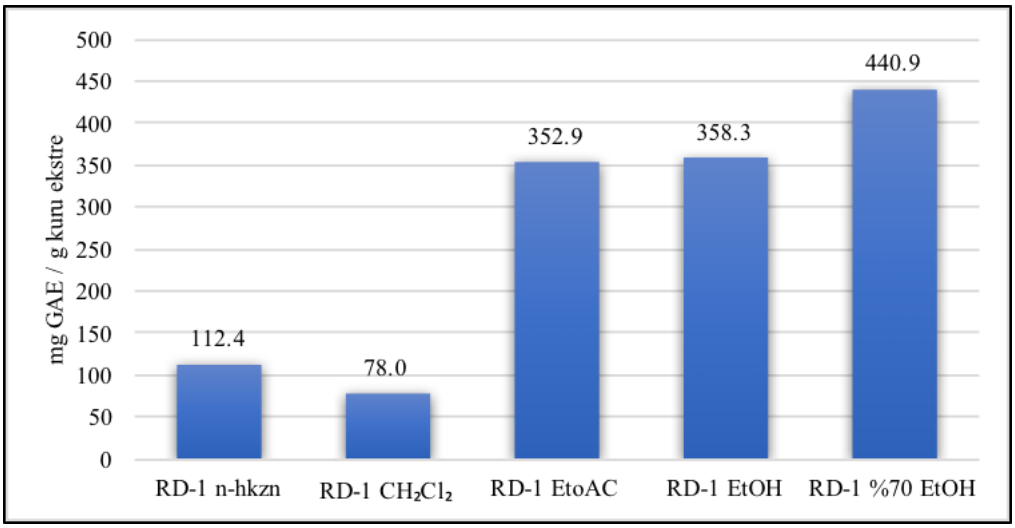


Şekil 4.111. Gallik asit standart eğrisi.

Tablo 4.59. RD-1 petal ekstreleri DPPH radikal süpürücü kapasiteleri.

Numune	**GAE***
RD-1 *n*-hkzn	112.4
RD-1 CH_2Cl_2	78.0
RD-1 EtOAc	352.9
RD-1 EtOH	358.3
RD-1 % 70 EtOH	440.9

*: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.

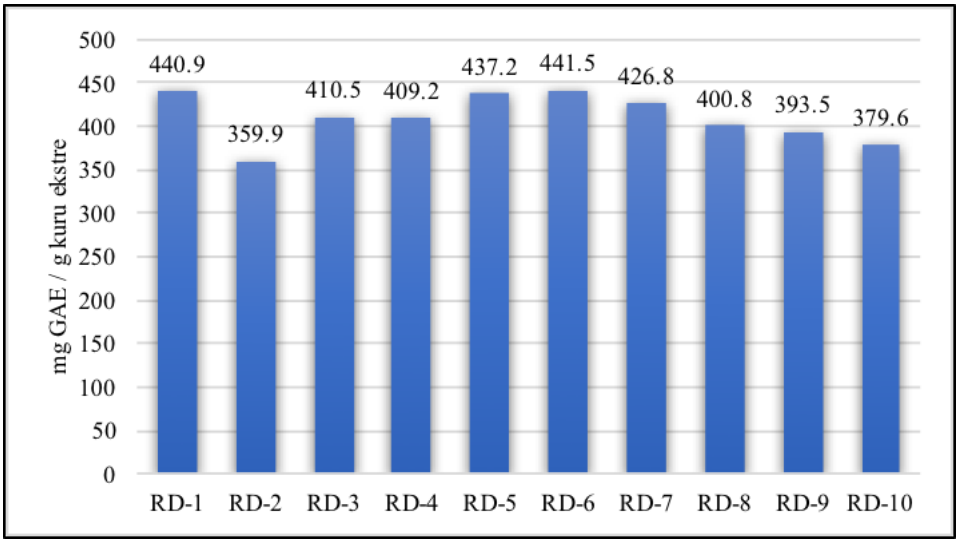


Şekil 4.112. RD-1 petal ekstreleri DPPH radikal süpürücü kapasiteleri.

Tablo 4.60. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü kapasiteleri.

Numune	GAE
RD-1	440.9
RD-2	359.9
RD-3	410.5
RD-4	409.2
RD-5	437.2
RD-6	441.5
RD-7	426.8
RD-8	400.8
RD-9	393.5
RD-10	379.6

*: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.



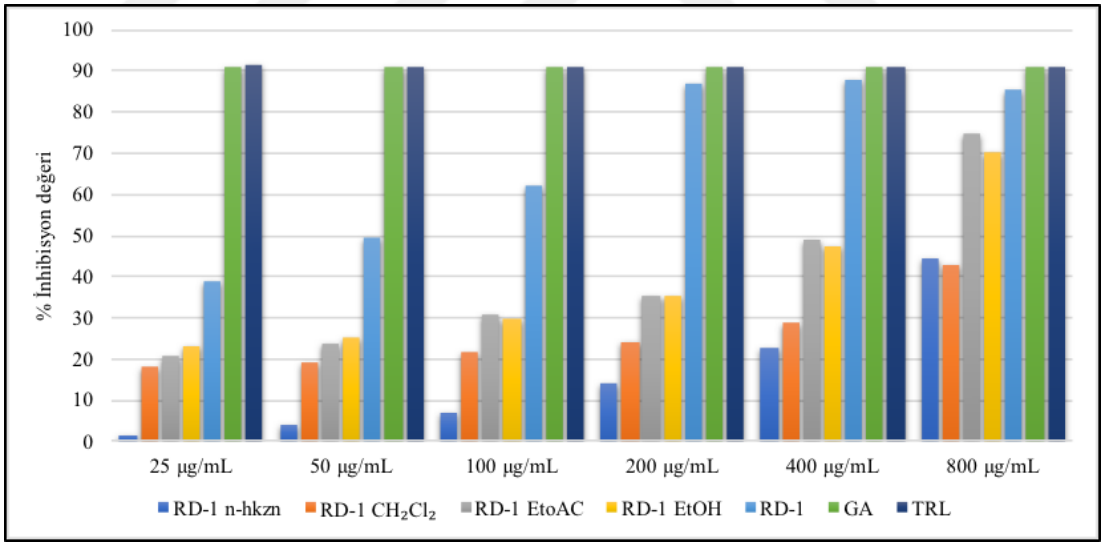
Şekil 4.113. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü kapasiteleri.

4.6.2. ABTS Radikalini Süpürücü Kapasite Tayini

RD-1 petallerinden hazırlanan 5 farklı ekstrenin (*n*-hekzan, diklorometan, etilasetat, etanol, % 70 etanol) 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) ABTS radikalini süpürücü kapasiteleri belirlenmiştir (Tablo. 4.61., Şekil 4.113.).

Tablo 4.61. RD-1 petal ekstrelerinin ABTS radikalini süpürücü kapasiteleri.

Numune	% İnhibisyon					
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
RD-1 *n*-hkzn	1.64	3.79	6.81	13.91	22.52	44.58
RD-1 CH_2Cl_2	18.21	19.29	21.66	24.24	28.97	42.75
RD-1 EtOAc	20.58	23.59	30.70	35.43	48.78	74.60
RD-1 EtOH	23.16	25.32	29.62	35.43	47.70	70.08
RD-1 % 70 EtOH	39.09	49.64	62.12	86.87	87.95	85.15
GA	90.96	91.07	90.96	90.75	90.85	90.85
TRL	91.28	91.07	91.18	91.18	91.18	91.07

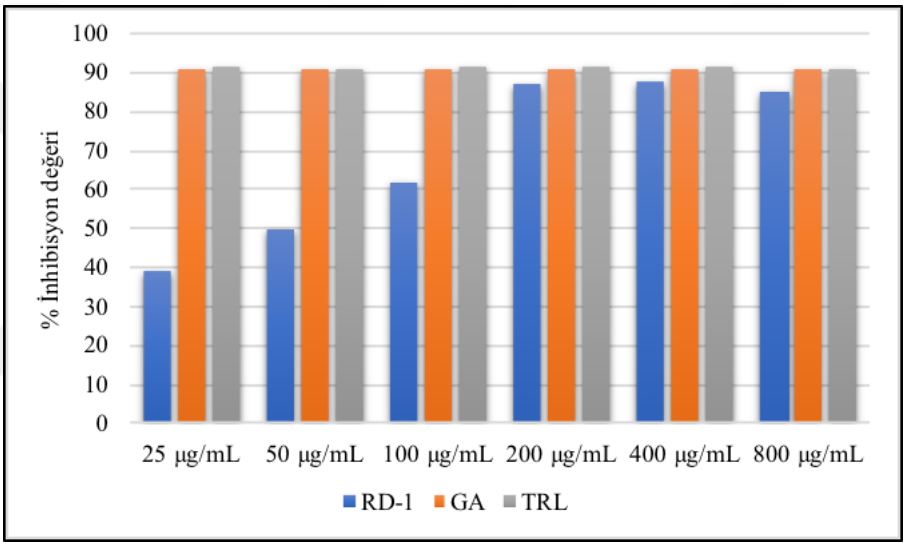


Şekil 4.114. RD-1 petal ekstrelerinin ABTS radikalini süpürücü kapasiteleri.

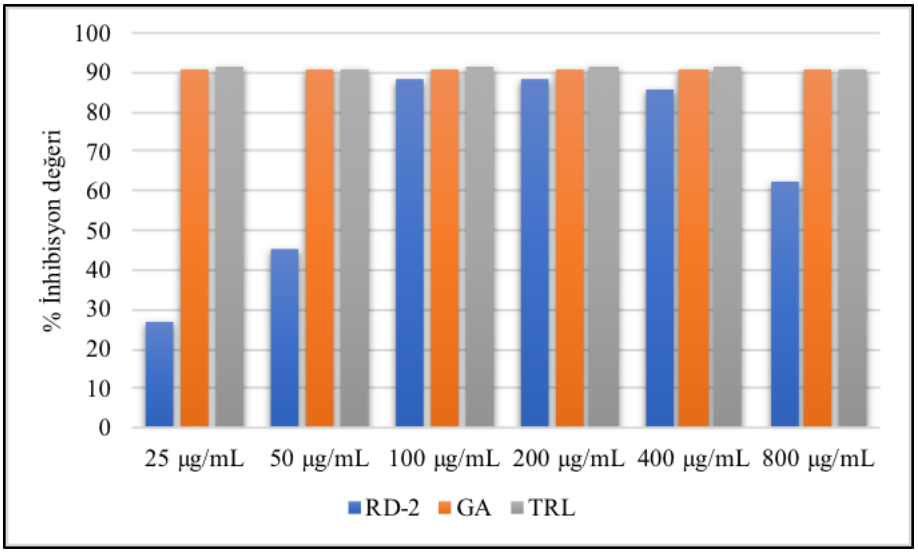
RD-1 - RD-10 petallerinden hazırlanan % 70 EtOH ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) ABTS radikal süpürücü kapasiteleri belirlenmiştir (Tablo. 4.62., Şekil 4.115. - Şekil 4.124.).

Tablo 4.62. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin ABTS radikal süpürücü kapasiteleri.

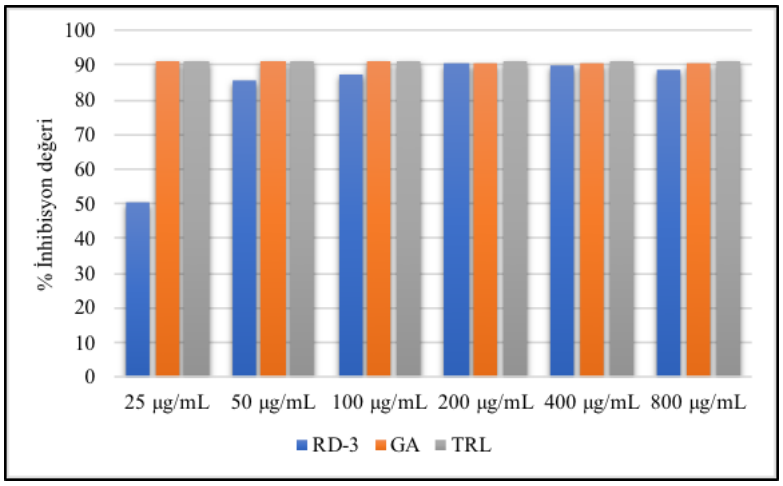
Numune	% İnhibisyon					
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
RD-1	39.09	49.64	62.12	86.87	87.95	85.15
RD-2	27.15	45.65	88.27	88.49	85.69	62.66
RD-3	50.21	85.47	87.19	90.42	90.10	89.02
RD-4	14.66	43.01	86.01	86.98	90.21	88.16
RD-5	51.00	65.67	90.42	90.64	89.45	89.67
RD-6	22.30	33.25	50.77	82.78	88.27	85.47
RD-7	54.13	64.06	86.44	90.31	89.88	87.73
RD-8	39.31	54.69	78.05	89.35	90.21	89.99
RD-9	18.77	56.63	68.66	89.13	89.88	89.02
RD-10	52.76	60.51	68.15	89.02	91.07	89.78
GA	90.96	91.07	90.96	90.75	90.85	90.85
TRL	91.28	91.07	91.18	91.18	91.18	91.07



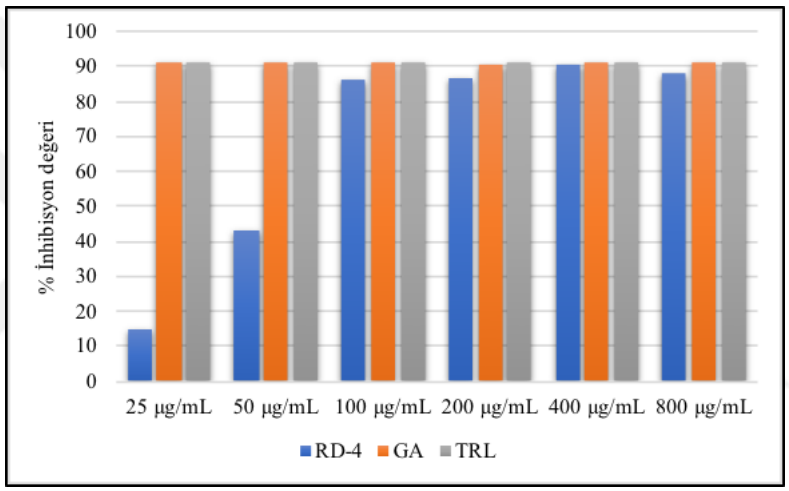
Şekil 4.115. RD-1 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi.



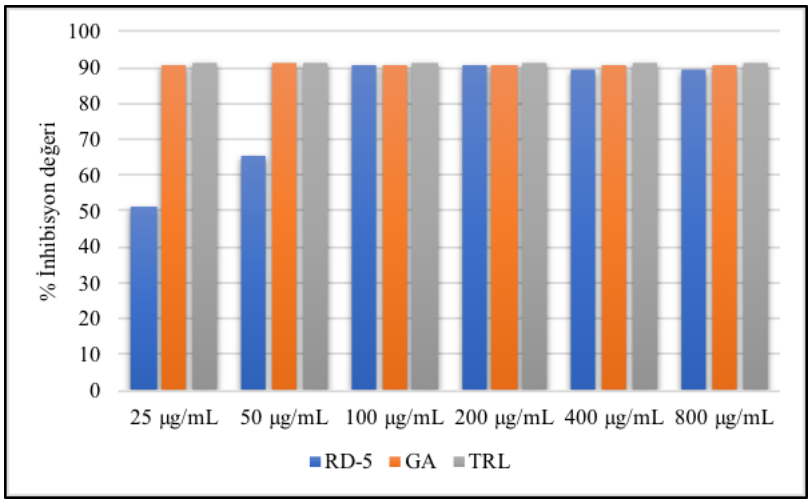
Şekil 4.116. RD-2 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi.



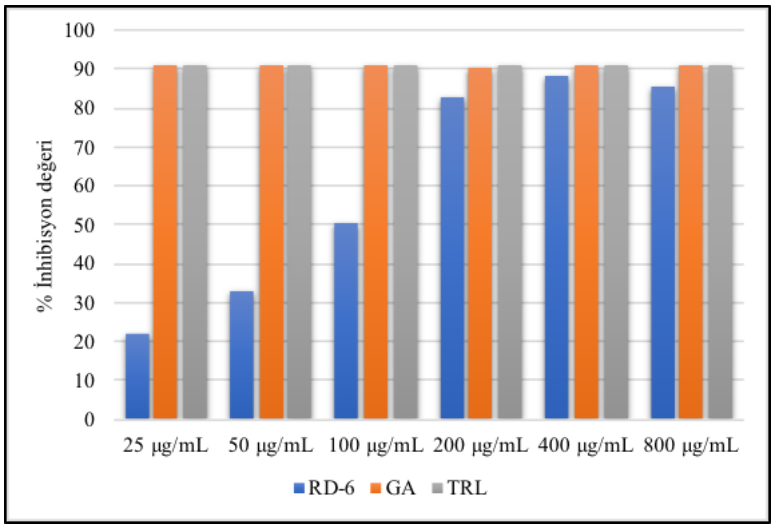
Şekil 4.117. RD-3 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi.



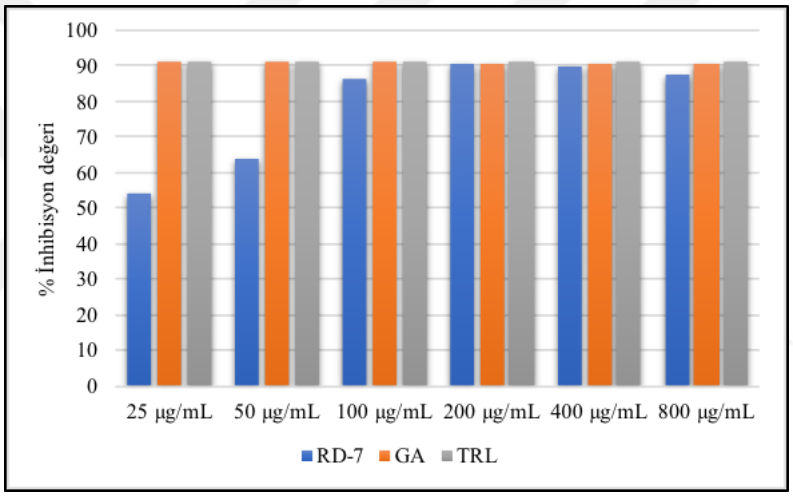
Şekil 4.118. RD-4 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi.



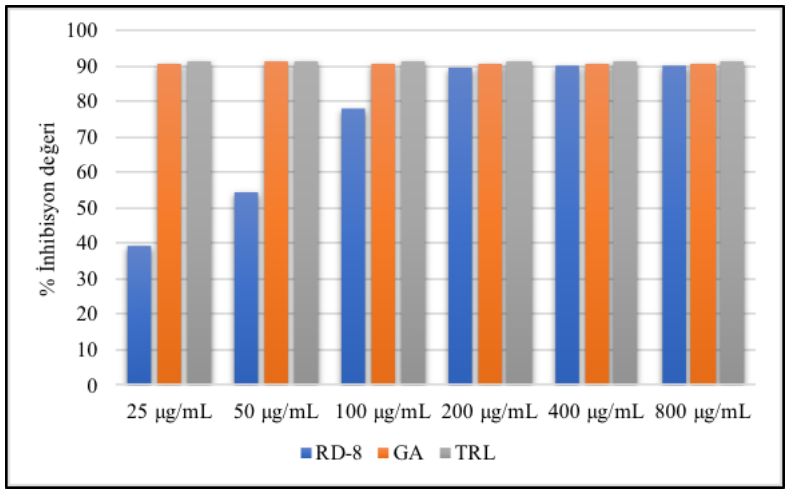
Şekil 4.119. RD-5 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi.



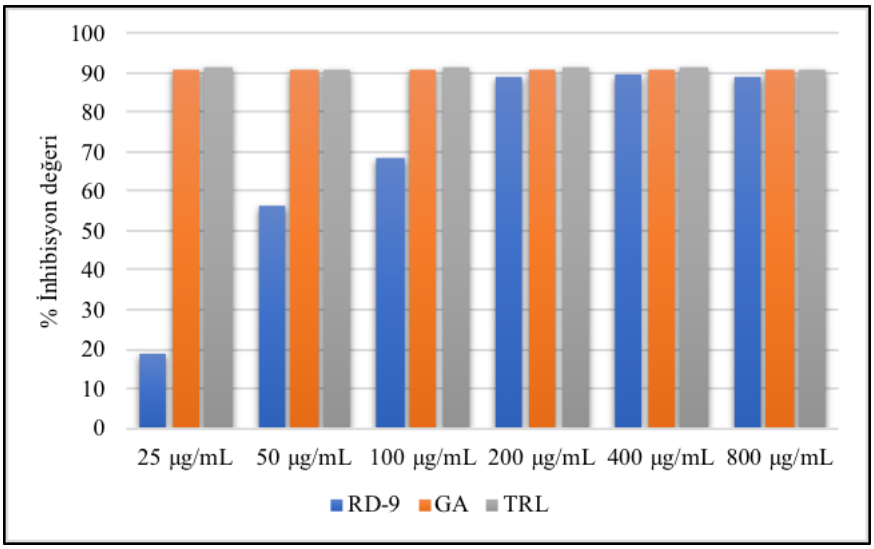
Şekil 4.120. RD-6 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi.



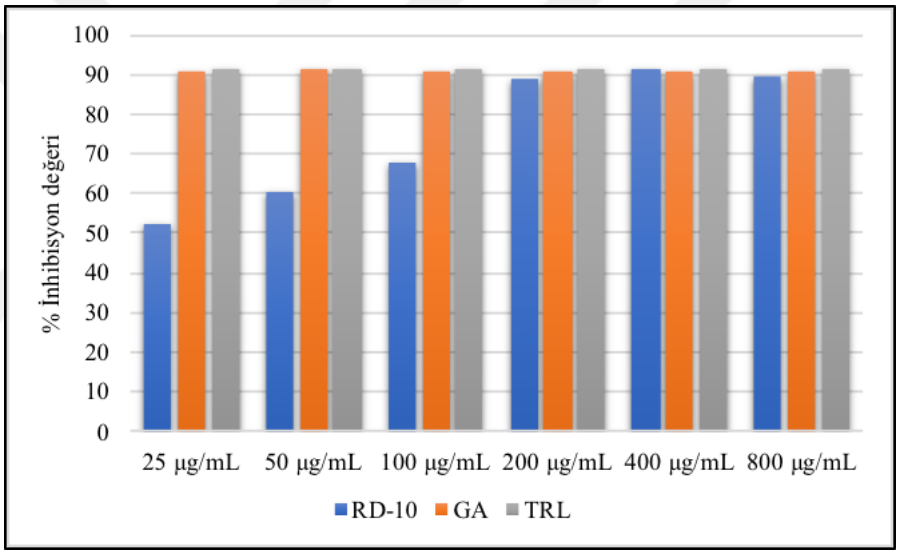
Şekil 4.121. RD-7 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi.



Şekil 4.122. RD-8 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi.



Şekil 4.123. RD-9 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi.

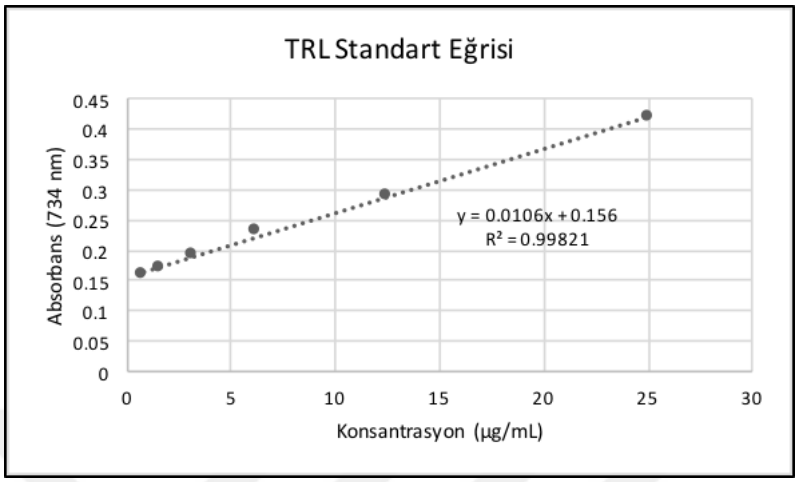


Şekil 4.124. RD-10 % 70 EtOH petal ekstresinin ABTS radikal süpürücü kapasitesi.

RD-1 farklı petal ekstrelerini ve tüm RD petallerinin % 70 EtOH ekstrelerini kendi aralarında karşılaştırmak için troloks ekivalan (TRLE) ve gallik asit ekivalan (GAE) değerleri hesaplanmıştır. Bunun için troloksun ve gallik asitin 6 farklı konsantrasyonda (0.78 µg/mL, 1.56 µg/mL, 3.13 µg/mL, 6.25 µg/mL, 12.5 µg/mL ve 25 µg/mL) ABTS radikal süpürücü kapasitesi değerlendirilmiş ve konsantrasyona karşı absorbans değerleri kullanılarak standart eğrileri oluşturulmuştur (Tablo 4.63., Tablo 4.64., Şekil 4.125., Şekil 4.126.). Standart eğriden elde edilen formül kullanılarak tüm ekstrelerin mg troloksa (TRLE) ve mg gallik asite (GAE) karşılık gelen g ekstre miktarları belirlenmiştir (Tablo 4.65., Tablo 4.66., Şekil 4.127., Şekil 4.128).

Tablo 4.63. Troloks konsantrasyona karşı absorbans değerleri (734 nm).

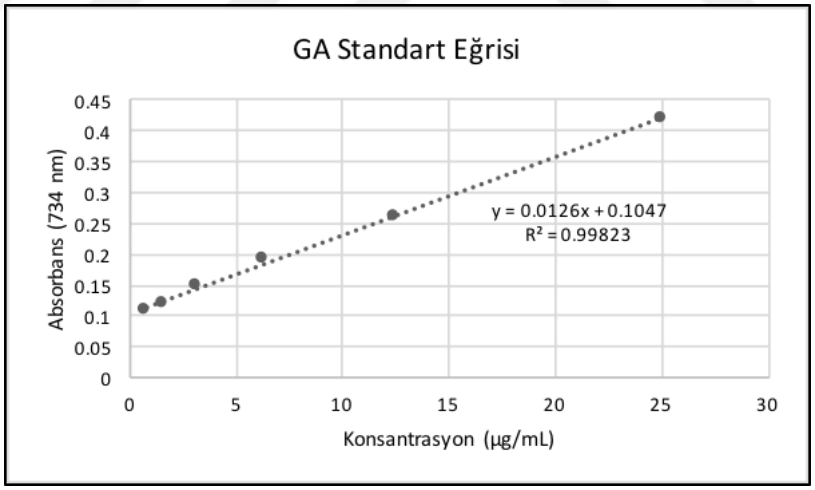
Numune	Konsantrasyon (µg/mL)					
	0.78	**1.56**	**3.13**	**6.25**	**12.5**	**25**
TRL	0.16	0.17	0.19	0.23	0.29	0.42



Şekil 4.125. Troloks standart eğrisi.

Tablo 4.64. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (734 nm).

Numune	Konsantrasyon (µg/mL)					
	0.78	**1.56**	**3.13**	**6.25**	**12.5**	**25**
GA	0.11	0.12	0.15	0.19	0.26	0.42

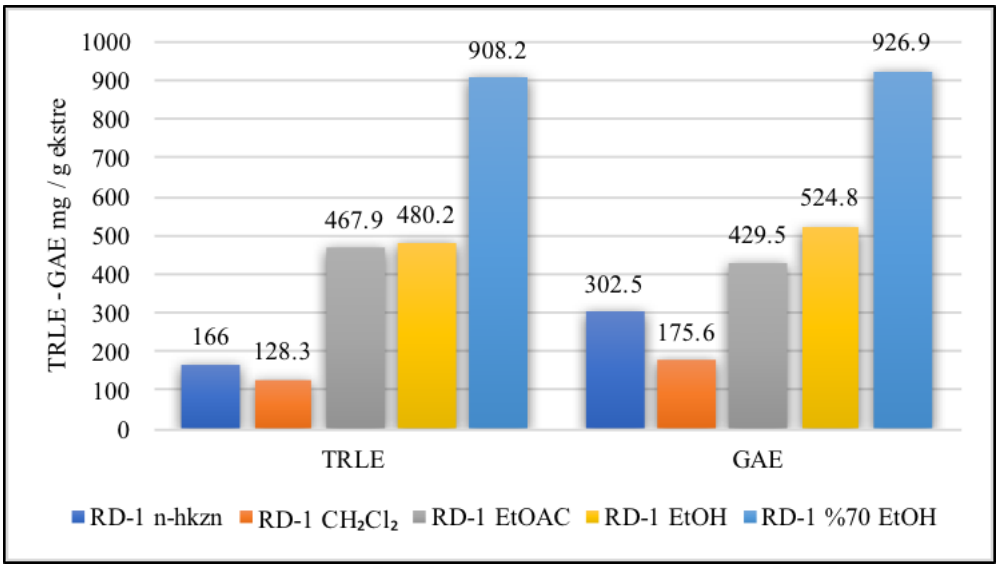


Şekil 4.126. Gallik asit standart eğrisi.

Tablo 4.65. RD-1 petal ekstreleri ABTS radikal süpürücü kapasiteleri.

Numune	TRLE*	GAE**
RD-1 *n*-hkzn	166.0	302.5
RD-1 CH_2Cl_2	128.3	175.6
RD-1 EtOAc	467.9	429.5
RD-1 EtOH	480.2	524.8
RD-1 % 70 EtOH	908.2	926.9

*: mg troloks / g ekstre olarak verilmiştir.
**: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.

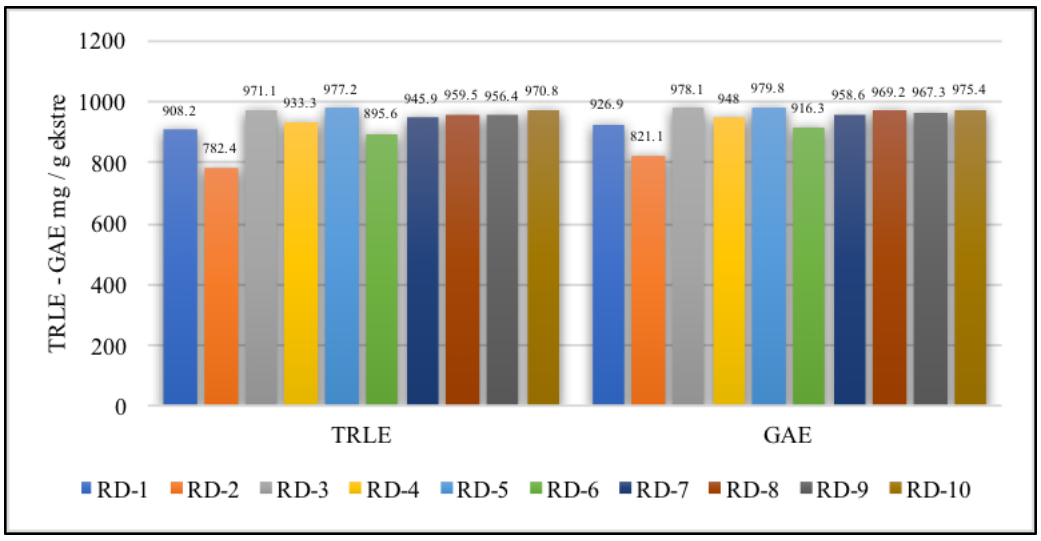


Şekil 4.127. RD-1 petal ekstreleri ABTS radikal süpürücü kapasiteleri.

Tablo 4.66. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin ABTS radikal süpürücü kapasiteleri.

Numune	TRLE*	GAE**
RD-1	908.2	926.9
RD-2	782.4	821.1
RD-3	971.1	978.1
RD-4	933.3	948.0
RD-5	977.2	979.8
RD-6	895.6	916.3
RD-7	945.9	958.6
RD-8	959.5	969.2
RD-9	956.4	967.3
RD-10	970.8	975.4

*: mg troloks / g ekstre olarak verilmiştir.
**: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.



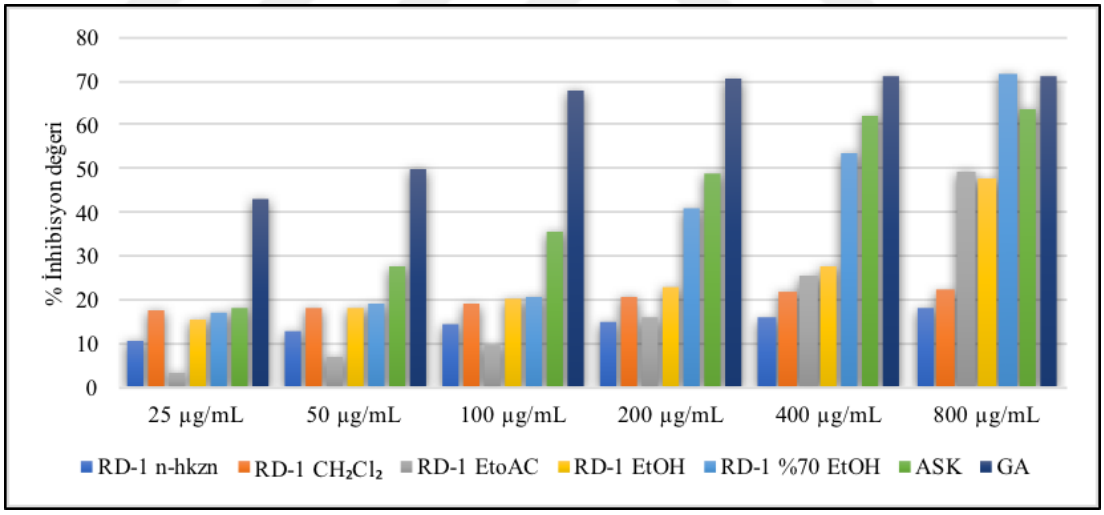
Şekil 4.128. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin ABTS radikal süpürücü kapasiteleri.

4.6.3. Nitrik Oksit Radikalini Süpürücü Kapasite

RD-1 petallerinden hazırlanan 5 farklı ekstrenin (*n*-hekzan, diklorometan, etilasetat, etanol, % 70 etanol) 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) NO radikalini süpürücü kapasiteleri belirlenmiştir (Tablo. 4.67., Şekil 4.129.).

Tablo 4.67. RD-1 petal ekstrelerinin NO radikalini süpürücü kapasiteleri.

Numune	% İnhibisyon					
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
RD-1 *n*-hkzn	10.88	12.75	14.28	15.13	16.22	18.01
RD-1 CH_2Cl_2	17.50	18.09	19.21	20.59	21.55	22.22
RD-1 EtOAc	3.13	6.98	9.63	15.81	25.75	49.38
RD-1 EtOH	15.25	17.86	19.98	22.93	27.63	47.88
RD-1 % 70 EtOH	17.00	19.32	20.50	40.75	53.69	71.75
ASK	25.38	48.50	52.00	63.50	78.56	79.00
GA	42.75	50.06	68.00	70.65	70.97	71.25

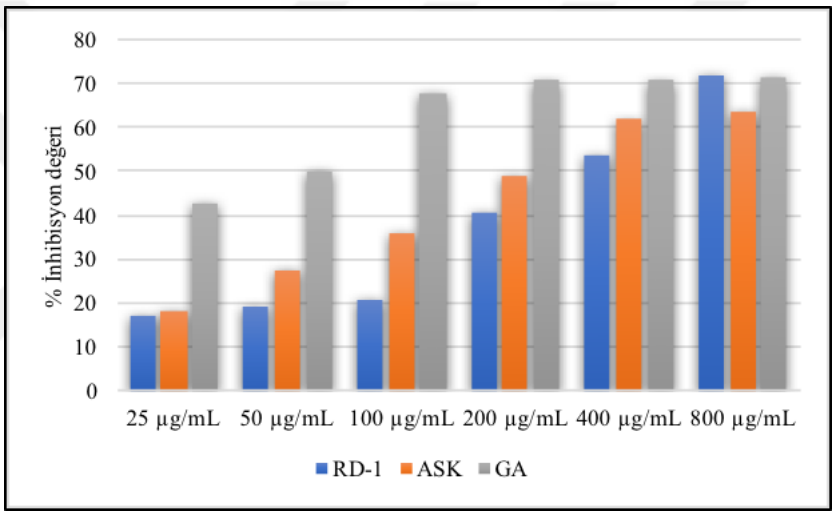


Şekil 4.129. RD-1 petal ekstrelerinin NO radikalini süpürücü kapasiteleri

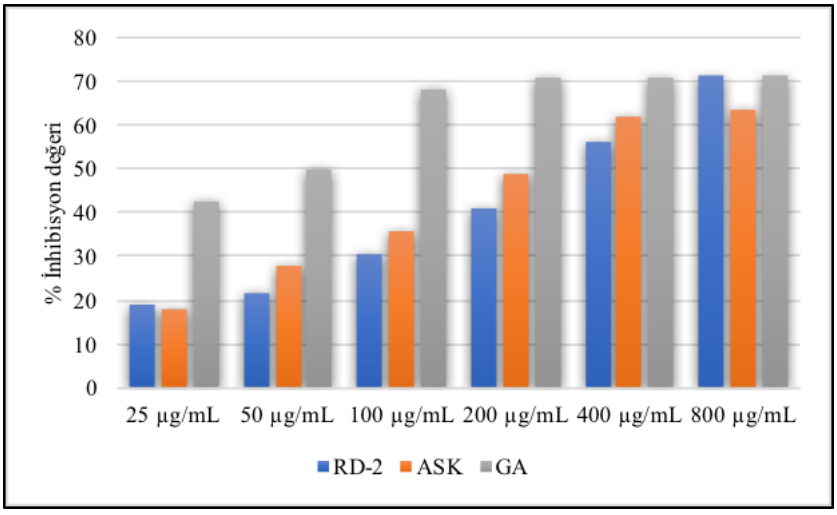
RD-1 - RD-10 petallerinden hazırlanan % 70 EtOH ekstrelerinin 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL ve 800 µg/mL) ABTS radikal süpürücü kapasiteleri belirlenmiştir (Tablo. 4.68., Şekil 4.130 – Şekil 4.139.).

Tablo 4.68. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin NO radikal süpürücü kapasiteleri.

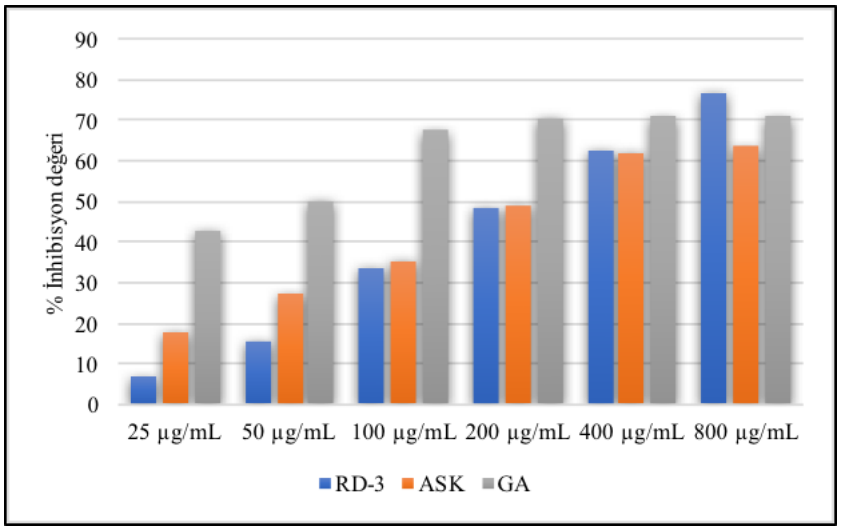
Numune	% İnhibisyon					
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
RD-1	17.00	19.32	20.50	40.75	53.69	71.75
RD-2	18.75	21.75	30.38	40.75	56.00	71.50
RD-3	7.13	15.75	33.50	48.63	62.38	76.75
RD-4	3.88	10.13	31.38	47.25	61.00	75.13
RD-5	17.38	24.50	37.81	54.25	68.38	77.81
RD-6	8.50	13.38	21.50	36.63	53.00	69.13
RD-7	3.38	13.38	32.50	50.25	65.63	67.25
RD-8	7.25	19.00	29.38	43.38	60.25	69.63
RD-9	1.78	4.63	12.25	25.63	39.88	62.13
RD-10	10.63	23.25	39.13	46.63	63.25	68.31
ASK	25.38	48.50	52.00	63.50	78.56	79.00
GA	42.75	50.06	68.00	70.65	70.97	71.25



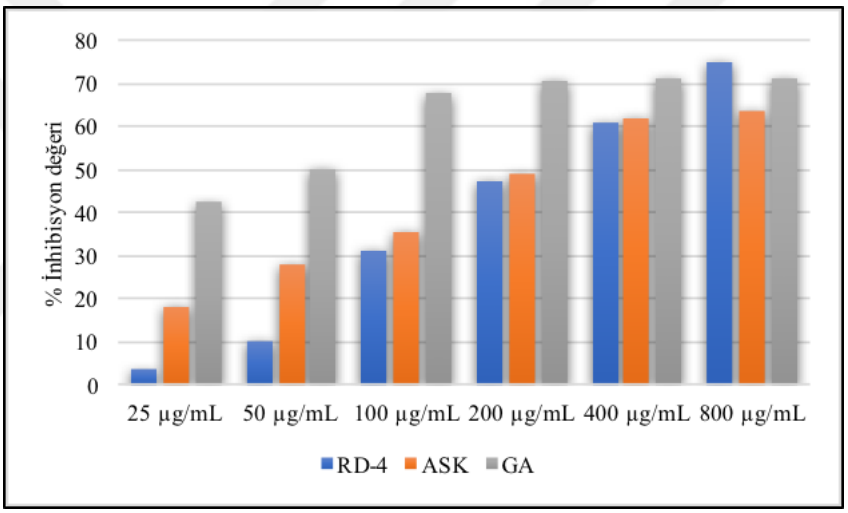
Şekil 4.130. RD-1 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi.



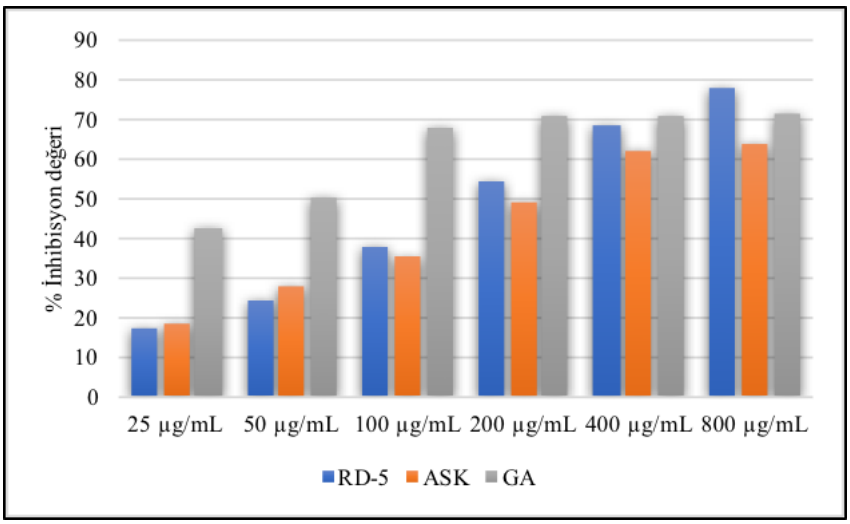
Şekil 4.131. RD-2 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi.



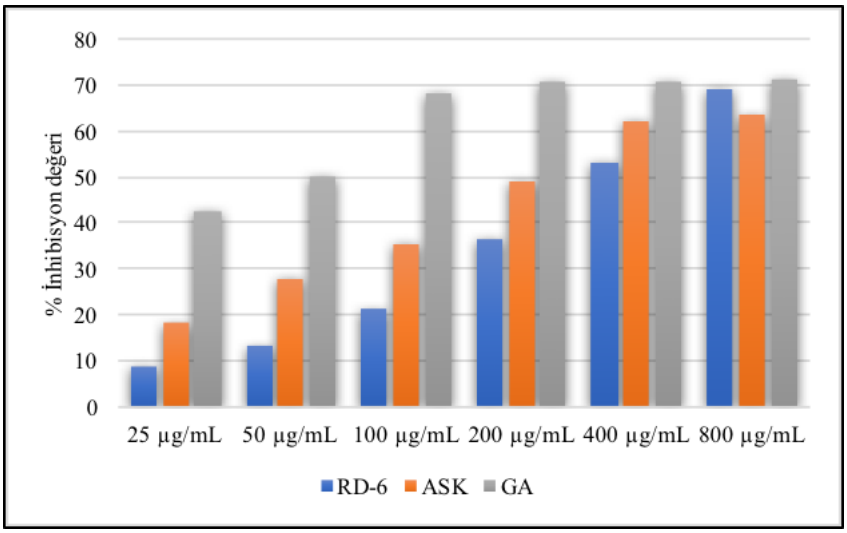
Şekil 4.132. RD-3 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi.



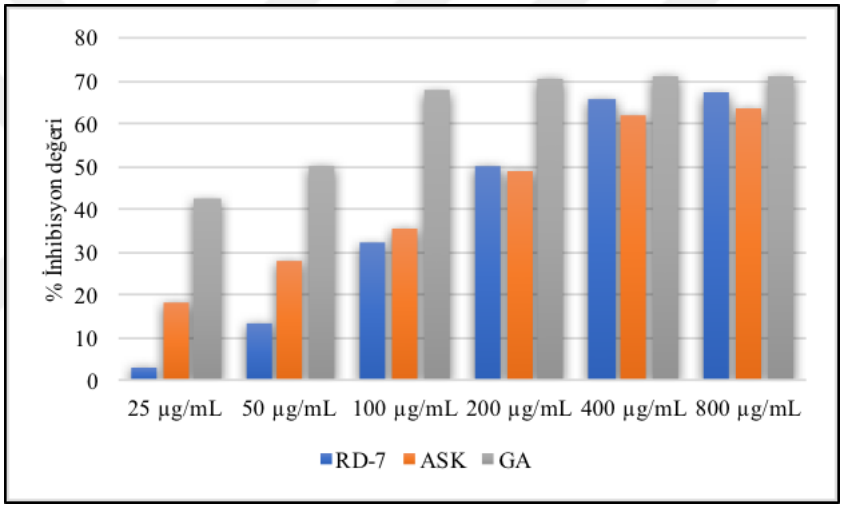
Şekil 4.133. RD-4 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi.



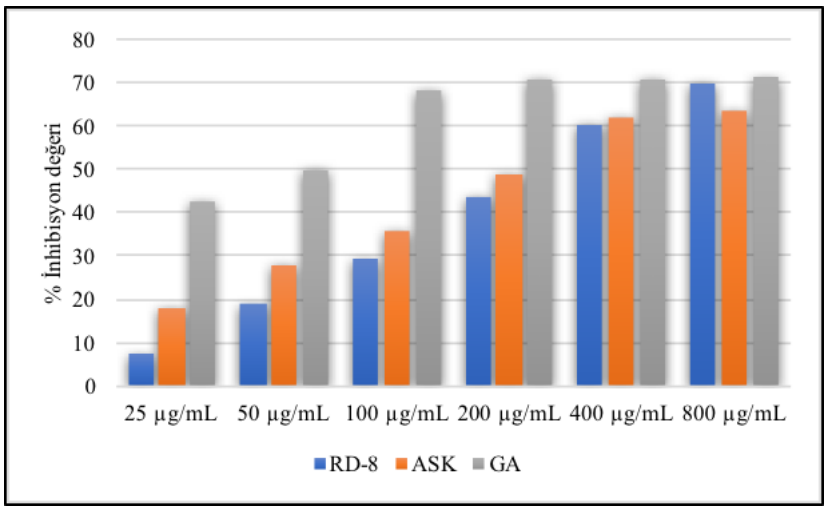
Şekil 4.134. RD-5 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi.



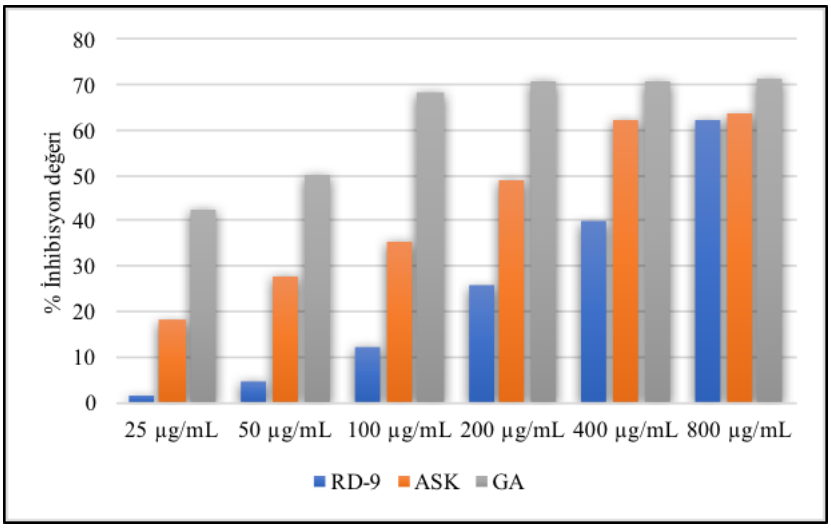
Şekil 4.135. RD-6 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi.



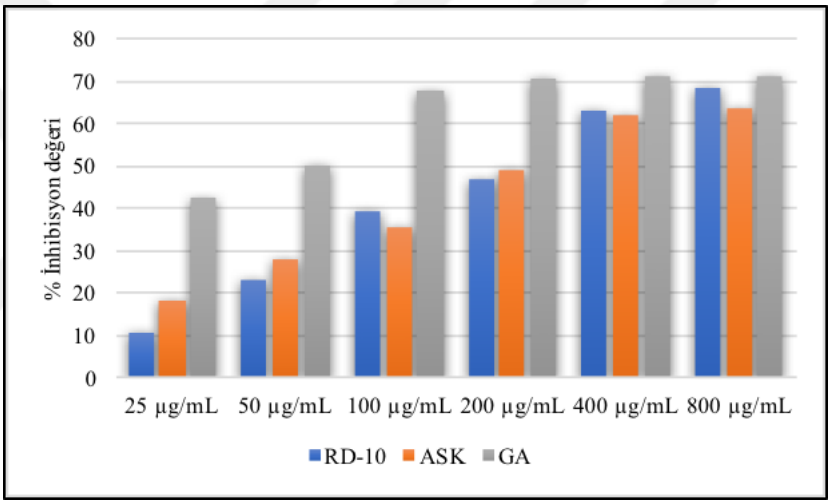
Şekil 4.136. RD-7 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi.



Şekil 4.137. RD-8 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi.



Şekil 4.138. RD-9 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi.

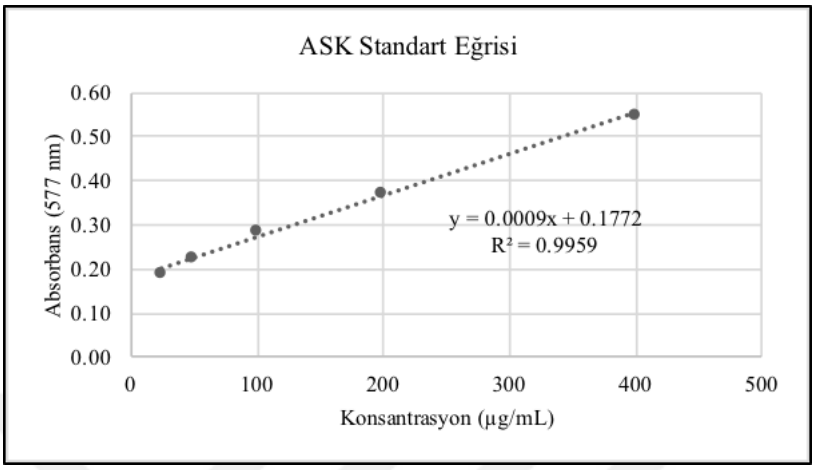


Şekil 4.139. RD-10 % 70 EtOH petal ekstresinin NO radikal süpürücü kapasitesi.

RD-1 farklı petal ekstrelerini ve tüm RD petallerinin % 70 EtOH ekstrelerini kendi aralarında karşılaştırmak için askorbik asit ekivalan (ASKE) ve gallik asit ekivalan (GAE) değerleri hesaplanmıştır. Bunun için askorbik asitin 5 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL ve 400 µg/mL) ve gallik asitin 6 farklı konsantrasyonda (3.13 µg/mL, 6.25 µg/mL, 12.5 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL ve 100 µg/mL) NO radikal süpürücü kapasitesi değerlendirilmiş ve konsantrasyona karşı absorbans değerleri kullanılarak standart eğrileri oluşturulmuştur (Tablo 4.69., Tablo 4.70., Şekil 4.140., Şekil 4.141.). Standart eğrilerden elde edilen formül kullanılarak tüm ekstrelerin mg askorbik asite (ASKE) ve mg gallik asite (GAE) karşılık gelen g ekstre miktarları belirlenmiştir (Tablo 4.71., Tablo 4.72., Şekil 4.142., Şekil 4.143.).

Tablo 4.69. Askorbik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (546 nm).

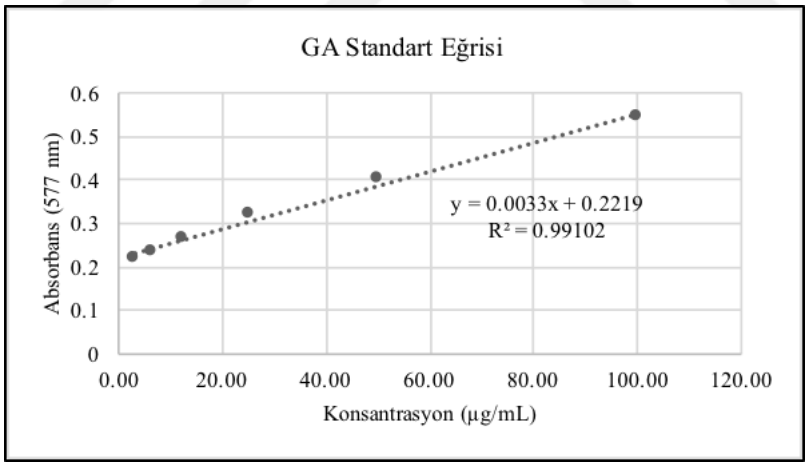
Numune	Konsantrasyon (µg/mL)				
	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL
ASK	0.19	0.22	0.29	0.37	0.55



Şekil 4.140. Askorbik asit standart eğrisi.

Tablo 4.70. Gallik asit konsantrasyona karşı absorbans değerleri (546 nm).

Numune	Konsantrasyon (µg/mL)					
	3.13	6.25	12.5	25	50	100
GA	0.22	0.235	0.265	0.32	0.4	0.544

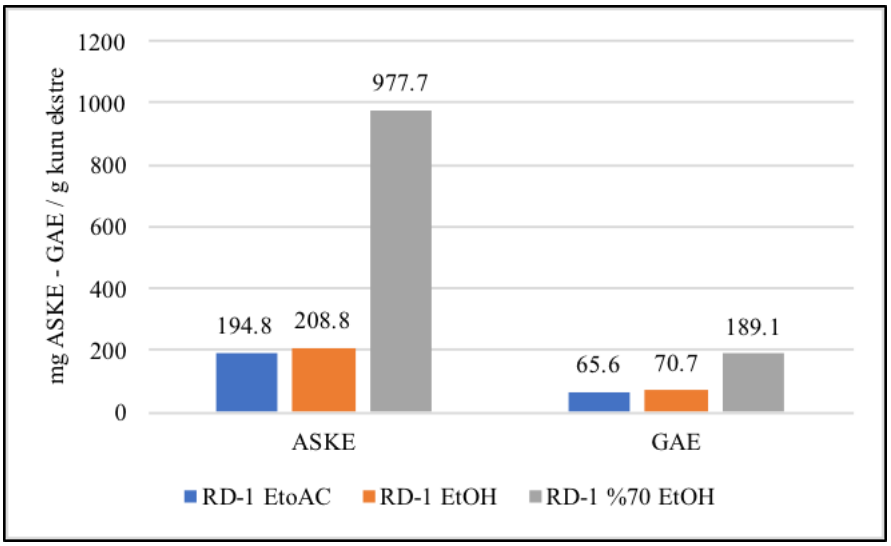


Şekil 4.141. Gallik asit standart eğrisi.

Tablo 4.71. RD-1 petal ekstreleri NO radikal süpürücü kapasiteleri.

	ASKE*	GAE**
RD-1 *n*-hkzn	-	-
RD-1 CH_2Cl_2	-	-
RD-1 EtOAc	194.8	65.6
RD-1 EtOH	208.8	70.7
RD-1 % 70 EtOH	977.7	189.1

*: mg askorbik asit / g ekstre olarak verilmiştir.
**: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.

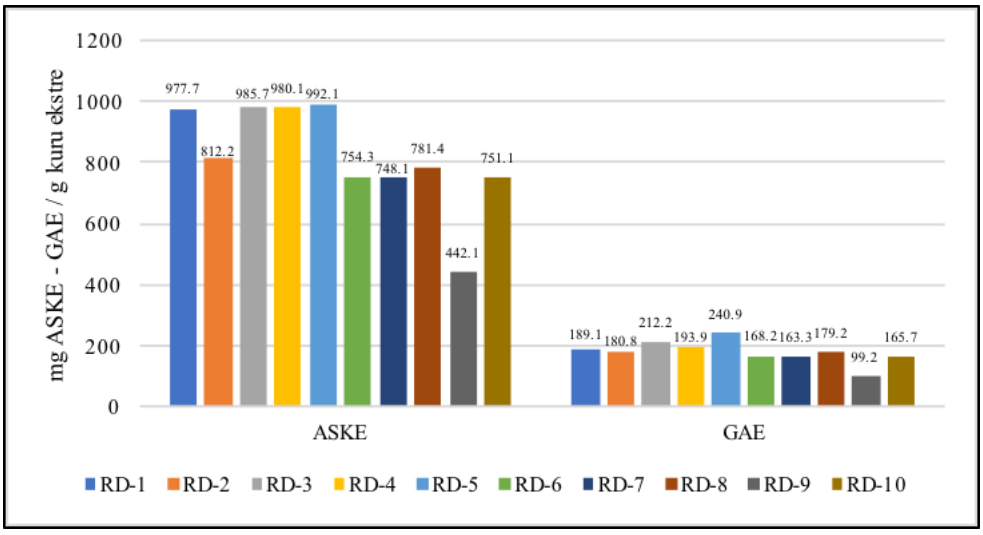


Şekil 4.142. RD-1 petal ekstreleri NO radikal süpürücü kapasiteleri.

Tablo 4.72. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin NO radikal süpürücü kapasiteleri.

Numune	ASKE*	GAE**
RD-1	977.7	189.1
RD-2	812.2	180.8
RD-3	985.7	212.2
RD-4	980.1	193.9
RD-5	992.1	240.9
RD-6	754.3	168.2
RD-7	748.1	163.3
RD-8	781.4	179.2
RD-9	442.1	99.2
RD-10	751.1	165.7

*: mg askorbik asit / g ekstre olarak verilmiştir.
**: mg gallik asit / g ekstre olarak verilmiştir.



Şekil 4.143. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin NO radikal süpürücü kapasiteleri.

4.7. Güneşten Koruyucu Faktör (SPF) Çalışmaları için Bulgular

RD-1 petallerinden hazırlanan 6 farklı ekstrenin iki farklı konsantrasyonda (100 µg/mL ve 200 µg/mL) SPF değerleri ölçülmüştür (Tablo 4.73.- Tablo 4.78.).

Tablo 4.73. RD-1 *n*-hekzan ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.2525	0.0379	**0.9910**
	295	10	0.0817	0.1785	0.1458	
	300	10	0.2874	0.1070	0.3075	
	305	10	0.3278	0.0875	0.2868	
	310	10	0.1864	0.0770	0.1435	
	315	10	0.0839	0.0695	0.0583	
	320	10	0.018	0.0615	0.0111	
200	**290**	10	0.015	0.2585	0.0388	**1.1168**
	295	10	0.0817	0.1815	0.1483	
	300	10	0.2874	0.1175	0.3377	
	305	10	0.3278	0.1010	0.3311	
	310	10	0.1864	0.0930	0.1734	
	315	10	0.0839	0.0870	0.0730	
	320	10	0.018	0.0810	0.0146	

Tablo 4.74. RD-1 diklorometan ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.1685	0.0253	**0.7801**
	295	10	0.0817	0.1260	0.1029	
	300	10	0.2874	0.0815	0.2342	
	305	10	0.3278	0.0715	0.2344	
	310	10	0.1864	0.0655	0.1221	
	315	10	0.0839	0.0610	0.0512	
	320	10	0.018	0.0555	0.0100	
200	**290**	10	0.015	0.2585	0.0388	**1.2735**
	295	10	0.0817	0.1975	0.1614	
	300	10	0.2874	0.1335	0.3837	
	305	10	0.3278	0.1180	0.3868	
	310	10	0.1864	0.1080	0.2013	
	315	10	0.0839	0.1010	0.0847	
	320	10	0.018	0.0935	0.0168	

Tablo 4.75. RD-1 etilasetat ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.4455	0.0668	**3.1593**
	295	10	0.0817	0.3845	0.3141	
	300	10	0.2874	0.3230	0.9283	
	305	10	0.3278	0.3060	1.0031	
	310	10	0.1864	0.2960	0.5517	
	315	10	0.0839	0.2905	0.2437	
	320	10	0.018	0.2860	0.0515	
200	**290**	10	0.015	0.6625	0.0994	**5.8651**
	295	10	0.0817	0.6285	0.5135	
	300	10	0.2874	0.5915	1.7000	
	305	10	0.3278	0.5810	1.9045	
	310	10	0.1864	0.5710	1.0643	
	315	10	0.0839	0.5710	0.4791	
	320	10	0.018	0.5795	0.1043	

Tablo 4.76. RD-1 etanol ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.4520	0.0678	**2.7185**
	295	10	0.0817	0.3660	0.2990	
	300	10	0.2874	0.2795	0.8033	
	305	10	0.3278	0.2580	0.8457	
	310	10	0.1864	0.2465	0.4595	
	315	10	0.0839	0.2395	0.2009	
	320	10	0.018	0.2345	0.0422	
200	**290**	10	0.015	0.4575	0.0686	**3.8808**
	295	10	0.0817	0.4300	0.3513	
	300	10	0.2874	0.3960	1.1381	
	305	10	0.3278	0.3830	1.2555	
	310	10	0.1864	0.3720	0.6934	
	315	10	0.0839	0.3670	0.3079	
	320	10	0.018	0.3665	0.0660	

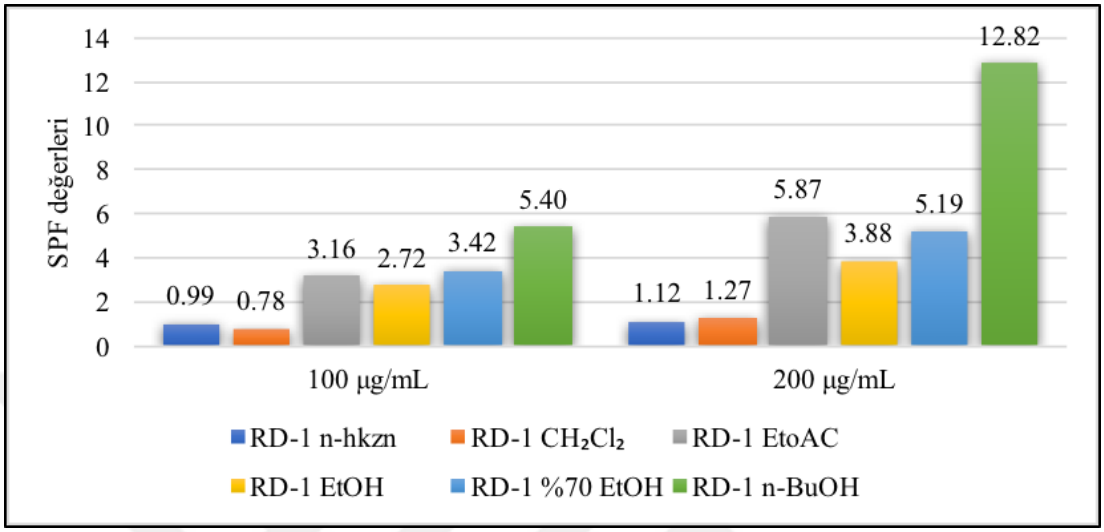
Tablo 4.77. RD-1 % 70 etanol ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.5465	0.0820	**3.4225**
	295	10	0.0817	0.4575	0.3738	
	300	10	0.2874	0.3685	1.0591	
	305	10	0.3278	0.3290	1.0785	
	310	10	0.1864	0.2975	0.5545	
	315	10	0.0839	0.2730	0.2290	
	320	10	0.018	0.2535	0.0456	
200	**290**	10	0.015	0.7210	0.1082	**5.1927**
	295	10	0.0817	0.6440	0.5261	
	300	10	0.2874	0.5615	1.6138	
	305	10	0.3278	0.5085	1.6669	
	310	10	0.1864	0.4590	0.8556	
	315	10	0.0839	0.4200	0.3524	
	320	10	0.018	0.3880	0.0698	

Tablo 4.78. RD-1 *n*-butanol ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	1.0420	0.1563	**5.3967**
	295	10	0.0817	0.8240	0.6732	
	300	10	0.2874	0.5981	1.7189	
	305	10	0.3278	0.5029	1.6485	
	310	10	0.1864	0.4372	0.8149	
	315	10	0.0839	0.3848	0.3228	
	320	10	0.018	0.3442	0.0620	
200	**290**	10	0.015	2.2514	0.3377	**12.8157**
	295	10	0.0817	1.8494	1.5109	
	300	10	0.2874	1.4363	4.1279	
	305	10	0.3278	1.2183	3.9937	
	310	10	0.1864	1.0414	1.9411	
	315	10	0.0839	0.9055	0.7597	
	320	10	0.018	0.8032	0.1446	

RD-1 petallerinden elde edilen *n*-hekzan (*n*-hkzn), diklorometan (CH_2Cl_2), etilasetat (EtOAc), etanol (EtOH), etanol:su (70:30) (% 70 EtOH) ve *n*-butanol (*n*-BuOH) ekstrelerinin SPF değerleri karşılaştırmalı olarak Şekil 4.144.'de verilmiştir.



Şekil 4.144. Çeşitli RD-1 ekstrelerinin SPF değerleri.

İran ve Pakistan kaynaklı diğer *Rosa damascena* (RD-2 - RD-10) petallerinden hazırlanan % 70 EtOH ekstrelerinin iki farklı konsantrasyonda (100 µg/mL ve 200 µg/mL) SPF değerleri ölçülmüştür (Tablo 4.79.- Tablo 4.87.).

Tablo 4.79. RD-2 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	**Dalga Boyu (nm)**	**CF**	**EE x I**	**Abs**	**SONUÇ**	**SPF**
100	**290**	10	0.015	0.4240	0.0636	**2.9696**
	295	10	0.0817	0.3740	0.3056	
	300	10	0.2874	0.3255	0.9355	
	305	10	0.3278	0.2905	0.9523	
	310	10	0.1864	0.2585	0.4818	
	315	10	0.0839	0.2305	0.1934	
	320	10	0.018	0.2080	0.0374	
200	**290**	10	0.015	0.7530	0.1130	**5.6105**
	295	10	0.0817	0.6900	0.5637	
	300	10	0.2874	0.6230	1.7905	
	305	10	0.3278	0.5550	1.8193	
	310	10	0.1864	0.4845	0.9031	
	315	10	0.0839	0.4220	0.3541	
	320	10	0.018	0.3715	0.0669	

Tablo 4.80. RD-3 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.4085	0.0613	**3.0498**
	295	10	0.0817	0.3685	0.3011	
	300	10	0.2874	0.3270	0.9398	
	305	10	0.3278	0.2990	0.9801	
	310	10	0.1864	0.2745	0.5117	
	315	10	0.0839	0.2540	0.2131	
	320	10	0.018	0.2375	0.0428	
200	**290**	10	0.015	0.6505	0.0976	**5.5239**
	295	10	0.0817	0.6275	0.5127	
	300	10	0.2874	0.5990	1.7215	
	305	10	0.3278	0.5520	1.8095	
	310	10	0.1864	0.4980	0.9283	
	315	10	0.0839	0.4520	0.3792	
	320	10	0.018	0.4175	0.0752	

Tablo 4.81. RD-4 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.3355	0.0503	**2.8816**
	295	10	0.0817	0.3205	0.2618	
	300	10	0.2874	0.3050	0.8766	
	305	10	0.3278	0.2865	0.9391	
	310	10	0.1864	0.2680	0.4996	
	315	10	0.0839	0.2515	0.2110	
	320	10	0.018	0.2395	0.0431	
200	**290**	10	0.015	0.7455	0.1118	**5.7592**
	295	10	0.0817	0.6865	0.5609	
	300	10	0.2874	0.6170	1.7733	
	305	10	0.3278	0.5675	1.8603	
	310	10	0.1864	0.5200	0.9693	
	315	10	0.0839	0.4800	0.4027	
	320	10	0.018	0.4500	0.0810	

Tablo 4.82. RD-5 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.5110	0.0767	**3.3505**
	295	10	0.0817	0.4365	0.3566	
	300	10	0.2874	0.3665	1.0533	
	305	10	0.3278	0.3245	1.0637	
	310	10	0.1864	0.2895	0.5396	
	315	10	0.0839	0.2600	0.2181	
	320	10	0.018	0.2355	0.0424	
200	**290**	10	0.015	0.8390	0.1259	**5.6712**
	295	10	0.0817	0.7415	0.6058	
	300	10	0.2874	0.6410	1.8422	
	305	10	0.3278	0.5560	1.8226	
	310	10	0.1864	0.4710	0.8779	
	315	10	0.0839	0.3990	0.3348	
	320	10	0.018	0.3445	0.0620	

Tablo 4.83. RD-6 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.3280	0.0492	**2.5158**
	295	10	0.0817	0.2975	0.2431	
	300	10	0.2874	0.2695	0.7745	
	305	10	0.3278	0.2485	0.8146	
	310	10	0.1864	0.2275	0.4241	
	315	10	0.0839	0.2090	0.1754	
	320	10	0.018	0.1945	0.0350	
200	**290**	10	0.015	0.6030	0.0905	**4.5298**
	295	10	0.0817	0.5530	0.4518	
	300	10	0.2874	0.5035	1.4471	
	305	10	0.3278	0.4485	1.4702	
	310	10	0.1864	0.3915	0.7298	
	315	10	0.0839	0.3410	0.2861	
	320	10	0.018	0.3025	0.0545	

Tablo 4.84. RD-7 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.3710	0.0557	**2.5235**
	295	10	0.0817	0.3235	0.2643	
	300	10	0.2874	0.2800	0.8047	
	305	10	0.3278	0.2470	0.8097	
	310	10	0.1864	0.2150	0.4008	
	315	10	0.0839	0.1885	0.1582	
	320	10	0.018	0.1680	0.0302	
200	**290**	10	0.015	0.6310	0.0947	**4.3710**
	295	10	0.0817	0.5670	0.4632	
	300	10	0.2874	0.5010	1.4399	
	305	10	0.3278	0.4310	1.4128	
	310	10	0.1864	0.3585	0.6682	
	315	10	0.0839	0.2950	0.2475	
	320	10	0.018	0.2480	0.0446	

Tablo 4.85. RD-8 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.3740	0.0561	**2.9995**
	295	10	0.0817	0.3455	0.2823	
	300	10	0.2874	0.3150	0.9053	
	305	10	0.3278	0.2955	0.9686	
	310	10	0.1864	0.2785	0.5191	
	315	10	0.0839	0.2650	0.2223	
	320	10	0.018	0.2540	0.0457	
200	**290**	10	0.015	0.6545	0.0982	**5.8169**
	295	10	0.0817	0.6315	0.5159	
	300	10	0.2874	0.6065	1.7431	
	305	10	0.3278	0.5790	1.8980	
	310	10	0.1864	0.5510	1.0271	
	315	10	0.0839	0.5275	0.4426	
	320	10	0.018	0.5115	0.0921	

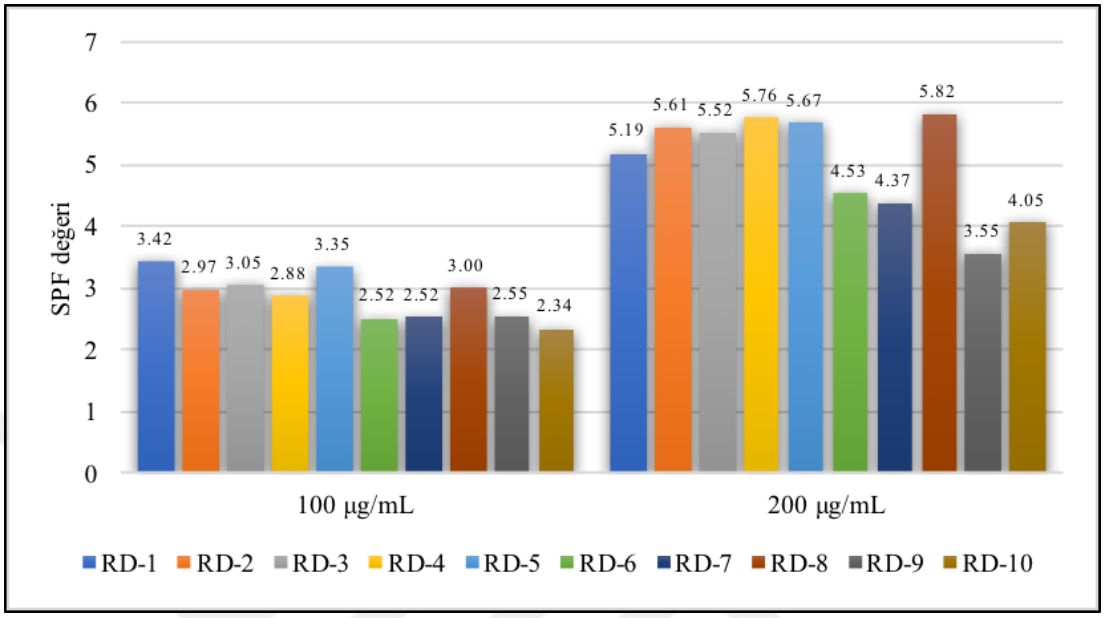
Tablo 4.86. RD-9 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.4110	0.0617	**2.5538**
	295	10	0.0817	0.3355	0.2741	
	300	10	0.2874	0.2660	0.7645	
	305	10	0.3278	0.2445	0.8015	
	310	10	0.1864	0.2305	0.4297	
	315	10	0.0839	0.2200	0.1846	
	320	10	0.018	0.2105	0.0379	
200	**290**	10	0.015	0.3765	0.0565	**3.5496**
	295	10	0.0817	0.3725	0.3043	
	300	10	0.2874	0.3685	1.0591	
	305	10	0.3278	0.3560	1.1670	
	310	10	0.1864	0.3395	0.6328	
	315	10	0.0839	0.3255	0.2731	
	320	10	0.018	0.3160	0.0569	

Tablo 4.87. RD-10 % 70 EtOH ekstresinin SPF değerleri.

Konsantrasyon (µg/mL)	Dalga Boyu (nm)	CF	EE x I	Abs	SONUÇ	SPF
100	**290**	10	0.015	0.3400	0.0510	**2.3431**
	295	10	0.0817	0.2990	0.2443	
	300	10	0.2874	0.2585	0.7429	
	305	10	0.3278	0.2290	0.7507	
	310	10	0.1864	0.2020	0.3765	
	315	10	0.0839	0.1775	0.1489	
	320	10	0.018	0.1600	0.0288	
200	**290**	10	0.015	0.5050	0.0758	**4.0500**
	295	10	0.0817	0.4785	0.3909	
	300	10	0.2874	0.4535	1.3034	
	305	10	0.3278	0.4050	1.3276	
	310	10	0.1864	0.3490	0.6505	
	315	10	0.0839	0.3020	0.2534	
	320	10	0.018	0.2690	0.0484	

RD-1 - RD-10 petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin SPF değerleri karşılaştırmalı olarak Şekil 4.89'de verilmiştir.



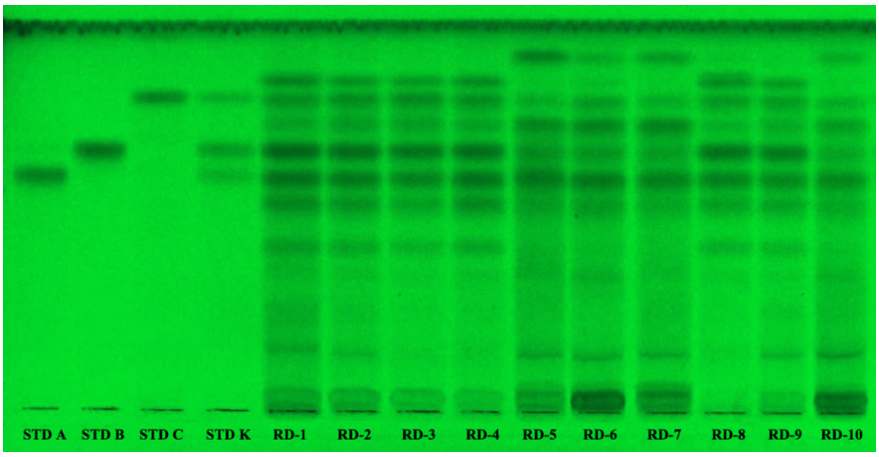
Şekil 4.145. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen % 70 EtOH ekstrelerinin SPF değerleri.

5. TARTIŞMA

Tıbbi bitki ekstreleri birçok bileşiği içeren kompleks karışımlardır. İçerdikleri bileşiklerin kümülatif veya sinerjistik etkileri nedeniyle tedavi edici özelliklere sahiptirler. Bitkisel ürün endüstrisinde özellikle gıda takviyelerinde tağşiş ya da yanlış bitki ile yer değiştirme kasten ya da kazara da olsa önemli bir problemdir. Kalite kontrol çalışmaları, etkin, güvenli ve kaliteli bir ürün için gereklidir. Bu nedenle hızlı, spesifik, kesin, yüksek çıktılı ve ucuz analitik metotlara ihtiyaç vardır. Biyoaktif bileşiklerin teşhis ve miktar tayinleri için bazı kromatografik ve spektroskopik teknikler kullanılmaktadır. Geliştirilen yöntemlerle safsızlıklar, kontaminasyonlar ve diğer bileşiklerin varlığı teşhis edilebilmektedir. İçerik taraması ve miktar tayini tek parmakizi (fingerprint) analiziyle mümkün olabilmektedir.

Bu tez çalışmasında ilk olarak, Avrupa Farmakopesine "Rosae flos" monografı hazırlama çerçevesinde Farmakope standartlarını belirlemek üzere İTK, HPTLC ve HPLC yöntem geliştirme çalışmaları ve HPLC metot validasyonu gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen yöntemler Türkiye, İran ve Pakistan'dan temin edilen 10 farklı *Rosa damascena* petallerinin metanollü ekstreleri üzerinde de uygulanmış ve sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

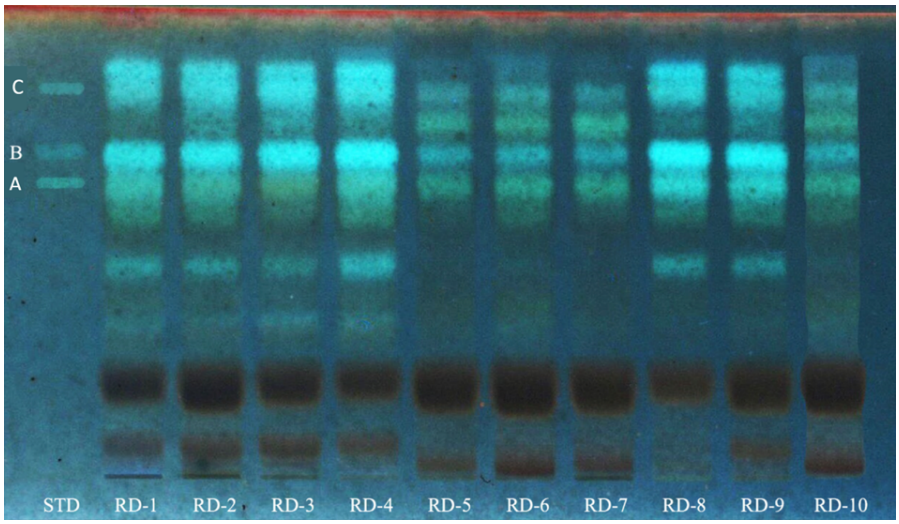
İşaretleyici (biomarker) bileşik seçiminde, literatür bilgileri ve İTK sonuçları değerlendirilmiş, majör bileşiklerin kemferol 3-*O*-galaktozit ve kemferol 3-*O*-glukozit olduğu tespit edildikten sonra bu bileşikler hem izolasyon hem de satın alma yoluyla temin edilerek işaretleyici olarak kullanılmıştır. Farklı lokaliteden temin edilen 10 ayrı *Rosa damascena* metanollü ekstresi 10 µL'lik kapillerle eşit miktarlarda tatbik edilerek İTK'da karşılaştırılmıştır (Şekil 5.1.).



Şekil 5.1. *Rosa damascena* metanol ekstreleri İTK kromatogramı (254 nm); kemferol 3-*O*-galaktozit (A), kemferol 3-*O*-glukozit (B), kemferol 3-*O*-ramnozit (C), STD K (Standart karşımı).

Kromatogramlardaki benzerlikler ve farklılıklar incelendiğinde RD-1, RD-2, RD-3, RD-4, RD-8 ve RD-9'un (Grup 1) profillerinin benzer olduğu, RD-5, RD-6, RD-7 ve RD-10'un (Grup 2) İTK profillerinin benzerlik gösterdiği gözlenmiştir. Grup 1'de yer alan ekstrelerde kemferol 3-*O*-galaktozit ve kemferol 3-*O*-glukozit majör bileşikler olarak gözlenirken Grup 2'de yer alan ekstrelerde kemferol 3-*O*-galaktozit majör olmasına karşın kemferol 3-*O*-glukozit bileşiğinin yoğunluğunda önemli bir düşüş görülmüştür. Yine ilk grupta kemferol 3-*O*-ramnozit bileşiği yoğun olarak gözlenmesine karşın ikinci grupta bu bileşiğin yoğunluğu oldukça düşüktür.

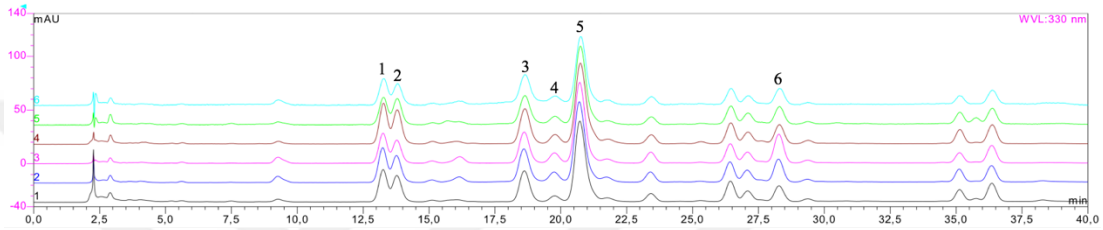
Aynı sistem HPTLC sisteminde de uygulanmış ve benzer kromatogramlar elde edilmiştir (Şekil 5.2.).



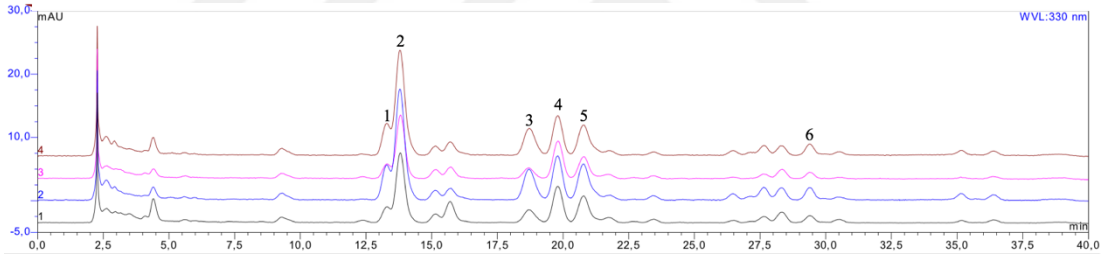
Şekil 5.2. *Rosa damascena* metanol ekstreleri HPTLC kromatogramı (Püskürtme sonrası; 366 nm); kemferol 3-*O*-galaktozit (A), kemferol 3-*O*-glukozit (B), kemferol 3-*O*-ramnozit (C), standart karışımı (STD).

HPLC analizleri için solvan, polarite, akış hızı ve solvan kombinasyonları değiştirilerek 52 farklı yöntem denenmiş, ayırımın en uygun, piklerin en keskin olduğu yönteme karar verilmiştir.

Numunelerin HPLC parmak izi analizi sonuçları değerlendirildiğinde, İTK ve HPTLC'de olduğu gibi RD-1, RD-2, RD-3, RD-4, RD-8 ve RD-9 (Grup 1) örneklerinin benzer profile sahip oldukları (Şekil 5.3.), RD-5, RD-6, RD-7 ve RD-10 (Grup 2) numunelerinin de birbirine benzer profil gösterdikleri (Şekil 5.4.) gözlenmiştir.



Şekil 5.3. RD-1 (Kr-1), RD-2 (Kr-2), RD-3 (Kr-3), RD-4 (Kr-4), RD-8 (Kr-5) ve RD-9 (Kr-6) parmak izi analizleri.



Şekil 5.4. RD-5 (Kr-1), RD-6 (Kr-2), RD-7 (Kr-3) ve RD-10 (Kr-4) parmak izi analizleri.

İki grup arasındaki en belirgin fark ilk grupta yer alan numunelerde sırasıyla kemferol 3-*O*-glukozit ve kemferol 3-*O*-galaktozit majör bileşikler olarak karşımıza çıkarken; diğer grupta majör bileşikler sırasıyla kersetin 3-*O*-glukozit ve kersetin 3-*O*-ramnozit olarak belirlenmiştir. Tez çalışmasında karşılaştırmalı olarak yapılan bu bulgular bize aynı cins ve türe sahip olsalar dahi farklı lokasyonlarda yetişen bitkilerin içeriklerinin ve/veya içerdikleri bileşiklerin oranlarının değişebildiğini göstermiştir. Bu da coğrafi koşulların bitkiler üzerinde ne kadar etkili olduğunun kanıtıdır. Bitkilerin toplandıktan sonra uygun şekilde kurutulması, toz edilmesi, ambalajlanması ve uygun koşullarda saklanması önemlidir. Saklama sırasında bitki içeriklerinin değiştiği de tespitlerimiz arasındadır. İşaretleyici bileşikler olarak belirlenen kemferol 3-*O*-glukozit ve kemferol 3-*O*-galaktozit, 10 farklı konsantrasyonda hazırlanarak

HPLC sistemine tatbik edilmiş ve standart eğrileri oluşturulmuştur. Bu standart eğriler kullanılarak tüm numunelerde miktarları tayin edilmiştir. Kemferol 3-*O*-glukozit ve kemferol 3-*O*-galaktozit, Isparta gülünde (RD-1) sırasıyla % 0.7047 ve % 0.3976, işaretleyici bileşikleri en yüksek oranda içeren İran gülü örneklerinden birinde (RD-2) sırasıyla % 0.6347 ve % 0.3644, Pakistan gülünde (RD-10) ise % 0.0393 ve % 0.0546 olarak bulunmuştur. Sonuçlardan da anlaşılacağı üzere Isparta gülünün (RD-1), her iki bileşiği de en fazla miktarda içerdiği tespit edilmiştir.

Validasyon çalışmaları *kemferol 3-O-glukozit R* standart bileşiği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntem validasyonu, ICH tarafından önerilen validasyon parametreleri baz alınarak, sistem uygunluk testleri, kararlılık, doğrusallık, duyarlılık, doğruluk, kesinlik, özgünlük, sağlamlık başlıkları altında yapılan çalışmalarla gerçekleştirilmiştir.

Sistem uygunluk testleri 50 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan kemferol 3-*O*-glukozit (K3GLU) standart bileşiği kullanılarak USP ve FDA tarafından önerilen parametreler üzerinde gerçekleştirilmiştir (120,121). Testlerin doğruluğu açısından hazırlanan standart çözelti sisteme 10 tekrarlı olacak şekilde verilmiş ve bu değerler kullanılarak ortalama alıkonma zamanı, enjeksiyon kesinliği, ayırıcılık, kapasite faktörü, ortalama teorik tabaka sayısı ve pik asimetri oranları hesaplanmıştır. Bileşiğin ortalama alıkonma zamanı 20.51 dk. olarak tespit edilmiştir. *Enjeksiyon kesinliği* pik alanlarının % BSS değerleri hesaplanarak 0.25 olarak bulunmuştur. Bu değerin % 1'den küçük bulunması enjeksiyonun tekrarlanabilir olduğunu göstermiştir. *Kapasite faktörü* alıkonma zamanı ile ölü hacim arasındaki farkın ölü hacme bölünmesi sonucunda 7.54 olarak bulunmuştur. Bu değerin 2'den büyük bulunması sistemin uygunluğunu göstermiştir. *Ayırıcılık* parametresinde iki pik arasındaki ayırımın 2 değerinden büyük olması beklenir. Çalışmamızda ayırıcılık değeri 3.83 olarak bulunmuş ve sistemin uygun olduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde 0.98 bulunan *pik asimetri oranının* 1.5 değerinden daha küçük olması ve 15928 bulunan ortalama *teorik tabaka sayısı* değerinin 2000 değerinden büyük bulunmuş olması kolon etkinliğinin bir göstergesi olup sistemin uygunluğunu göstermiştir. Özetle test edilen tüm parametreler Bölüm 3.6.4.'te anlatılan sınır değerlerle uyumlu bulunmuş ve sistemin uygunluğu bu şekilde ispatlanmıştır.

Kararlılık çalışmaları için K3GLU standart bileşiğinin 50 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan çözeltisi kısa dönem ve uzun dönem olmak üzere incelenmiştir. Kısa dönem kararlılık çalışmaları için tazeyken analizi gerçekleştirilen çözeltinin kromatogramı ile 24 saat süreyle oda sıcaklığında bekletildikten sonra analizi gerçekleştirilen çözeltinin kromatogramları karşılaştırılmıştır. 24 saatlik süre diliminde K3GLU standart çözeltisinin pik alanındaki değişimin BSS değeri % 0.14 olarak bulunmuştur. Çözeltinin uzun dönem kararlılığını test edebilmek için 2 ay süreyle farklı zaman dilimlerinde 24 farklı gün teste tabi tutulmuş ve pik alanlarındaki değişim % BSS olarak hesaplanmıştır. Çözeltinin pik alanı veri aralığı 16.13-17.55 değerleri arasında ölçülmüş ve BSS değeri % 2.35 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar kısa dönem ve uzun dönem çözeltinin dayanıklılığını koruduğunu göstermiştir.

Doğrusallık parametresi validasyon çalışmasının önemli ölçütlerinden biri olup derişime karşı pik alanlarından yararlanılarak elde edilen grafik ile değerlendirilmektedir. 10 farklı konsantrasyonda hazırlanan K3GLU çözeltileri sisteme ayrı ayrı 6'şar kez tatbik edilmiş ve kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Regresyon analizi sonucu kalibrasyon denklemi elde edilmiştir: $y= 0.3319x – 0.2932$. Korelasyon analizi sonucunda elde edilen korelasyon katsayısı (r) değerinin 0.9997 ve tanımlayıcılık (R^2) değerinin 0.9998 bulunması doğrusallığın bir göstergesidir. Optimize edilen HPLC sisteminde K3GLU için doğrusallık aralığı 4-90 µg/mL olarak belirlenmiştir.

Sistemin *duyarlı* bir yöntem olduğunun ispatlanabilmesi için Bölüm 3.6.4.'te anlatıldığı gibi LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır. LOD değeri için sinyal/gürültü oranının 3 olduğu değer belirlenmiş ve 0.2308 olarak bulunmuştur. Sinyal/gürültü oranının 10 olduğu LOQ değeri (0.7692) kabul edilebilir doğruluk (≤ %20) ve kesinlik (≤ %20) değerlerinde tayin edilebilen en düşük derişim olarak bulunmuş ve sistemin yeteri kadar duyarlı olduğu saptanmıştır (137,138).

Sistemin *doğruluğunun* kanıtlanabilmesi için K3GLU standart maddesi 3 farklı konsantrasyonda (10 µg/mL, 20 µg/mL ve 30 µg/mL) *Rosa damascena* metanol ekstresi üzerine eklenmiş ve % geri kazanım oranları sırasıyla 103.54, 100.07 ve 99.02 bulunmuştur. Geri kazanım oranlarının yüksek bulunması ve aynı zamanda % BSS değerlerinin de 1'den küçük bulunması yöntemin doğruluğunu göstermiştir.

Kesinlik çalışmaları cihaz enjeksiyon tekrarlanabilirliği, gün içi kesinlik ve günler arası kesinlik çalışmaları yapılarak araştırılmıştır. Cihaz enjeksiyon tekrarlanabilirliği için 50 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan K3GLU çözeltisinin 10 tekrarlı analizi sonucunda elde edilen pik alanlarının % BSS değeri 0.58 olarak bulunmuş ve enjeksiyon tekrarlanabilirliğini göstermiştir. *Gün içi* kesinlik çalışmalarında 20 µg/mL, 50 µg/mL ve 80 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltinin 6 farklı seride analizleri gerçekleştirilmiş ve tüm konsantrasyonlarda % BSS değeri %1'den küçük bulunmuştur. Gün içi kesinlik sonuçlarına göre yöntemin tekrarlanabilir olduğu gözlenmiştir. *Günler arası* kesinlik çalışmalarında aynı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltiler 6 farklı günde toplam 36 kez analiz edilmiş ve tüm konsantrasyonlarda % BSS değerinin % 2'den daha küçük olduğu gözlenmiş ve yöntemin tekrarlanabilir bir yöntem olduğu ispatlanmıştır.

Yöntemin *sağlamlık* çalışmalarında akış hızı, kolon sıcaklığı, hareketli fazın pH'sı, dedektör dalga boyu gibi parametrelerde ufak değişiklikler yapılarak sonuçlar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre kolon sıcaklığı, hareketli faz pH'sı ve dedektör dalga boyu parametrelerinde % BSS değerleri %1'in altında bulunmuş sisteme etkilerinin çok küçük olduğu tespit edilmiştir. Sistem üzerinde en fazla değişikliğe sebebiyet veren tahmin edileceği üzere akış hızı olmuştur. Akış hızının değiştirilmesi sonucu % BSS değeri 2.57 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak kullanılan yöntemin gerçekleştirilen değişimlerden çok fazla etkilenmediği ve sağlam olduğu gözlenmiştir.

HPLC ile sadece işaretleyici bileşikler değil, tüm örneklerin flavonoit profilinin belirlenmesi de gerçekleştirilmiştir. 13.2 dk. ile 28.2 dk. aralığında, sırasıyla kersetin 3-*O*-galaktozit, kersetin 3-*O*-glukozit, kemferol 3-*O*-galaktozit, kersetin 3-*O*-ramnozit, kemferol 3-*O*-glukozit ve kemferol 3-*O*-ramnozit flavonol glikozitleri standart bileşiklerle karşılaştırılarak ve standart ekleme yöntemi uygulanarak belirlenmiştir. Isparta gülüne en yakın profil gösteren diğer güllerin ise RD-2 (İran-Nurabad), RD-3 (İran-Kamu) ve yine İran'dan temin edilen RD-4 kodlu güller olduğu, belirlenmiştir. Pakistan gülünün ise kersetin 3-gluktozit ve kersetin 3-*O*-ramnoziti yüksek oranda içerdiği gözlenmiştir. Böylece farklı lokasyonların içeriğe olan etkileri de gözlenebilmiştir.

Son yıllarda EDQM (European Directory Quality of Medicine), bitki anatomisi ile ilgili görsellerin Avrupa Farmakopesinde yer almasını istemektedir. Bu nedenle tez çalışmamızda *Rosa damascena* bitkisinin petal morfolojisi ve anatomisi de incelenerek ayırıcı karakterler belirlenmiş ve çizimleri yapılmıştır (Bkz. Şekil 4.2.).

Mikrodistilasyon ve hidrodistilasyon yöntemleriyle elde edilen gül yağı ve gül suyu ile ticari gül yağı ve ticari gül suyunun uçucu bileşikleri Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/ Kütle spektrometresi (GC/MS) ile analiz edilmiştir. Lokasyon farklılıkları, kullanılan petallerin taze ya da kuru olmaları, mikrodistilasyon ya da hidrodistilasyon gibi farklı yöntemlerle elde edilmiş olmaları uçucu bileşiklerin oranlarında ve içeriklerinde farklılıklara neden olmuştur (Tablo 5.1.). Isparta'dan taze olarak temin edilen gül petallerinden (RD-11 Taze) hidrodistilasyon yoluyla elde edilen uçucu yağ ile ticari uçucu yağın (RD-TCGY) benzer profil gösterdikleri bulunmuştur. Tespit edilen 75 bileşikten 72 sini taşıdıkları, farklılıkların ise RD-11 Taze'de □-terpinen, □-murolen ve geranial olduğu, ticari örnekte ise □-fellandren, (*E*)-□-osimen ve geranil bütirat olduğu tespit edilmiştir. Rosae flos'un ayırıcı bileşiklerinden *cis* ve *trans*-rozoksit her iki numunede de yakın miktarlarda gözlenmiştir.

Tablo 5.1. Mikrodistilasyon ve hidrodistilasyon ile elde edilen ve gül sularında SPME ile adsorblanan uçucu bileşiklerin miktarlarının karşılaştırılması.

Bileşikler	MD-UB RD-1 D	HD-UB RD-1 D	HD-UB RD-11 T	RD-TCGY	SPME-GS RD-1 D	SPME-GS RD-11 T	RD-TCGS-4
(*E*)-*β*-osimen	-	-	-	0.07	-	-	-
cis-rozoksit	1.71	-	0.46	0.54	12.78	3.07	2.29
trans-rozoksit	0.67	-	0.18	0.20	5.52	0.97	0.54
linalol	1.12	0.22	0.54	0.56	4.15	8.70	13.27
sitronellol	20.69	8.48	35.44	37.85	33.49	35.87	27.00
geraniol	5.59	1.81	13.27	13.88	5.43	6.96	11.47
fenil etil alkol	23.97	4.48	1.99	1.93	12.57	10.67	25.35

*MD-UB: Mikrodistilasyon-Uçucu Bileşikler, HD-GY: Hidrodistilasyon-Gül Yağı, RD-TCGY: *Rosa damascena* ticari gül yağı, GS: Gül suyu, RD-TCGS-4: Ticari gül suyu, D: Dondurulmuş, T: Taze.

RD-1 Kuru materyalinden hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağda 75 bileşikten sadece 21'i (bunlardan 9'u taze materyalden elde edilen uçucu yağda ve

ticari gül yağında teşhis edilememiştir); RD-11 Kuru materyalinden elde edilen uçucu yağda 75 bileşikten sadece 30 (bunlardan 17'si taze materyalden elde edilen uçucu yağda ve ticari gül yağında teşhis edilememiştir) teşhis edilmiştir. Isparta gülünün kuru materyalinden (RD-1 Kuru) mikrodistilasyonla elde edilen uçucu bileşik analizinde fenil etil alkole rastlanmazken 6 ay derin dondurucuda saklanan taze materyalde % 23.97 oranında fenil etil alkol majör bileşik olarak gözlenmiştir. Başka bir lokasyondan temin edilen Isparta gülünün (RD-11) kuru materyalinde majör bileşik % 27.58 oranında sedrol olarak bulunmuştur. Bu bileşik RD-1 Kuru materyalinde % 9.5 oranında RD-1 Dond. materyalinde eser miktarda gözlenmiştir. İran kaynaklı olan diğer numunelerde sedrol bileşiğine rastlanmamıştır. RD-2 Kuru kodlu materyalde sitronellol (% 13.15) majör bileşik olarak bulunmuştur. Sitronellol tüm materyallerde gözlenirken en yüksek oranda RD-1 Dond. kodlu materyalde (% 20.69) gözlenmiştir. Tüm kurutulmuş petallerde alkan türevlerinin içeriğinin yükseldiği, uçucu terpenlerin azaldığı gözlenmiştir. İlginç olan bir diğer sonucumuz ise taze petallerin dondurularak saklanması sonucu yine alkan türevi bileşiklere majör bileşik olarak rastlamamız olmuştur.

Isparta gülü (RD-11) taze petalleri kullanılarak hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağ ile ticari uçucu yağda benzer şekilde majör bileşik sitronellol olarak tespit edilmiştir, bu oran bitkinin kurutulmasıyla büyük bir oranda azalmıştır. RD-11 Taze materyalinde % 35.44 ile yüksek oranda sitronellol bulunmasına karşın bu oran aynı bitkinin kurutulmasından sonra (RD-11 Kuru) % 1.27'ye kadar düşmüştür. RD-1 materyali tazeyken derin dondurucuya konularak 6 ay süreyle saklanmış olmasına rağmen sitronellol oranının düşük olduğu (% 8.48) tespit edilmiştir. Sadece kurutulma ile değil, derin dondurucuda saklama sonucunda da alkan türevlerinin arttığı gözlenmiştir. İran kaynaklı kurutulmuş güllerde sitronellol oranı; RD-2'de % 13.93, RD-3 ve RD-4 numunelerinde % 2'nin altında bulunmuştur. Geraniol tüm numunelerde değişen oranlarda gözlenirken, RD-11 Taze (% 13.27) ve RD-TCGY (% 13.88) numunelerinde ikinci majör bileşik olarak tespit edilmiştir.

Gül sularının uçucu bileşikleri SPME yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Hidrodistilasyon sonucu elde edilen yağ altı sularının ve ticari gül sularının GC/MS analizleri sonucu belirlenen majör uçucu bileşikler karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Gül sularının majör bileşiğinin genel olarak sitronellol olduğu tespit edilmiştir. RD-4

Kuru kodlu İran kaynaklı gül suyunda, diğer örneklerden farklı olarak majör bileşik % 25 oranında limonendir. Limonen % 0.45 oranında RD-TCGS-1 numunesinde ve eser miktarda da RD-TCGS-4 numunesinde de gözlenmiş; geri kalan numunelerin hiçbirinde tespit edilmemiştir. RD-4 Kuru numunesinden elde edilen gül suyunda diğer numunelerin aksine sitronellol çok düşük miktarda (% 0.62) gözlenirken yüksek miktarda *α*-pinen (% 23.03) ve *p*-simen (% 21.05) tespit edilmiştir. Linalol bileşiği tüm numunelerde değişik oranlarda gözlenmesine karşın RD-TCGS-2 kodlu ticari gül suyunda majör bileşik olarak tespit edilmiştir. Aynı numunede sitronellol oranı da % 21.17 oranında ikinci majör bileşik olarak tespit edilmiştir. Diğer gül sularından ciddi oranda farklılık gösteren bir diğer numune de RD-TCGS-3 kodlu gül suyu olmuştur. Bu numunede majör bileşik olarak % 41.03 oranında fenil etil alkol tespit edilirken diğer numunelerin aksine sitronellol (% 0.70) ve linalol (% 0.13) çok düşük miktarlarda gözlenmiştir. Anhidrolinalol oksit (% 11.32) ve metil öjenol (% 7.79) diğer majör bileşikler olarak tespit edilmiştir. Anhidrolinalol oksit bileşiğinin bu numune dışında sadece RD-TCGS-2 numunesinde daha düşük, % 1.10 oranında bulunduğu belirlenmiştir. Metil öjenol bileşiği ise sadece RD-1 Kuru, RD-4 Kuru, RD-11 Kuru, RD-TCGS-1 kodlu numunelerde tespit edilememiştir. Numuneler arasındaki bir diğer farklı durum ise 1,8-sineol bileşiğinin varlığına sadece Isparta kaynaklı olan gül yağı ve gül suyunda rastlanmış olmasıdır. RD-4 Kuru numunesi hariç tüm numunelerde *cis*-rozoksit ve *trans*-rozoksit bileşiği değişen oranlarda gözlenmiştir. Geraniol ise RD-4 Kuru ve RD-TCGS-3 hariç tüm numunelerde değişik oranlarda gözlenmiştir. Çok düşük konsantrasyonlarda dahi güçlü bir aromatik etkiye sahip olan ve parfümeride kullanılan *β*-damaskenon bileşiği RD-1 Dond. (% 0.13), RD-2 Kuru (% 0.24), RD-3 Kuru (% 0.46), RD-TCGS-1 (% 0.30) kodlu gül sularında tespit edilmiştir. Buna karşılık RD-TCGS-1 kodlu gülsuyuna, parfümeri sanayinde koku verici olarak kullanılan sentetik bir bileşiğin (*α*-(triklorometil) benzil asetat = Rose asetat) (% 6.02) ilave edilmiş olduğunun tespit edilmesi ise bazı gül sularının doğallıkları konusunda şüphe oluşturmuştur (Tablo 4.13. - Tablo 4.15.).

Etkin, kaliteli ve güvenli bir ürün için gerekli prosedürler yerine getirilmelidir. Yukarıda ayrıntılarıyla belirttiğimiz kalite çalışmaları, ürünün etkin olması halinde anlamlıdır. *Rosa damascena*'nın kozmetikteki kullanılış amaçları dikkate alındığında ve etkileri ile ilgili pek fazla araştırma olmaması bizi matriks metalloproteinaz

inhibitör etki çalışmasına yönlendirmiştir. Burada esas aldığımız nokta, *Rosa damascena*'dan elde edilen uçucu yağ, yağ altı suyu, posa suyu ve farklı solvanlarla hazırlanan ekstrelerin, kollajen sentezinin engellenmesine neden olan matriks metalloproteinaz enzimlerini inhibe edip etmediklerini araştırmak olmuştur. Kollajen sentezi, sadece cilt yaşlanmasını geciktirmek için değil kıkırdak dokular için de önemlidir. Osteoartrit (OA), kıkırdağın eklemlerde bozulmasıyla karakterize, kemiklerin birbirine sürtünmesine ve sertlik, ağrı, hareket bozukluğuna neden olan kronik bir hastalıktır. Hastalık, en çok diz, el, ayak ve omurgadaki eklemleri etkilemekte, omuz ve kalça eklemlerinde nadiren görülmektedir. OA, normal olarak yaşlanma ile ilişkili olmakla birlikte, obezite, egzersiz eksikliği, genetik yatkınlık, kemik yoğunluğu, mesleki yaralanma, travma ve cinsiyet de dahil olmak üzere değiştirilebilir veya değiştirilemeyen çeşitli risk faktörleri ile ilişkilidir (139). 60 yaş üzeri tüm yetişkinlerin yaklaşık % 10-15'i farklı derecelerde osteoartritten muzdariptir ve kadınlarda görülme sıklığı erkeklere nazaran daha yüksektir. WHO verilerine göre 2050 yılında 130 milyon kişinin osteoartrite yakalanacağı ve 40 milyon kişinin ise ciddi rahatsızlık yaşayacağı öngörülmüştür (140).

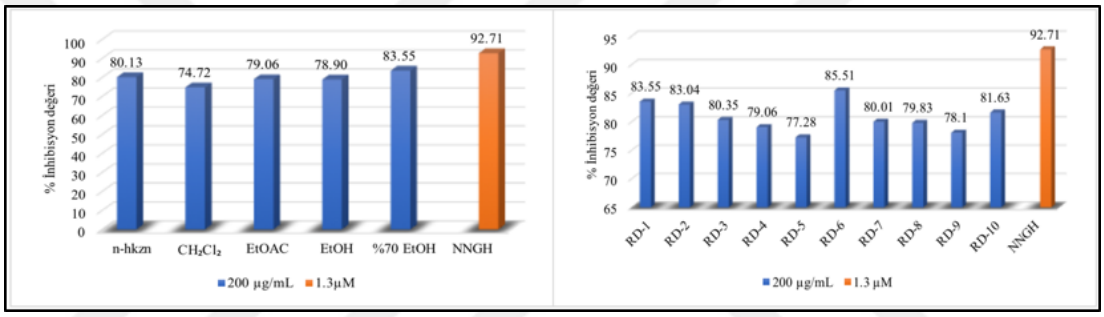
Matriks metalloproteinazlar (MMPs) hücrelerden salınarak plazma membranına bağlanan, ekstraselüler matriksin yıkımına, dolayısı ile kollajenin azalmasına neden olan Zn^{++} ve Ca^{++}'a bağımlı bir nötral endopeptidaz ailesidir (141).

Tez çalışması kapsamında, örneklerimizin kollejenazlar grubundan MMP-1, MMP-8, MMP-13 enzimleri, jelatinazlar grubundan MMP-2, MMP-9 ve stromelisinler grubundan MMP-3 enzimleri üzerindeki inhibe edici etkileri çalışılmıştır. Kollajenazlar grubundan MMP-1, 8 ve 13, cilt ekstraselüler matriksini parçalayarak cilt yaşlanmasına neden olmakta, yine Kollajenazlar grubundan tip II ve tip X kıkırdağı parçalayan MMP-1 ve 8, jelatinazlar grubundan tip I kıkırdağı parçalayan MMP-2 ve 9, stromelisinler grubundan en fazla sinovyal hücrelerde bulunan MMP-3 osteoartrite neden olan enzimlerdir (36).

Tez çalışması kapsamında Isparta gülünün (RD-1) 5 farklı ekstresi (*n*-hekzan, diklorometan, etilasetat, etanol, % 70 etanol) 6 farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 200, 400 ve 800 µg/mL) araştırılmış ve % 70'lik etanollü ekstrenin çalışılan tüm MMP enzimleri üzerinde belirgin inhibitör etki göstermesi nedeniyle diğer gül numunelerinin sadece % 70'lik etanollü ekstreleri çalışılmıştır. Ekstrelere ilaveten

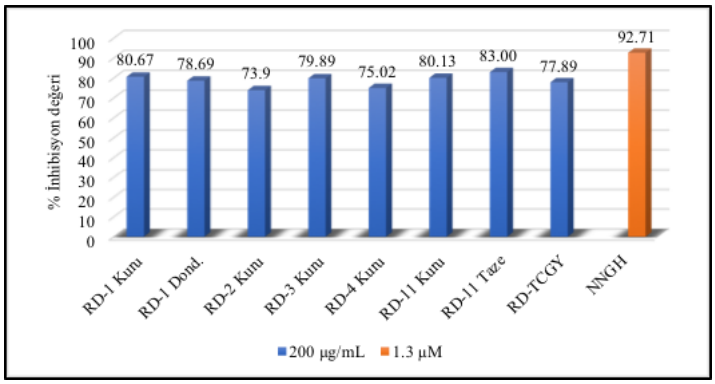
RD-1 Kuru, RD-11 Kuru ve RD-11 Taze kodlu Isparta gülleri ile RD-2 Kuru, RD-3 Kuru ve RD-4 Kuru kodlu İran gül petallerinden hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağlar ve yağ altı suları da MMP enzim inhibisyonu açısından araştırılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca 6 ay derin dondurucuda saklanmış taze gül petallerinden (RD-1 Dond.) hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağ, RD-TCGY kodlu yüksek kalite ticari gül yağı; RD-11 Taze kodlu numuneden elde edilen posa suyu ve RD-TCGS-1, RD-TCGS-2, RD-TCGS-3 ve RD-TCGS-4 kodlu 4 farklı ticari gül suyunun MMP enzimlerini inhibe edip etmedikleri araştırılmıştır. Tüm enzim deneylerinde karşılaştırma için NNGH pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

RD-6 numunesi MMP-1 enzimini en yüksek oranda inhibe eden örnek olmuştur (Şekil 5.5.).



Şekil 5.5. RD-1 ekstrelerinin ve farklı RD petallerinden elde edilen % 70'lik EtOH ekstrelerinin 200 µg/mL konsantrasyonda MMP-1 inhibisyon yüzdeleri.

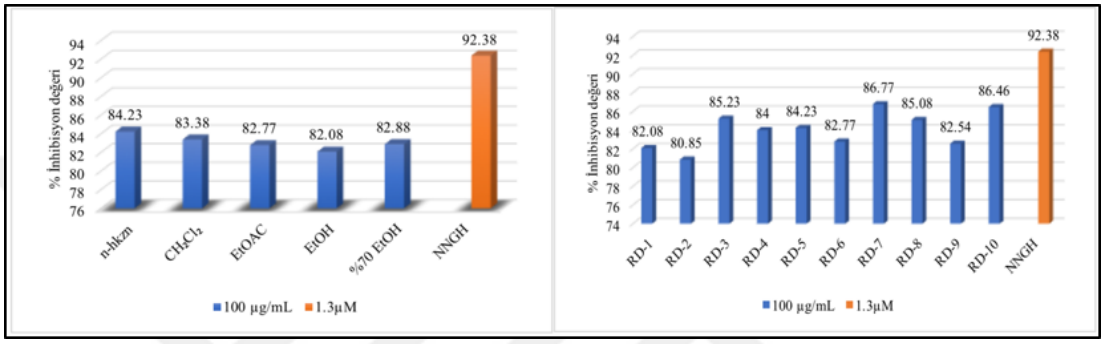
MMP-1 enzimini en yüksek oranda inhibe eden uçucu yağın, Isparta gülünden elde edilen uçucu yağlar olduğu gözlenmiştir. Kuru ve taze bitkilerden elde edilen uçucu yağların MMP-1 inhibitör etkileri ticari gül yağının etkisi ile karşılaştırıldığında ticari gül yağının etkisinin diğerlerine göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. En yüksek MMP-1 inhibitör etkiyi ise RD-11 Taze kodlu uçucu yağ göstermiştir (Şekil 5.6.).



Şekil 5.6. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 200 µg/mL konsantrasyonda MMP-1 inhibisyon yüzdeleri.

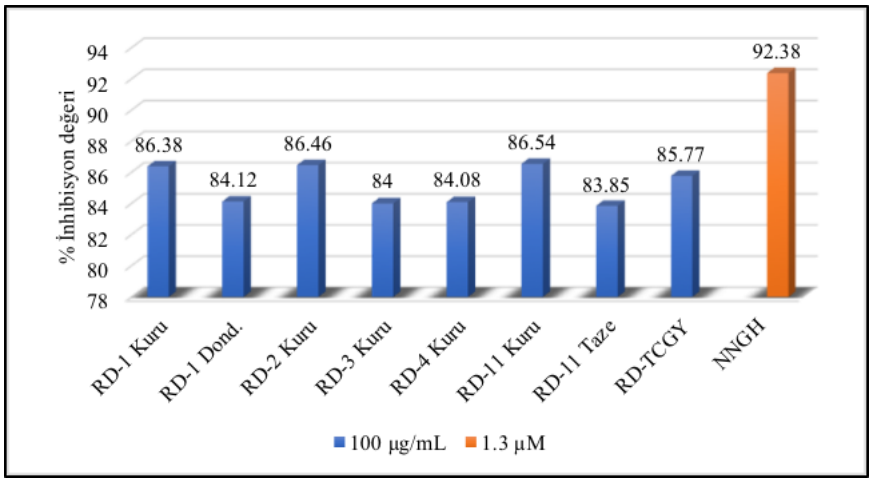
Gül sularının ve posa suyunun MMP-1 enzimi üzerindeki inhibe edici etkileri incelendiğinde en yüksek etki % 85.88 ile yine RD-11 Taze kodlu Isparta gülünde tespit edilmiştir. Posa suyunda ise etki oldukça düşük gözlenmiştir (% 42.43).

RD-1 ekstrelerinde MMP-2 enzim inhibisyonları incelendiğinde tüm ekstrelerde en yüksek inhibisyonun 100 µg/mL konsantrasyonda olduğu gözlenmiştir. Şekil 5.7.'de RD-1 ekstrelerinin ve 10 farklı gül numunesinin % 70'lik etanollü ekstrelerinin MMP-2 inhibisyon yüzdeleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir.



Şekil 5.7. RD-1 ekstrelerinin ve farklı RD petallerinden elde edilen % 70'lik etanollü ekstrelerin 100 µg/mL konsantrasyonda MMP-2 inhibisyon yüzdeleri.

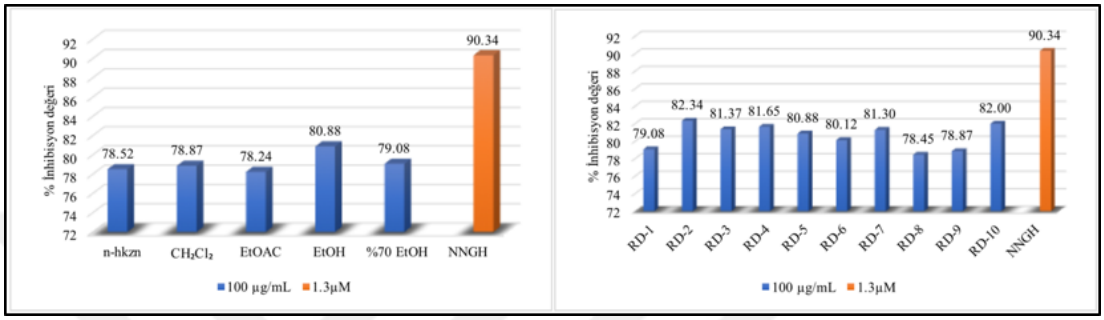
Uçucu yağların 100 µg/mL konsantrasyonda MMP-2 enzimi üzerindeki inhibitör etkileri incelendiğinde hemen hemen hepsinin etkili olduğu gözlenmiştir. Isparta gülünden (RD-11 Kuru) elde edilen uçucu yağın MMP-2 enzimini % 86.54 ile en yüksek oranda inhibe ettiği görülmüştür (Şekil X.).



Şekil 5.8. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 100 µg/mL konsantrasyonda MMP-2 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

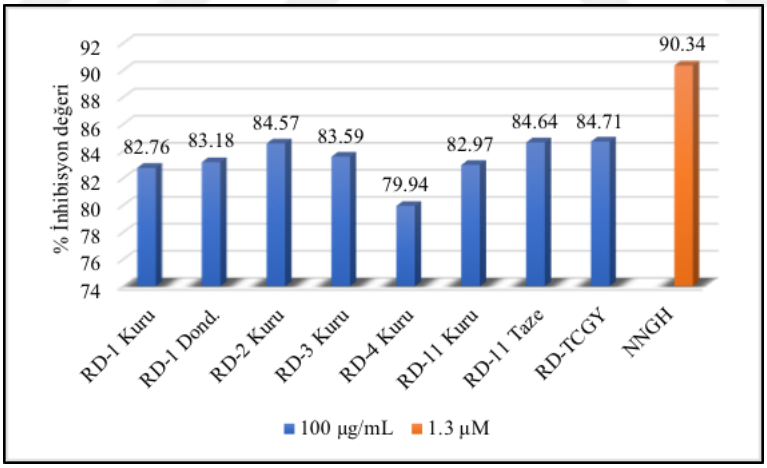
Gül sularının ve posa suyunun MMP-2 enzimi üzerindeki inhibe edici etkileri incelendiğinde en yüksek etki % 85.23 ile TCGS-4 kodlu ticari gül suyunda tespit edilmiştir. Posa suyunda etki oldukça düşük gözlenmiştir (% 48.30).

MMP-3 enzim inhibisyonları incelendiğinde, 10 farklı gül numunesinin 100 µg/mL konsantrasyonda % 70'lik etanollü ekstrelerinin hemen hemen hepsinin MMP-3 enzimi üzerindeki inhibitör etkileri yüksek bulunmuştur (Şekil 5.9.).



Şekil 5.9. RD-1 ekstrelerinin ve farklı RD petallerinden elde edilen % 70'lik EtOH ekstrelerinin 100 µg/mL konsantrasyonda MMP-3 inhibisyon yüzdeleri.

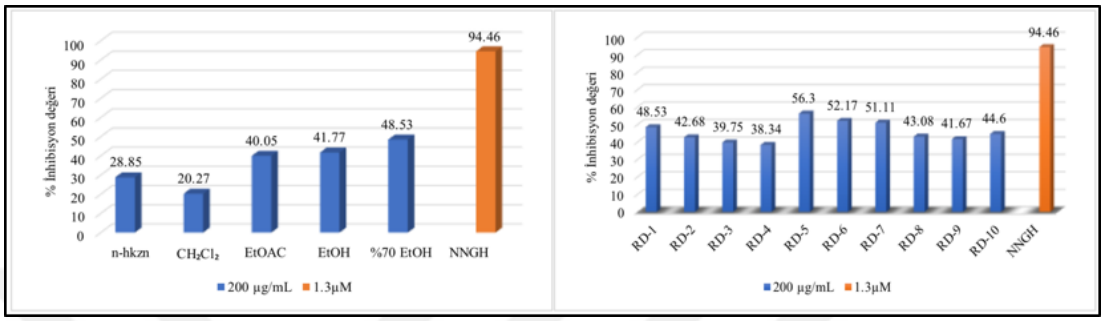
Uçucu yağlar ise MMP-3 enzimini 100 µg/mL konsantrasyonda yüksek oranda inhibe etmişlerdir (Şekil 5.10.).



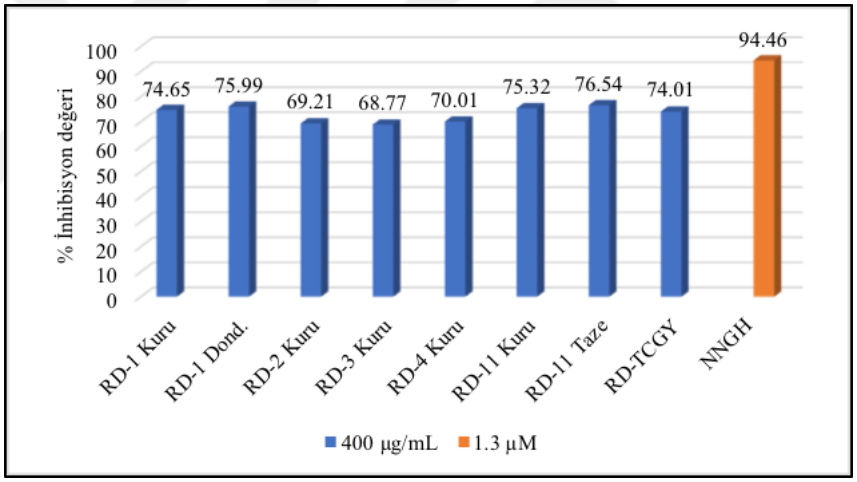
Şekil 5.10. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 100 µg/mL konsantrasyonda MMP-3 inhibisyon yüzdeleri grafiği.

Gül sularının ve posa suyunun MMP-3 enzimi üzerindeki inhibe edici etkileri incelendiğinde en yüksek etki % 88.65 ile TCGS-4 kodlu ticari gül suyunda tespit edilmiştir. Posa suyunda etki oldukça düşük gözlenmiştir (% 51.09).

En düşük inhibitör etki MMP-8 ve MMP-13 enzimleri üzerinde görülmüştür. Uçucu yağların, % 70'lik etanol ekstrelerinin MMP-8 üzerinde daha etkili olduğu (RD-11 Taze % 76.54) gözlenmiştir (Şekil 5.12.). RD-5 kodlu petallerden elde edilen % 70'lik etanollü ekstre % 56.3 ile MMP-8'i en fazla inhibe eden ekstre olmuştur. Isparta gülünün inhibisyon yüzdesi ise % 48.53'te kalmıştır (Şekil 5.11.).

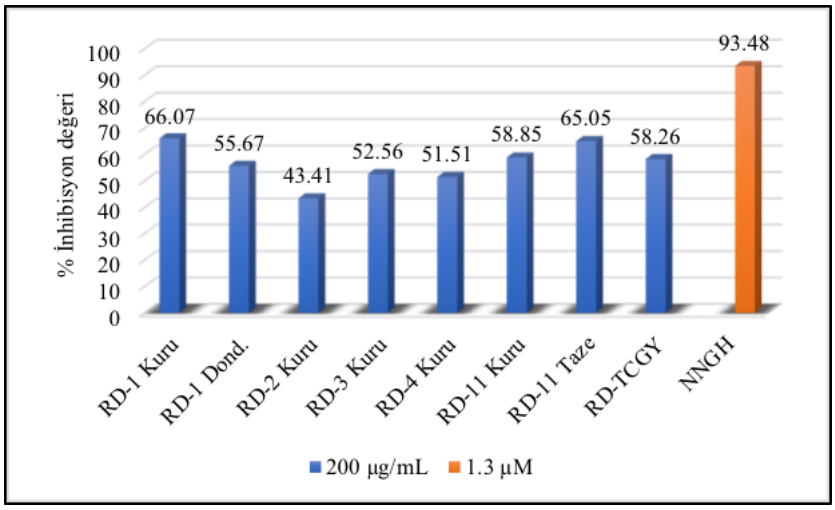


Şekil 5.11. RD-1 ekstrelerinin ve farklı RD petallerinden elde edilen % 70'lik EtOH ekstrelerinin 200 µg/mL konsantrasyonda MMP-8 inhibisyon yüzdeleri.



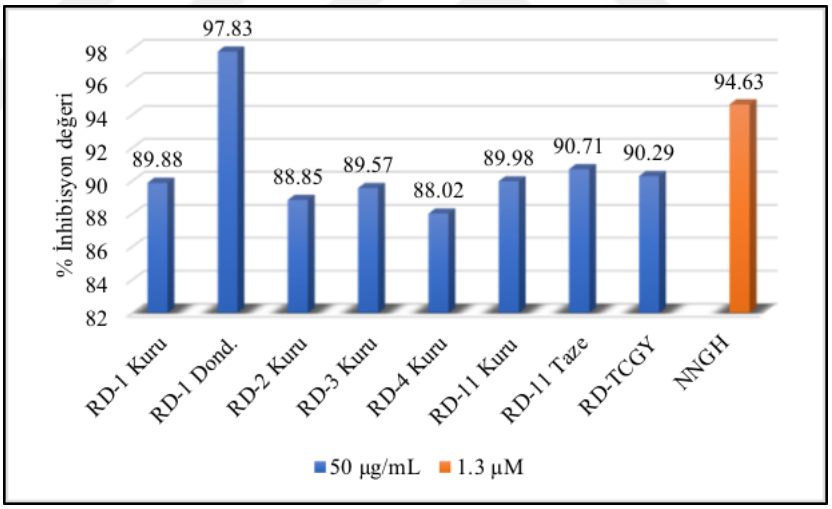
Şekil 5.12. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 400 µg/mL konsantrasyonda MMP-8 inhibisyon yüzdeleri.

RD-1'in % 70'lik EtOH ekstrelerinin 200 µg/mL konsantrasyondaki MMP-13 inhibitör etkileri % 57.80 olup en yüksek etki RD-10 petal ekstrelerinde % 75.84 olarak bulunmuştur (Bkz. Tablo 4.37.). Isparta güllerinden elde edilen uçucu yağlar, % 66.07 ve % 65.05 ile en yüksek MMP-13 inhibitör etkili uçucu yağlar olmuştur (Şekil 5.13.).



Şekil 5.13. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 200 µg/mL konsantrasyondaki MMP-13 inhibisyon yüzdeleri.

RD-1 ekstrelerinin MMP-9 enzim inhibitör etkileri incelendiğinde, 10 farklı gül numunesinin % 70'lik etanollü ekstreleri, uçucu yağlar ve gül suları için en yüksek inhibisyon 50 µg/mL konsantrasyonda % 85'in üzerinde gözlenmiştir (Şekil 5.14.).

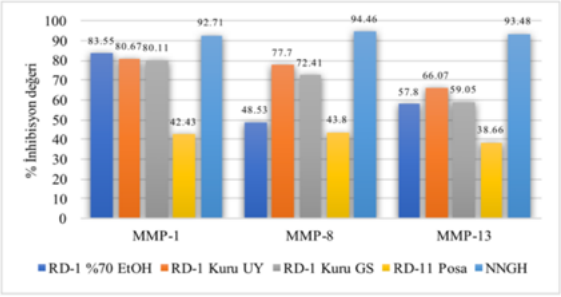


Şekil 5.14. Farklı *Rosa damascena* petallerinden elde edilen uçucu yağların 50 µg/mL konsantrasyondaki MMP-9 inhibisyon yüzdeleri.

Matriks metalloproteinaz enzimlerinin inhibisyonu ile ilgili sonuçları topluca değerlendirecek olursak, Isparta gülünün petallerinden elde edilen % 70'lik etanollü ekstre, uçucu yağ ve gül suyunun kollajenaz grubundan MMP-1 enzimini % 80 in üzerinde MMP-8'i sadece uçucu yağ ve gül suyunun % 70'in üzerinde, MMP-13'ü uçucu yağ ve gül suyunun orta derecede inhibe ettiği gözlenmiştir. Posa suyunun inhibitör etkisi ise % 40 civarında kalmıştır (Şekil 5.15.).

Numune	MMP-1	MMP-8	MMP-13
RD-1 %70 EtOH*	83.55	48.53	57.8
RD-1 Kuru UY*	80.67	77.7	66.07
RD-1 Kuru GS	80.11	72.41	59.05
RD-11 Posa	42.43	43.8	38.66
NNGH	92.71	94.46	93.48

*: Karşılaştırma 200 µg/mL konsantrasyon üzerinden yapılmıştır.



Şekil 5.15. MMP-1, MMP-8, MMP 13 karşılaştırması.

UV ışınlarının zararlı etkilerinden koruyup korumadıkları da güneşten koruyucu faktör (SPF) ölçülerek hesaplanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara gore % 70'lik etanollü ekstrenin SPF değeri 5.19, *n*-butanol ekstresinin SPF değeri ise 12.82 dir. Bu sonuçlar, Fitzpatrick sınıflandırmasının Fototip III ve IV grubuna uyum göstermektedir (Tablo 5.2.) (142).

Tablo 5.2. Fitzpatrick fototipleri ve tavsiye edilen SPF değerleri.

	Fototip	**Tavsiye Edilen SPF**
Fototip I	Kolay yanar, hiç bronzlaşmaz	>40
Fototip II	Kolay yanar, çok az bronzlaşır	20-40
Fototip III	Orta derecede yanar; orta derecede bronzlaşır	7-20
Fototip IV	Düşük derecede yanar; çok iyi bronzlaşır	6-15
Fototip V	Nadiren yanar	5-10
Fototip VI	Hiçbir zaman yanmaz	4

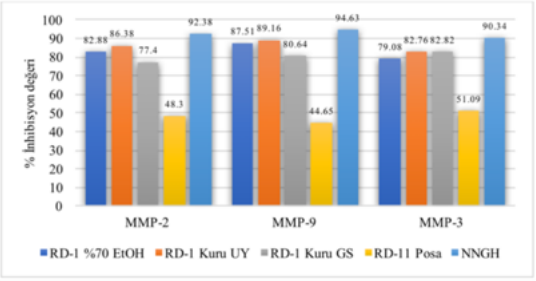
Türk toplumunun Fitzpatrick sınıflamasındaki yeri de Fototip III ve Fototip IV sınıfına denk düşmektedir.

Sonuç olarak, gül yağı ve gül suyunun MMP-1,8 ve 13 enzimlerini, % 70'lik etanollü ekstrelerin, özellikle MMP-1 enzimini yüksek oranda inhibe ettikleri ve % 70'lik etanollü ekstrenin SPF değerinin 5.19, *n*-butanol ekstresinin SPF değerinin ise 12.82 olduğu tespit edilmiş ve cilt yaşlanmasına karşı etkileri kanıtlanmıştır.

Enzim inhibitörü etki sonuçları değerlendirildiğinde, posa hariç diğer numunelerin MMP-2 enzimini % 77'nin üzerinde inhibe ettikleri, % 70'lik etanollü ekstrenin, uçucu yağın ve gül suyunun 100 µg/mL konsantrasyonda MMP-2, MMP-9 ve MMP-3 ü belirgin biçimde inhibe ettiği gözlenmiştir (Şekil 5.16.). Bu sonuçlar, Isparta gülünden elde edilecek % 70'lik etanollü ekstre, uçucu yağ ve gül suyu içeren formülasyonların osteoartritte iyi bir tedavi alternatifi olabileceğini göstermiştir.

Numune	MMP-2	MMP-9	MMP-3
RD-1 %70 EtOH*	82.88	87.51	79.08
RD-1 Kuru UY*	86.38	89.16	82.76
RD-1 Kuru GS	77.4	80.64	82.82
RD-11 Posa	48.3	44.65	51.09
NNGH	92.38	94.63	90.34

*: Karşılaştırma 100 µg/mL konsantrasyon üzerinden yapılmıştır.



Şekil 5.16. MMP-2, MMP-9, MMP 3 karşılaştırması.

Hemen hemen tüm hastalıkların ve cilt yaşlanmasının etiyolojisinde serbest radikaller ve oksidasyon önemli role sahiptir. Isparta gülü (RD-1) petallerinden hazırlanan 5 farklı ekstre ile 10 farklı *R. damascena* petallerinden elde edilen % 70'lik etanollü ekstrelerin antioksidan kapasiteleri 6 farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 200, 400 ve 800 µg/mL) *β*-karoten linoleik asit, FRAP ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Aynı standart madde ile karşılaştırma yaparak etkileri değerlendirebilmek adına Gallik asit bileşiği tüm yöntemlerde ortak referans bileşik olarak kullanılmıştır. *β*-karoten linoleik asit yönteminde gallik asite ilaveten BHA; FRAP ve Fosfomolibdat yöntemlerinde ise askorbik asit ikinci standart madde olarak kullanılmıştır.

β-karoten linoleik asit yönteminde RD-1 ekstrelerinin tümü konsantrasyona bağlı olarak artış sergilemiş ve en yüksek antioksidan kapasite 800 µg/mL konsantrasyonda gözlenmiştir (Bkz. Tablo 4.41.). Sonuçlardan da görüleceği üzere % 70'lik etanollü ekstrenin gallik asitten daha yüksek (1441.88 mg GAE/g ekstre) antioksidan kapasiteye sahip olduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde RD-1 - RD-10 % 70'lik etanollü ekstrelerin tümü konsantrasyona bağlı olarak artış sergilemiş ve en yüksek antioksidan kapasite 800 µg/mL konsantrasyonda gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre tüm ekstreler gallik asitten daha etkili bulunmasına karşın en yüksek etki 1583.7 mg GAE / g ekstre olacak şekilde RD-2 ekstresinde gözlenmiştir.

FRAP yönteminde RD-1 numunesinin 5 farklı ekstresinin demir redükleme kapasiteleri incelenmiş ve sonuçlar askorbik asit ekivalan (ASKE) ve gallik asit ekivalan (GAE) olarak verilmiştir. % 70'lik etanollü ekstre 479.8 mg ASKE / g ekstre ve 165.3 mg GAE / g ekstre olacak şekilde etkili bir redükleme potansiyeli göstermiştir. RD-1 - RD-10 % 70'lik etanollü ekstrelerinin demir redükleme potansiyelleri aynı şekilde askorbik asit ve gallik asit ekivalan olarak hesaplanmış ve

her iki standarta karşı da en yüksek antioksidan kapasiteyi 819.5 mg ASKE / g ekstre ve 371.4 mg GAE / g ekstre olacak şekilde RD-5 numunesi göstermiştir.

CUPRAC yönteminde RD-1'den hazırlanan farklı ekstrelerin bakır redükleyici kapasiteleri Gallik asit ekivalan (GAE) olarak hesaplanmıştır. 776.6 mg GAE / g ekstre olarak bulunan % 70'lik etanollü ekstre kuvvetli bakır redükleme kapasitesi göstermiştir. RD-1 – RD-10 % 70'lik etanollü ekstrelerinin bakır redükleme kapasiteleri yine gallik asit standart eğrisi kullanılarak hesaplanmış ve en yüksek bakır redükleme kapasitesi 1138.9 mg GAE / g ekstre olacak şekilde RD-5 numunesinde gözlenmiştir.

Fosfomolibdat yönteminde RD-1 farklı ekstrelerinin antioksidan kapasiteleri Gallik asit ekivalan (GAE) ve askorbik asit ekivalan (ASKE) olarak hesaplanmıştır. % 70'lik etanollü ekstrenin en kuvvetli antioksidan kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir (Bkz. Şekil 4.98.). RD-1 – RD-10 % 70'lik etanollü ekstrelerinin fosfomolibdat yöntemi ile toplam antioksidan kapasiteleri aynı şekilde gallik asit ve askorbik asit standart eğrileri kullanılarak hesaplanmış ve her iki standart için de en yüksek antioksidan kapasiteyi 425.8 mg GAE / g ekstre ve 311.7 mg ASKE / g ekstre olacak şekilde RD-1 numunesinde gözlenmiştir.

RD-1 numunesinin 5 farklı ekstresi ile 10 farklı *R. damascena* % 70'lik etanollü ekstrelerinin DDPH, ABST ve NO radikalleri üzerindeki süpürücü kapasiteleri 6 farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 200, 400 ve 800 μg/mL) incelenmiştir. Tüm radikal süpürücü kapasite yöntemlerinde gallik asit bileşiği ortak referans bileşik olarak kullanılmıştır. DPPH ve NO yönteminde gallik asite ilaveten askorbik asit ABTS yönteminde troloks ikinci standart bileşik olarak kullanılmıştır.

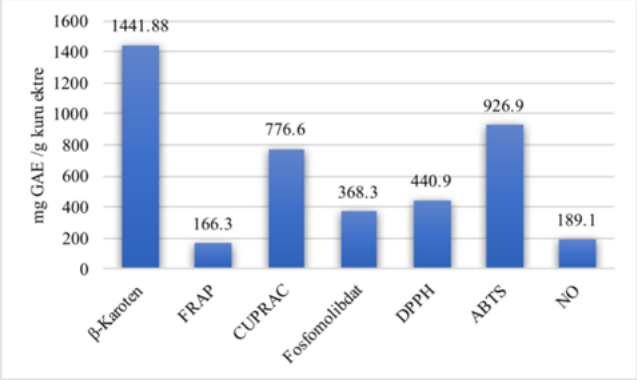
RD-1 numunesinin farklı ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü kapasiteleri incelendiğinde en yüksek etki % 70'lik etanollü ekstrede gözlenmiştir. Ekstreler arasındaki karşılaştırma gallik asit ekivalan olarak hesaplanmıştır. En yüksek radikal süpürücü kapasite 440.9 mg GAE / g ekstre olarak % 70'lik etanollü ekstrede gözlenmiştir. RD-1 – RD-10 % 70'lik etanollü ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü kapasiteleri aynı şekilde gallik asite ekivalan olarak karşılaştırılmış ve ekstrelerin birbirlerine oldukça yakın bir radikal süpürücü kapasite gösterdikleri tespit edilmiştir (Bkz. Şekil 4.113.).

RD-1 numunesinin farklı ekstrelerinin ABTS radikal süpürücü kapasiteleri incelendiğinde % 70'lik etanollü ekstrenin kuvvetli etkili olduğu gözlenmiştir. Ekstreler arasındaki karşılaştırma gallik asit ekivalan olarak hesaplanmıştır. En yüksek radikal süpürücü kapasite 908.2 mg TRLE / g ekstre ve 926.9 mg GAE / g ekstre olarak % 70'lik etanollü ekstrede gözlenmiştir. RD-1 - RD-10 % 70'lik etanollü ekstrelerinin ABTS radikal süpürücü kapasiteleri aynı şekilde troloks ve gallik asite ekivalan olarak karşılaştırılmış ve ekstrelerin birbirlerine oldukça yakın bir radikal süpürücü kapasite gösterdikleri tespit edilmiştir (Bkz. Şekil 4.128.).

RD-1 numunesi farklı ekstrelerinin NO radikal süpürücü kapasiteleri incelendiğinde % 70'lik etanollü ekstrenin kuvvetli etkili olduğu gözlenmiştir. Ekstreler arasındaki karşılaştırma askorbik asit ve gallik asit ekivalan olarak hesaplanmıştır. En yüksek NO radikal süpürücü kapasite 977.7 mg ASKE / g ekstre ve 189.1 mg GAE / g ekstre olarak % 70'lik etanollü ekstrede gözlenmiştir. RD-1 - RD-10 % 70 lik etanollü ekstrelerinin NO radikal süpürücü kapasiteleri aynı şekilde askorbik asit ve gallik asit ekivalan olarak karşılaştırılmış ve 992.1 mg ASKE / g ekstre ve 240.9 mg GAE / g ekstre ile en yüksek antioksidan kapasite RD-5 numunesinde tespit edilmiştir.

Yöntem	GAE*
β-Karoten	1441.88
FRAP	166.3
CUPRAC	776.6
Fosfomolibdat	368.3
DPPH	440.9
ABTS	926.9
NO	189.1

*: mg gallik asit / g ekstre.



Şekil 5.17. RD-1 % 70 EtOH ekstresinin tüm antioksidan ve radikal süpürücü kapasite yöntemlerinde karşılaştırılması

Yapılan tüm radikal süpürücü ve antioksidan kapasite yöntemlerinde ortak referans olarak kullanılan gallik asit ile karşılaştırma yapıldığında (Şekil 5.17.) RD-1 % 70 etanollü ekstrenin en yüksek antioksidan kapasiteyi *β*-Karoten linoleik asit sisteminde, en düşük antioksidan kapasiteyi FRAP yönteminde sergilediği; en yüksek radikal süpürücü kapasiteyi ABTS yönteminde, en düşük radikal süpürücü kapasiteyi NO yönteminde sergilediği gözlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında yapılması hedeflenen botanik, fitokimyasal, analitik ve biyolojik etki çalışmalarının tamamı gerçekleştirilmiştir.

- Avrupa ve Türk Farmakope standartlarını belirlemek üzere İTK, HPTLC ve HPLC metot geliştirme çalışmaları ve HPLC yöntemi için ICH'te belirtilen validasyon parametreleri uygulanarak yöntemin geçerliliğinin ispatlanması çalışmaları eş zamanlı olarak ilk kez gerçekleştirilmiştir. Avrupa ve Türk Farmakopesinde, tarafımızdan belirlenen kemferol 3-*O*-galaktozit ve kemferol 3-*O*-glukozit bileşikleri işaretleyici (biomarker) bileşikler olarak yer alacaktır.
- Isparta'dan temin edilen *Rosa damascena* (Isparta Gülü) bitkisinin petal morfolojisi ve toz drog anatomisi incelenmiş ve ayırıcı karakterlerin çizimleri yapılmıştır. Bu sayede bitki petallerinin makroskobik ve mikroskobik olarak tanınması için belirleyici karakterler tespit edilmiştir.
- Farklı lokasyonların ve kurutmanın içeriğe olan etkilerini belirlemek üzere Türkiye, İran ve Pakistan güllerinin flavonoit, uçucu yağ, yağ altı suyu suyu ve posa suyunun içerikleri HPLC ve GC/GC-MS ile ilk kez eş zamanlı gerçekleştirilmiştir.
- Cilt yaşlanmasına neden olan MMP-1, MMP-8 ve MMP-13 enzimlerinin; *R. damascena* bitkisinden hazırlanan farklı polaritede toplam 5 ekstre, 10 farklı lokaliteden temin edilen gül petallerinin % 70'lik ekstreleri, taze ve kuru bitkiden elde edilen uçucu yağları ve gül suları ile ticari gül yağı ve gül suları vasıtasıyla inhibe edilme oranlarının tespit edilmesi, bu tez ile ilk kez gerçekleştirilmiştir.
- Osteoartrite neden olan MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8 ve MMP-9 enzimlerinin; *R. damascena* bitkisinden hazırlanan farklı polaritede toplam 5 ekstre, 10 farklı lokaliteden temin edilen gül petallerinin % 70'lik ekstreleri, taze ve kuru bitkiden elde edilen uçucu yağları ve gül suları ile ticari gül yağı ve gül suları vasıtasıyla inhibe edilme oranlarının tespit edilmesi, bu tez ile ilk kez gerçekleştirilmiştir.
- *R. damascena* bitkisinden hazırlanan farklı polaritede toplam 5 ekstrenin FRAP, CUPRAC, *β*-karoten linoleik asit ve fosfomolibdat yöntemleri ile örneklerin antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir DPPH, NO ve ABTS yöntemleri ile radikal süpürücü kapasiteleri ve SPF değerleri eş zamanlı olarak ilk kez saptanmıştır.

Avrupa ve Türk Farmakope monograflarının hazırlanması için Farmakope standartlarının belirlenmesi çalışmaları bu tezin bilimsel kalitesini ve bugüne kadar bu bitki ile yapılan çalışmalardan farklılığını göstermektedir.

R. damascena bitkisinin MMP enzimlerini inhibe edici etkisinin yanında, güneşten koruyucu etkilerinin ve antioksidan özelliklerinin tayin edilmesi, daha sonra yapılacak farklı fitokozmetik ve osteoartrite etkili formülasyonlara olanak sağlaması ve ürün çeşitliliği sunması açısından önemlidir.

İlerleyen çalışmalarda *R. damascena* bitkisinin GC-MS ile belirlenen metabolomik profillerinin, matriks metalloproteinaz inhibitör etki ile korelasyonlarının yorumlanması;

Bitkinin potansiyel cilt gençleştirici ve anti-osteoartrit etkilerinin daha ileri çalışmalarla teyit edilmesi ve ticari bir ürüne dönüştürülebilmesi için formülasyon çalışmalarına başlanması;

Geliştirilen formülasyonların çeşitli parametrelerde validasyonlarının yapılması ve patent işlemlerinin gerçekleştirilebilmesi için çalışmaların başlatılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Calixto JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). Braz J Med Biol Res. 2000;33:179–89.
2. Mahboubi M. Rosa damascena as holy ancient herb with novel applications. J Tradit Complement Med. 2016;6:10–6.
3. Ait A, Said H, Derfoufi S, Sbai I, Benmoussa A. Research Article Ethnopharmacological survey of traditional medicinal plants used for the treatment of infantile colic in Morocco. J Chem Pharm Res. 2015;7(7):664–71.
4. Andalib S, Vaseghi A, Vaseghi G, Naeini AM. Sedative and hypnotic effects of Iranian traditional medicinal herbs used for treatment of insomnia. Excli J. 2011;10:192–7.
5. Krajian H, Odeh A. Polycyclic aromatic hydrocarbons in medicinal plants from Syria. Toxicol Environ Chem. 2013;95(6):942–53.
6. Carmona MD, Llorach R, Obon C, Rivera D. 'Zahraa', a Unani multicomponent herbal tea widely consumed in Syria: Components of drug mixtures and alleged medicinal properties. J Ethnopharmacol. 2005;102(3):344–50.
7. European Medicines Agency: EMA - Annual report of the European Medicines Agency, Erişim Adresi: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_Community_herbal_ monograph/ 2014/09/ WC500172426.pdf, (Erişim tarihi: 07.07.2014).
8. Gholamhoseinian a, Fallah H, Sharifi far F. Inhibitory effect of methanol extract of *Rosa damascena* Mill. flowers on alpha-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia in normal and diabetic rats. Phytomedicine. 2009;16(10):935–41.
9. Zaidi SF, Muhammad JS, Shahryar S, Usmanghani K, Gilani AH, Jafri W ve ark. Anti-inflammatory and cytoprotective effects of selected Pakistani medicinal plants in Helicobacter pylori-infected gastric epithelial cells. J Ethnopharmacol. 2012;141(1):403–10.
10. Victoria J, Arunmozhi V. Antibacterial activity of hibiscus rosa-sinensis and rosa-damascena petals against dental pathogens. Int J Integr Sci Innov Technol. 2014;3(3):1–6.
11. Mahmood N, Piacente S, Pizza C, Burke A, Khan AI, Hay AJ. The Anti-HIV Activity and Mechanisms of Action of Pure Compounds Isolated from *Rosa damascena*. 1996;229:73–9.
12. Elkhateeb A, Matsuura H, Yamasaki M, Maede Y, Katakura K, Nabeta K. Anti-babesial compounds from *Rosa damascena* Mill. 2007;2(7):765–9.
13. Huan Wang, Juan-Xia Yang, Jie Lou, Limei Li, Gui-You Liu, Qiu-Fen Hu Y-QY and X-MG. A New Isoprenylated Aurone from the Flowers of *Rosa damascene* and Its Cytotoxicities. Asian J Chem. 2014;26(21): 7122–24.
14. Jazayeri SB, Amanlou A, Ghanadian N, Pasalar P, Amanlou M. A preliminary investigation of anticholinesterase activity of some Iranian medicinal plants commonly used in traditional medicine. DARU, J Pharm Sci. 2014;22(1):1–5.
15. Moein S, Moein M, Khoshnoud MJ, Kalanteri T. In vitro antioxidant properties evaluation of 10 Iranian medicinal plants by different methods. Iran Red Crescent Med J. 2012;14(12):771.

16. Tabrizi H, Mortazavi SA, Kamalinejad M. An in vitro evaluation of various Rosa damascena flower extracts as a natural antisolar agent. Int J Cosmet Sci. 2003;25(6):259–65.
17. Kwon EK, Lee DY, Hyungjae L, Kim DOK, Baek NIN, Kim YE ve ark. Flavonoids from the buds of *Rosa damascena* inhibit the activity of 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase and angiotensin I-converting enzyme. J Agric Food Chem. 2010;58(2):882–6.
18. A Gholamhoseinian, Bydollah Shahouzehi FS. Inhibitory effect of some plant extracts on pancreatic lipase. International journal of pharmacology. 2010;6: 18–24.
19. Homayoun M, Seghatoleslam M, Pourzaki M, Shafieian R, Hosseini M, Ebrahimzadeh Bideskan A ve ark. Anticonvulsant and neuroprotective effects of *Rosa damascena* hydro- alcoholic extract on rat hippocampus. Avicenna J Phytomed. 2015;5(3):260–70.
20. Esmaeili S, Ghiaee A, Naghibi F, Mosaddegh M. Antiplasmodial Activity and Cytotoxicity of Plants Used in Traditional Medicine of Iran for the Treatment of Fever. Iran J Pharm Res. 2015;14:103–7.
21. Awale S, Tohda C, Tezuka Y, Miyazaki M, Kadota S. Protective Effects of *Rosa damascena* and Its Active Constituent on Aβ(25-35)-Induced Neuritic Atrophy. Evid Based Complement Alternat Med. 2011;2011:131042.
22. Saxena M, Shakya AK, Sharma N, Shrivastava S, Shukla S. Therapeutic efficacy of *Rosa damascena* Mill. on acetaminophen-induced oxidative stress in albino rats. J Environ Pathol Toxicol Oncol. 2012;31(3):193–201.
23. Rakhshandah H. Comparative hypnotic effect of Rosa damascena fractions and Diazepam in Mice. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2007;6:193–7.
24. Arezoomandan R, Kazerani HR, Behnam-Rasooli M. The laxative and prokinetic effects of *Rosa damascena* Mill in rats. Iran J Basic Med Sci. 2011;14(1):9–16.
25. Khaliq T, Mumtaz F, Zia-ur-Rahman, Javed I, Iftikhar A. Nephroprotective potential of *Rosa damascena* Mill flowers, Cichorium intybus linn roots and their mixtures on gentamicin-induced toxicity in albino rabbits. Pakistan Veterinary Journal. 2015;35(1):43–7.
26. Rakhshandah H, Boskabady MH, Mossavi Z, Gholami M, Saberi Z. The differences in the relaxant effects of different fractions of *Rosa damascena* on guinea pig tracheal smooth muscle. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2010;13(3):126–32.
27. Karimi M, Yazdan Asadi S, Parsaei P, Rafieian-Kopaei M, Ghaheri H, Ezzati S. The Effect of Ethanol Extract of Rose (*Rosa damascena*) on Intra-abdominal Adhesions after Laparotomy in Rats. Wounds. 2016 May 1;28(5):167–74.
28. Hoseinpour H, Peel MSSAF, Rakhshandeh H, Forouzanfar A, Taheri M, Rajabi MSO. Evaluation of *Rosa damascena* mouthwash in the treatment of recurrent aphthous stomatitis : A randomized , double-blinded, placebo-controlled clinical trial. Quintessence Int. 2011;42(6):483–92.
29. Bani S, Hasanpour S, Mousavi Z, Mostafa Garehbaghi P, Gojazadeh M. The Effect of *Rosa damascena* Extract on Primary Dysmenorrhea: A Double-blind Cross-over Clinical Trial. Iran Red Crescent Med J. 2014;16(1):1–6.

30. Gharabaghi PM, Tabatabei F, Fard SA, Sayyah-Melli M, Ouladesahebmadarek E, del Azar A, et al. Evaluation of the effect of preemptive administration of Rosa damascena extract on post-operative pain in elective cesarean sections. African J Pharm Pharmacol. 2011;5(16):1950–5.
31. Bikmoradi A, Harorani M, Roshanaei G, Moradkhani S, Falahinia G. The effect of inhalation aromatherapy with damask rose (*Rosa damascena*) essence on the pain intensity after dressing in patients with burns: A clinical randomized trial. Iran J Nurs Midwifery Res. 2016;21(3):247.
32. Nikbakht A, Kafi M. A study on the relationships between Iranian people and Damask rose (*Rosa damascena*) and its therapeutic and healing properties. Acta Horticulturae. 2008. p. 251–4.
33. Maruyama N, Tansho-Nagakawa S, Miyazaki C, Shimomura K, Ono Y, Abe S. Inhibition of Neutrophil Adhesion and Antimicrobial Activity by Diluted Hydrosol Prepared from *Rosa damascena.* Biol Pharm Bull. 2017;40(2):161–8.
34. Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, et al. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. Arch Dermatol. 2002;138(11):1462–70.
35. Nema NK, Maity N, Sarkar BK, Mukherjee PK. Matrix metalloproteinase, hyaluronidase and elastase inhibitory potential of standardized extract of *Centella asiatica*. Pharm Biol. 2013;51(9):1182–7.
36. Öztürk ÖG. Matriks Metalloproteinaz Enzim Ailesi. Arşiv Kaynak Tarama Derg. 2013;22(2):209–20.
37. Nelson KK, Melendez JA. Mitochondrial redox control of matrix metalloproteinases. Free Radic Biol Med. 2004;37(6):768–84.
38. Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: Classification of osteoarthritis of the knee. Arthritis Rheum. 1986;29(8):1039–49.
39. Visse R, Nagase H. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases: Structure, Function, and Biochemistry. Circ Res. 2003;92(8):827–39.
40. Gaide Chevronnay HP, Selvais C, Emonard H, Galant C, Marbaix E, Henriet P. Regulation of matrix metalloproteinases activity studied in human endometrium as a paradigm of cyclic tissue breakdown and regeneration. Biochim Biophys Acta - Proteins Proteomics. 2012;1824(1):146–56.
41. Howell DS, Sapolsky AI, Pita JC, Woessner JF. The pathogenesis of osteoarthritis. Semin Arthritis Rheum. 1976;5(4):365–83.
42. Akkiraju H, Nohe A. Role of Chondrocytes in Cartilage Formation, Progression of Osteoarthritis and Cartilage Regeneration. J Dev Biol. 2015:177–92.
43. Verzijl N, DeGroot J, Thorpe SR, Bank RA, Shaw JN, Lyons TJ, et al. Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. J Biol Chem. 2000;275(50):39027–31.
44. Poljšak B, Dahmane R. Free radicals and extrinsic skin aging. Dermatol Res Pract. 2012;2012:135206.
45. Dutra EA, Almança D, Kedor- ERM, Inês M, Miritello R. Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. Brazilian J Pharm Sci. 2004;40(3):381–5.

46. Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis. Int J Mol Sci. 2016;17(6).
47. Christenhusz MJM, Byng JW. The number of known plants species in the world and its annual increase. Phytotaxa. 2016;261(3):201–17.
48. APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society, 2009;161:105-121.
49. Zhu Z-M, Gao X-F, Fougère-Danezan M. Phylogeny of *Rosa* sections Chinenses and Synstylae (Rosaceae) based on chloroplast and nuclear markers. Mol Phylogenet Evol. 2015;87:50–64.
50. Turkish Plants Data Service (TÜBİVES) (İnternet), *Rosa* L., Erişim Tarihi: 27.01.2018, Erişim Adresi: http://www.tubives.com.
51. Dilmen R, Baydar NG. Yağ Gülü (*Rosa damascena* Mill.)'nde Doku Kültürü Uygulamaları. SDÜ Ziraat Fakültesi Derg. 2016 ;1(2):134–41.
52. Mahboubi M. *Rosa damascena* as holy ancient herb with novel applications. J Tradit Complement Med. 2016;6:10–6.
53. Pal PK. Evaluation, Genetic Diversity, Recent Development of Distillation Method, Challenges and Opportunities of *Rosa damascena*: A Review. J Essent Oil-Bearing Plants. 2013;16(1):1–10.
54. Baziar S, Zakerin A, Rowshan V. Antioxidant Properties and Polyphenolic Compounds of *Rosa damascene* Collected from Different Altitudes. International Journal of Agronomy and Plant Production. 2013;4(11):2937–42.
55. Shafei MMN, Saberi Z, Amini S, Boskabady MH, Shafei MMN, Saberi Z, et al. Pharmacological effects of *Rosa damascena*. Iran J Basic Med Sci. 2011;14(4):295–307.
56. Aslam M, Siddiqui A. *Rosa damascena*: an overview. Eur J Biomed Pharm Sci. 2016;3(3):432–5.
57. Mahmood N, Piacente S, Pizza C, Burke A, Khan AI, Hayt AJ. The anti-HIV activity and mechanisms of action of pure compounds isolated from *Rosa damascena*. Biochem Biophys Res Commun. 1996;229(1):73–9.
58. Kumar N, Bhandari P, Singh B, Gupta AP, Kaul VK. Reversed phase-HPLC for rapid determination of polyphenols in flowers of rose species. J Sep Sci. 2008;31(2):262–7.
59. Yassa N, Masoomi F, Rohani Rankouhi SE, Hadjiakhoondi A. Chemical composition and antioxidant activity of the extract and essential oil of Rosa damascena from Iran, population of Guilan. DARU J Pharm Sci. 2009;17(3):175–80.
60. Kumar N, Singh B, Kaul VK. Flavonoids from *Rosa damascena* Mill. Nat Prod Comm. 2006;1(8):623–6.
61. Papanov G, Malakov P, Tomova K. Aromatic compounds, flavones, and glycosides from extracted flowers of *Rosa damascena*. Nauchni Tr - Plovdiv Univ Paisii Khilendarski. 1984;22:221–6.
62. Velioglu YS, Mazza G. Characterization of Flavonoids in Petals of Rosa damascena by HPLC and Spectral Analysis. J Agric Food Chem. 1991;39(3):463–7.

63. Schieber A, Mihalev K, Berardini N, Mollov P, Carle R. Flavonol glycosides from distilled petals of *Rosa damascena* Mill. Zeitschrift fuer Naturforschung, C J Biosci. 2005;60(5/6):379–84.
64. Bhandari P, Kumar N, Gupta AP, Singh B, Kaul VK. A rapid RP-HPTLC densitometry method for simultaneous determination of major flavonoids in important medicinal plants. J Sep Sci. 2007;30(13):2092–6.
65. Li S, Guo L, Liu C, Zhang Y. Application of supercritical fluid extraction coupled with counter-current chromatography for extraction and online isolation of unstable chemical components from *Rosa damascena*. J Sep Sci. 2013;36(13):2104–13.
66. Gao XM, Yang LY, Huang XZ, Shu LD, Shen YQ, Hu QF, et al. Aurones and isoaurones from the flowers of rosa damascena and their biological activities. Heterocycles. 2013;87(3):583–9.
67. Li YK, Sun JQ, Gao XM, Lei C. New isoprenylated aurones from the flowers of Rosa damascena. Helv Chim Acta. 2014;97(3):414–9.
68. Ali M, Sultana S, Jameel M. Phytochemical investigation of flowers of *Rosa damascena* Mill. International Journal of Herbal Medicine. 2016;179(46):179-83.
69. Kurkcuoglu M, Abdel-Megeed A, Baser KHC. The composition of Taif rose oil. J Essent Oil Res. 2013;25(5):364–7.
70. Gong B, Chen D, Zhao X, Yang X. GC-MS analysis and antioxidant activity of chemical constituents of volatile oil from *Rosa damascena* Mill. Huaxue Yu Shengwu Gongcheng. 2016;33(4):62–5.
71. Vilaplana J, Romaguera C, Grimalt F. Contact dermatitis from geraniol in Bulgarian rose oil. Contact Dermatitis. 1991;24(4):301.
72. Erbaş S, Baydar H. Variation in scent compounds of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) Produced by headspace solid phase microextraction, hydrodistillation and solvent extraction. Rec Nat Prod. 2016;10(5):555–65.
73. Mohamadi M, Shamspur T, Mostafavi A. Comparison of microwave-assisted distillation and conventional hydrodistillation in the essential oil extraction of flowers Rosa damascena Mill. J Essent Oil Res. 2013;25(1):55–61.
74. Krupčík J, Gorovenko R, Špánik I, Sandra P, Armstrong DW. Enantioselective comprehensive two-dimensional gas chromatography. A route to elucidate the authenticity and origin of Rosa damascena Miller essential oils. J Sep Sci. 2015;38(19):3397–403.
75. Shamspur T, Mohamadi M, Mostafavi A. The effects of onion and salt treatments on essential oil content and composition of *Rosa damascena* Mill. Ind Crops Prod. 2012;37(1):451–6.
76. Karami A, Khosh-Khui M, Salehi H, Saharkhiz MJ, Zandi P. Essential Oil Chemical Diversity of Forty-Four Rosa damascena Accessions from Iran. J Essent Oil-Bearing Plants. 2014 Nov 2;17(6):1378–88.
77. Gorji-Chakespari A, Nikbakht AM, Sefidkon F, Ghasemi-Varnamkhasti M, Brezmes J, Llobet E. Performance comparison of Fuzzy ARTMAP and LDA in qualitative classification of Iranian *Rosa damascena* essential oils by an electronic nose. Sensors. 2016;16(5):636/1-636/15.
78. Batooli H, Safaei-Ghomi J. Comparison of essential oil composition of flowers of three Rosa damascena Mill. genotypes from Kashan. Faslnamah-i Giyahan-i Daruyi. 2012;11(Suppl. 9):241.

79. Bahaffi SOS. Volatile oil composition of Taif rose. J Saudi Chem Soc. 2005;9(2):401–6.
80. Li Y, Xue X, Yu L, Kong L, Li L. Analysis of Changbai mountain *Rosa damascena* oil by GC/MS. Shipin Yanjiu Yu Kaifa. 2013;34(9):65–8.
81. Straubinger M, Knapp H, Watanabe N, Oka N, Washio H, Winterhalter P. Three Novel Eugenol Glycosides From Rose Flowers, *Rosa damascena* Mill. Nat Prod Lett. 1999;13(1):5–10.
82. Khadzhieva P, Stoyanova-Ivanova B. Callitrisic acid and sterols in the flowers of Bulgarian oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill). Adv Mass Spectrom Biochem Med. 1976;1:303–7.
83. Hadieva P, Stoyanova-Ivanova B, Butchvarova Z, Daskalov R. Composition and structure of chemical constituents of rose flower stamen (*Rosa damascena* Miller). Riv Ital Essenze, Profum Piante Off Aromat Syndets, Sapon Cosmet Aerosols. 1979;61(6):283–6.
84. Straubinger M, Knapp H, Watanabe N, Oka N, Washio H, Winterhalter P. Three Novel Eugenol Glycosides From Rose Flowers, *Rosa damascena* Mill. Nat Prod Lett. 1999;13(1):5–10.
85. Paridhavi M, Agrawal SS. Isolation and Characterization of Flowers of Rosa damascena. Asian J Chem. 2007;19(4):2751–6.
86. Talib WH, Mahasneh AM. Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of Jordanian plants used in traditional medicine. Molecules. 2010;15(3):1811–24.
87. Shohayeb M, Abdel-Hameed ESS, Bazaid SA, Maghrabi I. Antibacterial and antifungal activity of Rosa damascena MILL. essential oil, different extracts of rose petals. Glob J Pharmacol. 2014;8(1):1–7.
88. Eman MH. Antimicrobial activity of Rosa damascena petals extracts and chemical composition by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis. African J Microbiol Res. 2014;8(24):2359–67.
89. Shokouhinejad N, Emaneini M, Aligholi M, Jabalameli F. Antimicrobial effect of Rosa damascena extract on selected endodontic pathogens. J Calif Dent Assoc. 2010;38(2):123–6.
90. Özkan G, Sağdiç O, Baydar NG, Baydar H. Note: Antioxidant and antibacterial activities of *Rosa damascena* flower extracts. Food Sci Technol Int. 2004;10(4):277–81.
91. Subeki, Matsuura H, Yamasaki M, Yamato O, Maede Y, Katakura K, et al. Effects of Central Kalimantan plant extracts on intraerythrocytic Babesia gibsoni in culture. J Vet Med Sci. 2004;66(7):871–4.
92. Artun FT, Karagoz A, Ozcan G, Melikoglu G, Anil S, Kultur S, et al. In vitro anticancer and cytotoxic activities of some plant extracts on HeLa and Vero cell lines. J BUON. 2016;21(3):720–5.
93. Gao X-M, Wang R-R, Niu D-Y, Meng C-Y, Yang L-M, Zheng Y-T, et al. Bioactive Dibenzocyclooctadiene Lignans from the Stems of *Schisandra neglecta*. J Nat Prod. 2013;76(6):1052–7.
94. Karagöz A, Artun FT, Özcan G, Melikoğlu G, Anıl S, Kültür Ş, et al. *In vitro* evaluation of antioxidant activity of some plant methanol extracts. Biotechnol Biotechnol Equip. 2015;29(6):1184–9.

95. Kalim MD, Dutta D, Das P, Chattopadhyay S. Evaluation of phytochemicals interrelated to antioxidant potential of Unani plants. Int J Pharma Bio Sci. 2015;6(3):330–42.
96. Kumar N, Bhandari P, Singh B, Bari SS. Antioxidant activity and ultra-performance LC-electrospray ionization-quadrupole time-of-flight mass spectrometry for phenolics-based fingerprinting of Rose species: Rosa damascena, *Rosa bourboniana* and *Rosa brunonii*. Food Chem Toxicol. 2009;47(2):361–7.
97. Achuthan CR, Babu BH, Padikkala J. Antioxidant and hepatoprotective effects of Rosa damascena. Pharm Biol. 2003;41(5):357–61.
98. Wetwitayaklung P, Limmatvapirat C, Phaechamud T, Keokitichai S. The study of antioxidant activities of edible flower extracts. Acta Hortic. 2008;786:185–92.
99. Baydar NG, Baydar H. Phenolic compounds, antiradical activity and antioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts. Ind Crops Prod. 2013;41(1):375–80.
100. Diffey BL, Robson J. A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum. J Soc Cosmet Chem. 1989;40:127–33.
101. Gholamhoseinian A, Shahouzehi B, Sharifi-Far F. Inhibitory activity of some plant methanol extracts on 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl coenzyme a reductase. International Journal of Pharmacology. 2010;6:705–11.
102. Kleinsek DA, Ranganathan S, Porter JW. Purification of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase from rat liver. Proc Natl Acad Sci U S A. 1977;74(4):1431–5.
103. Cushman DW, Cheung HS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochem Pharmacol. 1971;20(7):1637–48.
104. Latifi G, Ghannadi A, Minaiyan M. Anti-inflammatory effect of volatile oil and hydroalcoholic extract of *Rosa damascena* Mill. on acetic acid-induced colitis in rats. Res Pharm Sci. 2015;10(6):514–22.
105. Hosseini M, Rahbardar MG, Sadeghnia HR, Rakhshandeh H. Effects of different extracts of *Rosa damascena* on pentylenetetrazol-induced seizures in mice. Zhongxiyi Jiehe Xuebao. 2011;9(10):1118–24.
106. Esfandiary E, Karimipour M, Mardani M, Alaei H, Ghannadian M, Kazemi M, et al. Novel effects of *Rosa damascena* extract on memory and neurogenesis in a rat model of Alzheimer's disease. J Neurosci Res. 2014;92(4):517–30.
107. Esfandiary E, Karimipour M, Mardani M, Ghanadian M, Alaei HA, Mohammadnejad D, et al. Neuroprotective effects of *Rosa damascena* extract on learning and memory in a rat model of amyloid-β-induced Alzheimer's disease. Adv Biomed Res. 2015;4:131.
108. Mohammadpour T, Hosseini M, Naderi A, Karami R, Sadeghnia HR, Soukhtanloo M, et al. Protection against brain tissues oxidative damage as a possible mechanism for the beneficial effects of *Rosa damascena* hydroalcoholic extract on scopolamine induced memory impairment in rats. Nutr Neurosci. 2015;18(7):329–36.
109. Monika S, Yamini S, Sangeeta S. Antioxidant and hepatoprotective activity of aqueous extract of *Rosa damascena* against CCL4-induced oxidative damage. INDIAN J Pharmacol. 2008;40:162.

110. Rakhshandah H, Hosseini M. Potentiation of pentobarbital hypnosis by *Rosa damascena* in mice. Indian J Exp Biol. 2006;44(11):910–2.
111. Baniasad A, Khajavirad A, Hosseini M, Shafei MN, Aminzadah S, Ghavi M. Effect of hydro-alcoholic extract of *Rosa damascena* on cardiovascular responses in normotensive rat. Avicenna J phytomedicine. 2015;5(4):319–24.
112. Boskabady MH, Vatanprast A, Parsee H, Ghasemzadeh M. Effect of aqueous-ethanolic extract from *Rosa damascena* on guinea pig isolated heart. Iran J Basic Med Sci. 2011;14(2):116–21.
113. Abbaszadeh M, Kazerani HR, Kamrani A. Laxative effects of *Rosa damascena* mill in dogs. J Appl Anim Res. 2010;38(1):89–92.
114. Boskabady MH, Kiani S, Rakhshandah H. Relaxant effects of *Rosa damascena* on guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). J Ethnopharmacol. 2006;106(3):377–82.
115. Sedighi M, Rafieian-Kopaei M, Noori-Ahmadabadi M, Godarzi I, Baradaran A. In vitro impact of hydro-alcoholic extract of *Rosa damascena* Mill. On rat ileum contractions and the mechanisms involved. Int J Prev Med. 2014;5(6):767–75.
116. Sadraei H, Asghari G, Emami S. Effect of *Rosa damascena* Mill. flower extract on rat ileum. Res Pharm Sci. 2013;8(4):277–84.
117. Dolati K, Rakhshandeh H, Shafei MN. Effect of aqueous fraction of Rosa damascena on ileum contractile response of guinea pigs. Avicenna J phytomedicine. 2013;3(3):248–53.
118. Gharabaghi PM, Tabatabeil F, Fard SA, Sayyah-Melli M, Ouladesahebmadarek E, Azar AD ve ark. Evaluation of the effect of preemptive administration of Rosa damascena extract on post-operative pain in elective cesarean sections. African J Pharm Pharmacol. 2011;5(16):1950–5.
119. Guideline ICHHT. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). In: International Conference on Harmonization, Geneva, Switzerland. 2005:11–2.
120. Swartz ME, Krull IS. Validation of chromatographic methods. Pharm Technol. 1998;22(3):104–19.
121. The United States Pharmacopeia, USP XXIV, United States Pharmacopeial Convetion. Rockville. 2002.
122. Demirci B, Küçükboyaci N, Adigüzel N, Başer KHC, Demirci F. Characterization of Szovitsia callicarpa volatile constituents obtained by micro- and hydrodistillation. Nat Prod Commun. 2010 Feb;5(2):297–300.
123. D. H., Hochmuth, MassFinder 4.0, Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg, Germany. 2008.
124. F.W. McLafferty, D.B. Stauffer, The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data, J Wiley and Sons: New York, 1989.
125. Miller HE. A simplified method for the evaluation of antioxidants. J Am Oil Chem Soc. 1971;48(2):91–91.
126. Oyaizu M. Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese J Nutr Diet. 1986;44(6):307–15.
127. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay. Anal Biochem. 1996;239(1):70–6.

128. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. J Agric Food Chem. 2004;52(26):7970–81.
129. Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. Anal Biochem. 1999;269(2):337–41.
130. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Sci Technol. 1995;28(1):25–30.
131. Parejo I, Codina C, Petrakis C, Kefalas P. Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH?? (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay. J Pharmacol Toxicol Methods. 2000;44(3):507–12.
132. Cano A, Hernández-Ruíz J, García-Cánovas F, Acosta M, Arnao MB. An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. Phytochem Anal. 1998;9(4):196–202.
133. Sánchez-Moreno C. Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. Food Sci Technol Int. 2002;8(3):121–37.
134. Marcocci L, Maguire JJ, Droy-Lefaix MT, Packer L. The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGb 761. Biochem Biophys Res Commun. 1994;201(2):748–55.
135. Nobre R, Fonseca AP. Determination Of Sun Protection Factor By Uv-Vis Spectrophotometry. Heal Care Curr Rev. 2016 Oct 26;4(2):1–5.
136. Mansur JS, Breder M, Mansur M, Azulay R. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. An Bras Dermatol. 1986;61(3):121–4.
137. Shabir GA. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conf. J Chromatogr A. 2003:14;987(1–2):57–66.
138. Shabir BYG. Step-by-step analytical methods validation and protocol in the quality system compliance industry. J Valid Technol. 2004;10:210–8.
139. Haq I, Murphy E, Dacre J. Osteoarthritis. Postgrad Med J. 2003 Jul;79(933):377–83.
140. 'Priority Medicines for Europe and the World Update Report, 2013.' World Health Organization, World Health Organization, Erişim Tarihi: 09.07.2017, www.who.int/medicines/areas/priority_medicines/en/.
141. Mine Uzun. Rumex Crispus L. Ekstreleri ve Sekonder Metabolitlerinin Mmps İnhibitör Aktiviteleri, Antioksidan Kapasiteleri ve Spf Değerlerinin Araştırılarak, Ciltteki Kollajen Dokuyu Onarıcı Fitokozmetik Ürün Geliştirilmesi. Hacettepe Üniversitesi; 2017.
142. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. Arch Dermatol. 1988;124(6):869–71.

ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı	:	Osman Tuncay Ağar
Doğum Yeri / Tarihi	:	Ankara / 1984
Uyruğu	:	T.C.
İletişim Adresi	:	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik AbD. Altındağ- Ankara
Telefon	:	0 312 305 10 89

2. Eğitimi

2016 – …	:	Doktora (yatay geçiş): Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi AbD.
2010 – 2016	:	Doktora (başlama): Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi AbD.
2007 – 2010	:	Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik AbD.
2002 – 2007	:	Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü.
1998 – 2002	:	Kanuni Lisesi
1990 – 1998	:	Faik Erbağı İlköğretim Okulu

3. Mesleki Deneyim

02.12.2008 –	:	**Araştırma Görevlisi (2547 sayılı kanunun 33/A maddesi uyarınca)** Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

4. Bilimsel Faaliyetler

a. Kitap Bölümleri

- **Ağar, OT.,** Demirezer, LO., *Rosa damascena-Isparta Gülü*, FFD Monografları Bitkiler ve Etkileri, 3. Baskı, 2017.
- Şahin, FP., **Ağar, OT.** *Juniperus communis*-Adi Ardıç, FFD Monografları Tedavide Kullanılan Bitkiler, 2. Baskı, 2011.

b. Makaleler

- **Agar, OT.,** Dikmen, M., Ozturk, N., Yilmaz, MA., Temel, H., Turkmenoglu, FP., Comparative Studies on Phenolic Composition, Antioxidant, Wound Healing and Cytotoxic Activities of Selected *Achillea* L. Species Growing in Turkey, Molecules, 20(10), s. 17976-18000, 2015.
- Turkmenoglu, FP., **Agar, OT.,** Akaydin, G., Hayran, M, Demirci, B., Characterization of Volatile Compounds of Eleven *Achillea* Species from Turkey and Biological Activities of Essential Oil and Methanol Extract of *A. hamzaoglui* Arabaci & Budak, Molecules, 20(6), s. 11432-11458, 2015.
- Dönmez, AA., **Ağar, OT.,** Uğurlu, Z., Mutlu, B., Horasan, Ö. Taxonomic and Biogeographic Contributions to Some Genera of Caryophyllaceae Family in Turkey, Hacettepe J. Biol. & Chem., 41(2), s. 103-113, 2013.
-

c. Sözlü Bildiriler

- **Ağar, O.T.,** Gönülalan, E.M., Özenver, N., Uzun, M., Demirezer, L.Ö., Sun protective potential and antioxidant capacity of *Rosa damascena* petal extracts, XXIst International Congress "Phytopharm 2017", 02-05 Temmuz 2017.
- **Ağar, O.T.,** Engür, S., Evaluation of the wound healing potentials of three *Achillea* species on cultured NIH3T3 fibroblasts, 2nd International Conference

and Exibition on Pharmacognosy, Phytochemistry & Natural Products, 25-27 Ağustos 2014.

d. Poster Bildiriler

- **Ağar, OT.**, Gökbulut, A., Demirezer, LÖ., HPTLC and TLC method development studies for *Rosa damascena* petal extracts, 65th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA), PO-183, s. 154, 03-07 Eylül 2017.
- Türkmenoğlu, FP., **Ağar, OT**., The composition of the essential oils of some *Achillea* L. Species, 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-10), PO-341, s. 418, 26-29 Haziran 2012.
- Öztürk, N., Öncü, EM., **Ağar, OT**., Şahin, FP., Tuncel, M., Bazı *Achillea* L. Türlerinin Fenolik İçeriği, 19. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı (BİHAT), PO-21, s. 55, 27-30 Ekim 2010.
- **Ağar, OT**., Şahin, FP. , *Achillea coarctata* Poir. ve *Achillea lycaonica* Boiss. & Heldr. türlerinin anatomik özellikleri, 19. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı (BİHAT), PO-75, s. 109, 27-30 Ekim 2010.
- **Ağar, OT.,** Öztürk, N., Şahin, FP., Antioxidant activity and total phenolic content of the extracts of some *Achillea* species, 6th Conference on Aromatic and Medicinal Plants of Southeast European Countries (6th CMAPSEEC), PO-131, S. 93, 18-22 Nisan 2010.
- Şahin, FP., **Ağar, OT.***, Anatomical properties of Achillea wilhelmsii C. Koch and Achillea* biebersteinii Afan. (Asteraceae), 9th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-9), PO-161, s. 284, 23-26 Haziran 2009.
- Dönmez, AA., **Ağar, OT.,** Mutlu, B., Ekşi, G., Altınözlü, H., Işık, S., Erik, S., Elçi, BT., Hasbahçe: The Botanical Garden at Hacettepe University International Symposium 7th Plant Life of South West Asia (7th PLoSWA), PO-42, 25-29 Haziran 2007.
- Dönmez, AA., **Ağar, OT.,** Horasan, Ö., Bitkiler alemi ve angiosperm filogeni sistematiği, 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, PO-015, s. 101, 26-30 Haziran 2006.

- Dönmez, AA., **Ağar, OT.,** Horasan, Ö., Bazı Caryophyllaceae cinslerine taksonomik ve biyocoğrafik katkılar, 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, PO-014, s. 100, 26-30 Haziran 2006.

e. Katıldığı Sempozyum, Seminer ve Eğitim Programları

- XXIst International Congress "Phytopharm 2017", Graz/Avusturya, 02-05 Temmuz 2017.
- Türk Farmakopesi Çalıştayı II, İzmir, 26-28 Ocak 2017.
- Tıp Etiği Açısından Bitkilerle Tedavi, Ankara, 23 Aralık 2015.
- Çikolatanın Öyküsü, Ankara, 20 Kasım 2015.
- İlk Yardım ve Yangın Eğitimi, Ankara, 16 Mart 2015.
- Workshop on Accessing and Searching the Cochrane Library, Ankara, 25 Kasım 2014.
- Laboratuvar Güvenliği Eğitimi Programı, Ankara, 17-18 Ekim 2014.
- 2nd International Conference and Exibition on Pharmacognosy, Phytochemistry & Natural Products, Pekin/Çin, 25-27 Ağustos 2014.
- Kozmetik Ürünlerde Teknik Dosya Hazırlaması, Testler ve Değerlendirmeler, Ankara, 19 Haziran 2014.
- How to publish a scientific journal article (Workshop), Ankara, 27 Mayıs 2014.
- Hacettepe Kanser Enstitüsü & Alman Kanser Araştırma Merkezi Sempozyumu, Ankara, 22 Mayıs 2014.
- Diksiyon Eğitimi, Ankara, 15 Mart - 10 Mayıs 2013.
- İlaç Araştırmalarında Uygulamalı Moleküler Modelleme ve Simülasyon Teknikleri Kursu, Ankara, 20-22 Şubat 2013.
- Klinik Araştırmalara Giriş Eğitimi, Ankara, 03 Aralık 2012.
- 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-10), Ankara, 26-29 Haziran 2012.
- EndNote Eğitim Semineri, Ankara, 17 Şubat 2012.
- Manisa ve Yunt Dağı Çevresinde Ekoloji Temelli Doğa Eğitimi, Manisa, 17-27 Temmuz 2011.

- Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantıları (BİHAT), Mersin, 27-30 Ekim 2010.
- 6th Conference on Aromatic and Medicinal Plants of Southeast European Countries (6th CMAPSEEC), Antalya, 18-22 Nisan 2010.
- 9th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-9), Ankara, 23-26 Haziran 2009.
- Kemaliye (Erzincan) ve Çevresinde Ekoloji Temelli Doğa Eğitimi, Erzincan, 01-10 Temmuz 2008.
- International Syposium 7th Plant Life of South West Asia, Eskişehir, 25-29 Haziran 2007.
- 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, Aydın, 26-30 Haziran 2006.

f. Sertifika Bilgileri

- İlaç Araştırmalarında Uygulamalı Moleküler Modelleme ve Simülasyon Teknikleri Kursu, Hacettepe Üniversitesi, 20-22 Şubat 2013.
- Klinik Araştırmalara Giriş Eğitimi, Hacettepe Üniversitesi 26 Aralık 2012.
- Web Sayfa Tasarımı, BELTEK-Gazi Üni., 10 Nisan-04 Haziran 2006.
- Bilgisayar İşletmenliği, M.E.B. (Başarı Bilg. Kursu), 31 Mart-16 Mayıs 2003.

g. Hakemlik Yapılan Dergiler

- BMC Complementary and Alternative Medicine
- Journal of Agricultural Science and Technology
- Indian Journal of Traditional Knowledge

h. Üye Olunan Dernek ve Kuruluşlar

- Farmakognozi ve Fitoterapi Derneği - Üye
- Hacettepe Üniversitesi Farmakognozi Araştırma ve Geliştirme Derneği (HAFAG) - Üye