

AYÇA GÖKDEMİR

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2021

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN ROSA MİCRANTHA, ROSA
PİSİFORMİS, ROSA PHOENİCİA VE ROSA
PULVERULENTA TÜRLERİNİN BAZI BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

AYÇA GÖKDEMİR

**DANIŞMAN
PROF. DR. NURTEN ÖZSOY**

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

İSTANBUL-2021

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

"Ad Soyadı" (İmza)

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında sabır ve yardımlarıyla bilgisini benimle paylaşan, tezimin her aşamasında büyük desteği olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Nurten Özsoy'a,

Bitki materyallerinin teminini ve teşhisini yapan İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Şükran Kültür'e,

Lisansüstü eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Ana Bilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 35053

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	17
2. GENEL BİLGİLER	19
2.1. <i>Rosa micrantha</i> , <i>Rosa phoenicia</i> , <i>Rosa pulverulenta</i> ve <i>Rosa pisiformis</i> Türlerinin Botanik Özellikleri ve Türkiye’de Yayılışı.....	19
2.2. Rosa Cinsi Üzerinde Yapılmış Etnobotanik Araştırmalar	22
2.3. Rosa Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	23
2.4. Rosa türlerinin Etki Mekanizmaları ve Farmakolojik Etkileri	26
2.4.1. NF-κB sinyal Yolağın İnhibisyonu.....	26
2.4.2. Pro-İnflammatuar Enzimleri İnhibe Edici Aktivitelerinin Araştırılması	32
2.4.2.1. Metaloproteinazlar.....	32
2.4.2.2. Siklooksijenazlar	33
2.4.2.3. iNOS.....	35
2.4.3. Pro-inflammatuar Sitokinlerin ve Kemokinlerin Üretiminin İnhibisyonu Üzerindeki Etkinin Araştırılması	35
2.4.4. Anti-inflammatuar Etkinin Araştırılması	35
2.4.4.1. Anti-artritlik Etkinin Araştırılması.....	36
2.4.4.2. Anti-Ülserojenik Etkinin Araştırılması	36
2.4.4.3. Anti-dermatit Etkinin Araştırılması	36
2.4.5. Antioksidan Etkinin Araştırılması	37
2.4.6. Antikanser etkinin araştırılması	40

2.4.7. Nörokoruyucu Etkinin Araştırılması.....	42
2.4.8. Anti-hiperlipidemik Etkinin Araştırılması	45
2.4.9. Karaciğeri Koruyucu Etkinin Araştırılması	45
2.4.10. Antimikrobiyal Etkinin Araştırılması	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	49
3.1. Kullanılan Gereçler	49
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	49
3.3. Bitki Materyali	51
3.4. Bitki Ekstrelerin Hazırlanışı	51
3.5. Antioksidan Aktivitenin İncelenmesi	52
3.5.1. Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini	52
3.5.1.1. Deneyin Yapılışı.....	52
3.5.1.2. Gallik Asit Standart Eğri Denkleminin Elde Edilmesi	52
3.5.2. Flavonoit Miktar Tayini	53
3.5.2.1. Kateşin Standart Eğri Denkleminin Elde Edilmesi.....	53
3.5.3. Rosa Ekstrelerinin Demir (III) - Askorbik Asit ile İndüklenmiş Fosfatidilkolin Lipozomlarının Peroksidasyonu Üzerine Antioksidan Etkisi	54
3.5.3.1. Kullanılan çözeltiler	54
3.5.3.2. Deneyin prensibi	54
3.5.4. DPPH Radikali Giderici Aktivitesi Tayini.....	55
3.5.4.1. Kullanılan çözeltiler	55
3.5.4.2. Deneyin prensibi	55
3.5.4.3. Deneyin yapılışı	55
3.5.4.4. Süperoksit Radikali Giderici Aktivitesi Tayini.....	55
3.5.5. Total Radikal Antioksidan Potansiyeli (TRAP).....	56
3.5.5.1. Kullanılan çözeltiler	56
3.5.5.2. Deneyin prensibi	56
3.5.5.3. Deneyin yapılışı	56
3.5.5.4. Troloks Standart Eğri Denkleminin Elde Edilmesi.....	57
3.5.6. Ferri İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP) Deneyi.....	58
3.5.6.1. Kullanılan çözeltiler	58
3.5.6.2. Deneyin prensibi	58
3.5.6.3. Deneyin yapılışı	58

3.5.6.4. FeSO ₄ .7H ₂ O Standart Eğri Denkleminin Elde Edilmesi.....	58
3.5.7. Anti-Kolinerjik Etkinin Araştırılması	59
3.5.7.1. Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitelerinin Araştırılması.....	59
3.5.7.2. Kullanılan çözeltiler	59
3.5.7.3. Deneyin prensibi	59
3.5.7.4. Deneyin yapılışı	60
3.5.8. Ekstrelerin ACE inhibe edici aktivitelerinin incelenmesi.....	60
3.5.8.1. Deneyin prensibi:	60
3.5.8.2. Deneyin yapılışı	61
4. BULGULAR.....	62
4.1. Total Ekstre Edilebilen Madde Miktarı, Fenolik Bileşiklerin ve Flavonoit miktarı	62
4.2. Rosa Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi.....	63
4.2.1. Lipozom Peroksidasyonu Üzerine Antioksidan Etkisinin İncelenmesi.....	63
4.2.2. DPPH Radikali Giderici Aktivitesinin İncelenmesi.....	64
4.2.3. Süperoksit Anyon Radikali Giderici Aktivitesinin İncelenmesi.....	66
4.2.4. Total Radikal Antioksidan Potansiyeli (TRAP).....	67
4.2.5. Ferri İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyelinin (FRAP) İncelenmesi.....	68
4.3. Anti-kolinerjik Etkinin İncelenmesi	70
4.3.1. Asetilkolinesteraz İnhibe Edici Aktivitenin İncelenmesi.....	70
4.3.2. Butirilkolinesteraz İnhibe Edici Aktivitenin İncelenmesi.....	73
4.4. Ekstrelerin ACE İnhibe Edici Aktivitelerinin İncelenmesi	77
5. TARTIŞMA	78
6. SONUÇ.....	86
KAYNAKLAR	87
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	103
ÖZGEÇMİŞ	104

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Rosa türlerinin ISTE numaraları, toplandıkları yer, kullanılan kısım, drog miktarı ve elde edilen ekstre miktarları.	51
Tablo 4-1: <i>R. micrantha</i> , <i>R. pisiformis</i> , <i>R. Phoenicia</i> ve <i>R. pulverulenta</i> 'dan ekstre edilebilen madde miktarı (EC), fenolik maddelerin (PC, bitki ağırlığının her gramı için gallik asit ekivalanı (GAE) olarak) ve flavonoit (bitki ağırlığının her gramı için kateşin ekivalanı (KA) olarak) miktarları	62
Tablo 4-2: <i>R. micrantha</i> , <i>R. pisiformis</i> , <i>R. phoenicia</i> ve <i>R. pulverulenta</i> ekstrelerinin EC50, TEAC ve FRAP değeri olarak antioksidan aktiviteleri.	69
Tablo 4-3: <i>R. micrantha</i> , <i>R. pisiformis</i> , <i>R. phoenicia</i> ve <i>R. pulverulenta</i> ekstrelerinin AChE inhibe edici aktiviteleri.	70
Tablo 4-4: Ellajik asit, kemferol, kersetin ve donepezil bileşiklerinin AChE inhibe edici aktivitelerine ait IC50 ve Ki değerleri.	71
Tablo 4-5: <i>R. micrantha</i> , <i>R. pisiformis</i> , <i>R. phoenicia</i> ve <i>R. pulverulenta</i> ekstrelerinin BuChE inhibe edici aktiviteleri.....	73
Tablo 4-6: Ellajik asit, kemferol, kersetin ve donepezil bileşiklerinin BuChE inhibe edici aktivitelerine ait IC50 ve Ki değerleri.....	74
Tablo 4-7: Rosa Ekstrelerin ACE inhibe edici aktiviteleri.	77
Tablo 5-1: Rosa türlerinin yapraklarından elde edilen ekstrelerinin içerdikleri fenolik ve flavonoit miktarları.	80

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Rosa türlerinde bulunan fenolik bileşikler	24
Şekil 2-2: Rosa türlerinin içerdikleri lipofilik antioksidanlar	25
Şekil 2-3: Rosa türlerinde bulunan monogalaktozildiasilgliserol.....	26
Şekil 2-4: NF- κ B'nin aktivasyonunun inhibisyonu için önerilen hedefler.....	27
Şekil 2-5: NF- κ B sinyal yolağı	28
Şekil 2-6: Rosa canina, Salix alba ve Urtica dioica ekstralarının kondrositlerde IL-1 β ile indüklenen NF- κ B aktivasyonu üzerindeki inhibe edici etkileri	29
Şekil 2-7: Kanser oluşumunda inflamasyonun rolü.....	32
Şekil 2-8: Alzheimer hastalığında oksidatif stres hipotezi	44
Şekil 2-9: Rosa türlerinden izole edilen bileşiklerin hedefleri	48
Şekil 3-1: Gallik asit standart eğrisi ve regresyon denklemi.	52
Şekil 3-2: Kateşin standart eğrisi ve regresyon denklemi.....	53
Şekil 3-3: Troloks standart eğrisi ve regresyon denklemi.	57
Şekil 4-1: <i>R. micrantha</i> , <i>R. pisiformis</i> , <i>R. phoenicia</i> ve <i>R. pulverulenta</i> ekstralarının ve rutin 0,02-1,25 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında farklı konsantrasyonlardaki lipit peroksidasyonunu inhibe etme yüzdeleri.	64
Şekil 4-2: <i>R. micrantha</i> , <i>R. pisiformis</i> , <i>R. phoenicia</i> ve <i>R. pulverulenta</i> ekstralarının ve rutin 0,04-0,625 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında farklı konsantrasyonlardaki DPPH radikali giderme aktivite yüzdeleri.	65
Şekil 4-3: <i>R. micrantha</i> , <i>R. pisiformis</i> , <i>R. phoenicia</i> ve <i>R. pulverulenta</i> ekstralarının ve rutin 0,08-1,25 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında farklı konsantrasyonlardaki superoksit radikali giderme aktivite yüzdeleri..	66
Şekil 4-4: <i>R. micrantha</i> , <i>R. pisiformis</i> , <i>R. phoenicia</i> ve <i>R. pulverulenta</i> ekstralarının ve rutin 0,08-1,25 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında farklı konsantrasyonlardaki ABTS radikali giderme aktivite yüzdeleri..	67
Şekil 4-5: <i>R. micrantha</i> , <i>R. pisiformis</i> , <i>R. phoenicia</i> ve <i>R. pulverulenta</i> ekstralarının FRAP değeri olarak redükleme güçleri.	69
Şekil 4-6: Ellajik asitin AChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği. ..	71
Şekil 4-7: Kemferol'ün AChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği. ..	72
Şekil 4-8: Kersetin'in AChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.....	72

Şekil 4-9: Donepezil'in AChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği...	73
Şekil 4-10: Ellajik asid'in BuChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.	75
Şekil 4-11: Kemferol'ün BuChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.	75
Şekil 4-12: Kersetin'in BuChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği..	76
Şekil 4-13: Donepezil'in BuChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.	76
Şekil 5-1: Flavonoidler tarafından ERK-CREB yolağın ve PI3-kinaz-mTOR kaskadının aktivasyonu ile birlikte JNK ve ASK1 inhibisyonu yoluyla apoptoz ve nöroinflamasyonun ve dolayısıyla bunlarla ilişkili nörodejenerasyonun baskılanması.....	84

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2-1: <i>Rosa micrantha</i>	20
Resim 2-2: <i>Rosa pisiformis</i>	20
Resim 2-3: <i>Rosa phoenicia</i> Boiss.	21
Resim 2-4: <i>Rosa pulverulenta</i> Bieb.	22



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AA:	Araşidonik asit
ABTS:	2,2-Azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)
ACE:	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
AChE:	Asetilkolin esteraz
AD:	Atopik dermatit
AH:	Alzheimer hastalığı
AKT:	Serin/treonin protein kinaz
BHT:	Butilhidroksitoluen
BuChE:	Butirilkolin esteraz
COX-1:	Siklooksijenaz-1
COX-2:	Siklooksijenaz-2
DPPH•:	DPPH radikali (2,2 - difenil - 1 - pikrilhidrazil)
FAPGG:	(N-[3-(2-Furil)akriloil]-L-fenilalaninil-glisil-glisin
FRAP:	Ferri iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli
GAPDH:	Gliseraldehid-3-fosfat dehidrojenaz
IC50:	Aktivitenin % 50'sini inhibe eden konsantrasyon değeri
IKK:	IKB α kinaz
IL:	İnterlökin
IL-1 β :	İnterlökin-1 beta
IL-6:	İnterlökin-6
iNOS:	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
JNK:	c-Jun N-terminal kinaz
5-LOX:	5-Lipoksijenaz
LPS:	Lipopolisakkarit
MAPK:	Mitojenle aktive olan protein kinaz
MDA	Malondialdehit
MMP:	Matriks metalloproteinaz
NADH	Nikotinamid adenin dinukleotit
NBT	Nitroblue tetrazolium

NFATc1:	Aktive edilmiş sitoplazma T hücrelerinin nükleer faktörü 1
NO:	Azot monoksit
NSAID:	Steroidal olmayan anti-inflamatuvar ilaçlar
PAGE	Poliakrilamid jel elektroforezi
PARP:	Poli (ADP-riboz) polimerazı
PGE1:	Prostaglandin E1
PGE2:	Prostaglandin E2
PKC:	Protein kinaz C
PMN:	Polimorfonükleer nötrofiller
PMS:	Fenazin metosülfat
PPAR	Peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör
RANKL	Nükleer faktör-B ligandının reseptör aktivatörü
ROT:	Reaktif oksijen türleri
SDS:	Sodyum dodesil sülfat
SOD:	Süperoksit dismutaz
TBA:	Tiyobarbitürik asit
TBARS:	Tiyobarbitürik asit reaktif türleri
TCA:	Trikloroasetik asit
TEAC:	Troloks ekivalan antioksidan kapasite
TEP:	1,1,3,3 - Tetraetoksipropan
TGF- β :	Dönüştürücü büyüme faktörü
TNBS:	2,4,6-Trinitrobenzen sülfonik asit
TNF:	Tümör nekroz faktörü
TNF- α :	Tümör nekroz faktörü-alfa
TPTZ:	2,4,6 - Tripiridil-s-triazin
TRAF:	TNF reseptörü ile ilişkili faktör
TRAF6:	TNF reseptörü ile ilişkili faktör 6
Troloks:	6 - Hidroksi - 2,5,7,8 - tetrametilkroman - 2-karboksilik asit
VCAM-1:	Vasküler adezyon molekülü-1

ÖZET

Gökdemir, A. (2021). Türkiye'de Yetişen *Rosa micrantha*, *Rosa pisiformis*, *Rosa phoenicia* ve *Rosa pulverulenta* Türlerinin Bazı Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Türkiye'de *Rosa* cinsi 26 tür ile temsil edilmekte ve bu türlerden bazıları halk tarafından diyare, dispepsi, nefrit, soğuk algınlığı, öksürük, bronşit, diyabet tedavisinde ve tonik, ekspektoran, mide ağrılarına karşı, diüretik olarak kullanılmaktadır. Anabilim Dalımızda *in vitro* olarak yapılan çalışmalarda, *Rosa agrestis*, *Rosa sempervirens* ve *Rosa horrida*'dan hazırlanan yaprak ekstraktlarının faydalı etkileri, fenol ve flavonoid bileşiklerin antioksidan etkilerinden ileri geldiği bildirilmiştir. Fitokimyasal analizler, *Rosa* türlerinin yapraklarında fitobileşiklerin major kısmını oluşturan rutin, kemferol, kersetin ve ellajik asit gibi flavonoidlerin varlığını göstermişlerdir. *Rosa* türlerinin yaprakları üzerindeki çalışmalarımızın bir devamı olan bu çalışmada, *Rosa micrantha*, *Rosa pisiformis*, *Rosa phoenicia* ve *Rosa pulverulenta* türlerinden hazırlanan metanolik ekstraktların total fenol bileşikleri ile antioksidan, asetilkolinesteraz (AChE), butirilkolinesteraz (BuChE) ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) üzerinde inhibe edici etkileri incelenerek Alzheimer hastalığı ve hipertansiyon tedavisinde terapötik ajan olarak kullanılma potansiyellerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. İncelenen ekstraktlarının her birinin güçlü AChE, BuChE ve ACE inhibitör etkisi ile antioksidan olarak yüksek indirgeyici güce sahip olduğu, DPPH•, ABTS•⁺ ve superoksit radikallerini giderdiği, lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir. Enzim kinetiği çalışmalarında ellajik asit, kemferol ve kersetinin AChE ve BuChE'ı geri dönüşümlü olarak nonkompetatif şekilde inhibe ettikleri belirlenmiştir. Sonuçlar, incelenen *Rosa* türlerinin yaprakları farklı farmasötik kullanımı olan yeni ilaçların geliştirilmesinde yüksek potansiyele sahip oldukları göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Rosa* türleri, yapraklar, fenolik bileşikler, antioksidan, antikolinergik, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibisyonu

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 35053

ABSTRACT

Gökdemir, A. (2021). Investigation of Some Biological Activities of *Rosa micrantha*, *Rosa pisiformis*, *Rosa phoenicia* and *Rosa pulverulenta* Species Growing in Turkey. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Biochemistry. Master of Science Thesis. İstanbul.

The genus *Rosa* L. is represented by 26 species in Turkey and some of them are used in traditional medicine as tonic, expectorant, stomachic, diuretic and for the treatment of diarrhoea, dyspepsia, nephritis, bronchitis and diabetes. In our previous studies it was reported that one of the beneficial effects of *Rosa agrestis*, *Rosa sempervirens* and *Rosa horrida* leaves extracts is the antioxidant and free radical scavenging activity of the phenolic and flavonoid contents. Phytochemical analysis of *Rosa* species leaves extracts indicated the presence of major phytochemicals, including flavonoids like rutin, kaempferol, quercetin and ellagic acid. In order to complement our previous studies on *Rosa* species, the methanolic extracts prepared from leaves of *Rosa micrantha*, *Rosa pisiformis*, *Rosa phoenicia* and *Rosa pulverulenta* were tested in vitro for their polyphenolic contents, antioxidant and inhibitory activities against acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BuChE) and angiotensin converting enzyme (ACE) in order to evaluate the potential role of these plants as sources for the development of new therapeutic agents of Alzheimer disease and hypertension. The results showed that the extracts show potent inhibitory activity against AChE, BuChE and ACE, contain high amount of phenolic compounds and possess significant antioxidant activity which may be attributed to a strong reducing power, DPPH•, ABTS•⁺ and superoxide radicals scavenging and lipid peroxidation inhibitory activities. The enzyme kinetic studies revealed that ellagic acid, kaempferol and quercetin inhibit reversibly both the enzymes in noncompetitive manner. The results showed that the leaves of *Rosa* species under study have a high potential for the development of new drugs with different pharmaceutical uses.

Keywords: *Rosa* species, leaves, phenolic compounds, antioxidant, anticholinergic activity, angiotensin converting enzyme inhibition

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 35053

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Geleneksel halk ilaçları, halkın çeşitli hastalıkların tedavisinde kullandığı, yıllar boyu kuşaktan kuşağa aktararak varlığını sürdüren doğal kaynaklı ilaçlardır. Bu ilaçların büyük bölümünü bitkisel kökenliler oluşturur. Şifalı bitkiler hakkında yazılı kayıtlar en az 5000 yıl öncesine Sümerlere kadar uzanır ve arkeolojik kayıtlar şifalı bitkilerin daha da erken kullanıldığını göstermektedir. İnsan sağlığı ve bitkiler arasındaki güçlü tarihi bağ, Friedrich Bayer'in 1897'de dünyaya sentetik asetilsalisilik asiti (aspirin) sunmasıyla ortaya çıkmıştır. Aspirin, söğüt kabuğunun aktif bir bileşeni olan salisilik asidin daha güvenli bir sentetik analogudur ve ağrı ve ateşe karşı kullanılmaktadır (Raskin ve ark., 2002). Dünyanın birçok yerinde, geleneksel halk ilaçlarındaki bilimsel araştırmalar, modern ilaç araştırmaları için yararlı ve önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Doğal ürünler, ilaçların aktif bileşenlerinin çoğunun kaynağı oluşturmıştır. 1981 yıldan 2019 yılına kadar onaylanan birçok doğal ürün bazlı ilaçlar, Newman ve Cragg (2020) tarafından kapsamlı bir şekilde özetlenmiştir. Bitkilerden (elliptinium, galantamin ve huperzin), mikroplardan (daptomisin) ve hayvanlardan (eksenatid ve zikonotid) elde edilen bileşiklerin yanı sıra doğal ürünlere (örneğin tigesiklin, everolimus, telitromisin, mikafungin ve kaspofungin) dayalı sentetik veya yarı sentetik bileşikler, anti-kanser, anti-diabetik, anti-enfeksiyon gibi geniş yelpazeli terapötik etki göstermektedir. Kimyasal yöntemlerle elde edilen sentetik ilaçların advers etkilerinin ortaya çıkması ile doğal ve bitkisel ürünlerle tedavi güncel olmuştur. İlaç geliştirmenin, çok uzun ve pahalı bir süreç olduğu göz önüne alındığı zaman ilk aşamada halk ilaçlarının değerlendirmeye alınması en doğru yaklaşımdır. Bu amaçla, halk ilaçlarının etkinlik ve güvenilirliklerinin bugünkü bilimsel yöntemlerle kanıtlanması gerekmektedir. Bitkilerden hareketle, biyolojik aktiviteden sorumlu bileşik/bileşiklerin tespit edilmesi ile birçok hastalığın tedavisinde kullanım alanına sahip ilaç adayları belirlenebilecektir.

Rosaceae familyasının türleri dünyada ve ülkemizin birçok yöresinde doğal olarak yetişmektedir. Antik çağlardan beri görsel olarak, lezzet verici ve tedavi edici olarak ruha, göze ve sağlığa yararlı olan gül, bu özelliklerinden dolayı oldukça değerli bir bitkidir. Günümüzde ise tüm dünyada insanların bu bitkiye olan ilgisi, gerek dekoratif güzel bir süs bitkisi olmasından, gerekse tıbbi özellikleri taşımasından dolayı hala

yoğun bir şekilde devam etmektedir. Çin'de, soğuk algınlığı, iltihaplanma, osteoartrit, romatoid artrit ve kronik ağrı gibi hastalıkların tedavisine bitkisel takviyesi olarak kuşburnu ekstresi piyasaya sürülmüştür. (Guo ve ark., 2011). Ayrıca, geleneksel İsveç meyve çorbası olan 'Nypon soppa'yı hazırlamak için Rosa türlerinin kuşburnu kullanılmaktadır. *R. eglanteria* kuşburnundan hazırlanan infüzyon, bitki çayı olarak Avrupa'da popülerdir. Anadolu'nun bazı bölgelerinde kuşburnu, reçel ve meyve suyu olarak tüketilmektedir. Gül yağı, sahip olduğu yüksek kalitedeki aromatik bileşenler nedeniyle parfüm ve kozmetik endüstrisinin en değerli hammaddeleri arasında yer almaktadır. Kozmetolojik araştırmalar, Rosa türlerinin kuşburnundan elde edilen yağının cilt pigmentasyonunu, yara izlerini ve gerilmeleri azaltıcı, cilt nemlendirici ve koruyucu, yaşlanmayı geciktirici, kırışıkları önleyi, hücre yenileyici gibi birçok faydaları kanıtlamışlardır. Gül türlerinin özellikle meyvesi ve yaprağı kullanılarak artrit, romatizma, ateş, soğuk algınlığı, gastrit mukoza inflamasyonu, peptik ülser, laksatif, sindirim kolaylaştırıcı, safra taşı ile safra yolları ve böbrek rahatsızlıklarının tedavisi yanı sıra antimikrobiyal, antitumör, diüretik, astenjan etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Çetinkaya Karafakı ve Karafakı, 2013). Günümüzde Rosa türleri üzerinde yapılan yoğun ve kapsamlı bilimsel araştırmalar sonucunda bunların vitamin, mineral ve flavonoidler bakımından zengin oldukları ortaya çıkmıştır (Cheng ve ark., 2016; Mármol ve ark., 2017).

Anabilim Dalımızda *in vitro* olarak yapılan çalışmalarda, *Rosa agrestis* (Bitis ve ark., 2010), *Rosa horrida* (Ozsoy ve ark., 2013) ve *Rosa sempervirens* (Bitis ve ark., 2017)'dan hazırlanan yaprak ekstrelerinin antioksidan etkileri, içerdikleri fenol ve flavonoid bileşiklerinden ileri geldikleri bildirilmiştir.

Bu çalışmada *R. micrantha* Sm., *R. pisiformis* (Christ) D. Sosn., *R. phoenicia* Boiss. ve *R. pulverulenta* Bieb. yapraklarından elde edilen ekstraktların antioksidan, antikolinergik ve hipertansiyon düşürücü etkileri ilk kez araştırılarak belirlenmeye çalışılacaktır. Elde edilecek sonuç bu türlerin Alzheimer hastalığı ve yüksek tansiyon tedavisinde doğal bir kaynak olarak kullanılıp kullanılamayacağına ışık tutacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Rosa micrantha*, *Rosa phoenicia*, *Rosa pulverulenta* ve *Rosa pisiformis* Türlerinin Botanik Özellikleri ve Türkiye’de Yayılışı

Türkiye, gül türleri için en önemli gen merkezlerinden biridir. Şu ana kadar Türkiye’de 25 gül türünün (tüm gül türlerinin yaklaşık % 25’i) yetiştiği bildirilmiştir. Bu 25 tür ülke genelinde deniz seviyesinden 3000 m yüksekliğe kadar yayılmış olsa da, Doğu ve Orta Anadolu bölgesi en büyük yerli gül popülasyonuna sahiptir. Bu nedenle Türkiye, çoğunlukla *R. canina*, *R. dumalis*, *R. villosa* ve *R. pulverulenta*’ dan oluşan bir ‘yerli gül müzesi’dir (Ercisli, 2007).

Rosa türü geniş bir türdür ve her gül yetiştiren ülkenin kendine özgü endemik gül türleri vardır. Bu araştırmada incelenen türler arasında *R. pisiformis* Türkiye’ye özgüdür. Bununla birlikte, bildiğimiz kadarıyla, Türkiye’deki endemik gül türlerinin yapraklarının biyolojik aktivitelerine ilişkin çok az veri bulunmaktadır.

***R. micrantha* Sm.**

Genel yayılışı: Batı, Güney ve Orta Avrupa, Rusya’nın Güneyi, Kırım, Kafkasya, Türkiye, Ermenistan, Lübnan ve Kuzey Batı Afrika.

Türkiyedeki yayılışı: Kırklareli, İstanbul, Çanakkale, Balıkesir, İzmir, Manisa ve Konya çevrelerinde yetişir.

Yetiştirme ortamı: Hendekler, orman kenarları, kurak kayalık yamaçlar, çalılıklar.

Çiçeklenme zamanı: Mayıs-Haziran

Yetiştirildiği yükseklik: 180 m ile 1600 m arasındaki yüksekliklerde görülebilir (Kültür, 1998).



Resim 2-1: *Rosa micrantha* (Kultur, 2017).

***R. pisiformis* (Christ) D. Sosn.**

Türkiye'deki yayılışı: Kuzey Doğu ve Doğu Anadolu'da, Gümüşhane, Kars, Erzincan, Erzurum, Ağrı, Van bölgelerinde yayılış gösterir; Endemik

Yetiştirme ortamı: Çayırlar, akarsu ve nehir kenarları, tepe yamaçları.

Çiçeklenme: 7. ay

Yetiştirdiği yükseklik: 1600-2000 m (Korkmaz ve ark., 2013).



Resim 2-2: *Rosa pisiformis* (Kultur, 2017).

***R. phoenicia* Boiss.**

Genel yayılışı: Kuzey–Doğu Yunanistan, Doğu Ege Adaları, Latakia, Lubnan, Kıbrıs, Türkiye.

Türkiyedeki yayılışı: Batı, Güney ve Doğu Anadolu (Çanakkale, İzmir, Adana, Hatay, Adıyaman ve Siirt civarı).

Yetiştirme ortamı: Seyrek çalılıklarda, yol kenarlarında, tarla kenarlarında, meşe ormanlarının altlarında, çay ve dere kenarlarında, loş vadilerde.

Çiçeklenme zamanı: Mayıs-Haziran

Yetiştirildiği yükseklik: Deniz seviyesinden itibaren 1100 m'ye kadar görülebilir (Kultur, 1998).



Resim 2-3: *Rosa phoenicia* Boiss (Kultur, 2017).

***R. pulverulenta* Bieb.**

Genel yayılışı: Güney-Doğu Avrupa, Batı Suriye, Kıbrıs, Kafkasya, Azerbaycan, Ermenistan, Kuzey İran, Doğu Irak, Lübnan, Afganistan.

Türkiye'deki yayılışı: Batı, Orta, Doğu Anadolu, Akdeniz bölgesi, Ege bölgesi, Batı ve Doğu Karadeniz.

Yetiştirme ortamı: Kurak ve açık alanlar, çalılıklar, step alanlar, taşlık ve kayalık yamaçlar, subalpin çayırlar, kireçtaşı ve serpantin kayalar.

Çiçeklenme: Haziran-Temmuz

Yetiştirildiği yükseklik: 700 m ile 2550 m arasındaki yüksekliklerde görülür (Kültür, 1998).



Resim 2-4: *Rosa pulverulenta* Bieb. (Kultur, 2017).

2.2. Rosa Cinsi Üzerinde Yapılmış Etnobotanik Araştırmalar

Rosa türlerinin kuşburnundan reçel, kek, ekmek, çay, şurup ve şarap hazırlandığı ve tüketildiği bildirilmiştir (Kaack ve Kühn, 1991; Ercisli, 2007). Macaristan'da kuşburnu Palinka yapımında kullanılır; Danimarka'da kuru kuşburnu tozu piyasada ticari olarak mevcuttur; İsveç'te kuşburnu esas olarak ticari çorbaların üretiminde kullanılmaktadır. Kuşburnu kokusu bazı kozmetik dükkanlarında bulunabilir. Kuşburnu bir zamanlar Orta Çağ'da göğüs rahatsızlıkları için popüler olan bir halk ilacı olarak kullanılmıştır. On sekizinci ve on dokuzuncu yüzyıllarda kuduz köpeklerin ısırığını tedavi etmek için kullanıldığı bilinmektedir ve köpek gülü adı bundan kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir. İtalya ve Arnavutluk'ta kuşburnu öksürük, mide ağrısı, nazarlık, böcek ısırıkları tedavisinde ve antidepresan ilaç olarak kullanılmaktadır (Pieroni ve ark., 2005).

Türkiyede Rosa cinsi 26 tür ile temsil edilmekte ve bu türlerden bazıları halk tarafından diyare, dispepsi, nefrit, soğuk algınlığı, öksürük, bronşit, diabet tedavisinde ve tonik, ekspektoran, mide ağrılarına karşı ve diüretik olarak kullanılmaktadır (Kültür 2007). *R. canina* yapraklarından hazırlanan dekoksiyon diabet tedavisinde kullanılmaktadır (Kultur, 1998; Kultur, 2004; Kultur, 2007; Cakilcioglu ve ark., 2010a; Cakilcioglu ve ark., 2010b).

Gül yağı birçok ülkede kozmetik sanayinde değerli bir hammadde olarak yerini almıştır. *R. damascena* Mill., *Rosa gallica* L. ve *R. centifolia* L. türleri Anadolu'da uzun yıllardır gül yağı ve gül suyu üretimi amacıyla kullanılmaktadır. Türkiye'de çoğu Isparta çevresinde olmak üzere 20 civarında gül yağı elde eden fabrika bulunmaktadır (Korkmaz ve ark., 2013). Parfümeri, kozmetik, gıda, baharat ve tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır (Başer ve ark., 1990; Korkmaz ve ark., 2013).

2.3. Rosa Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

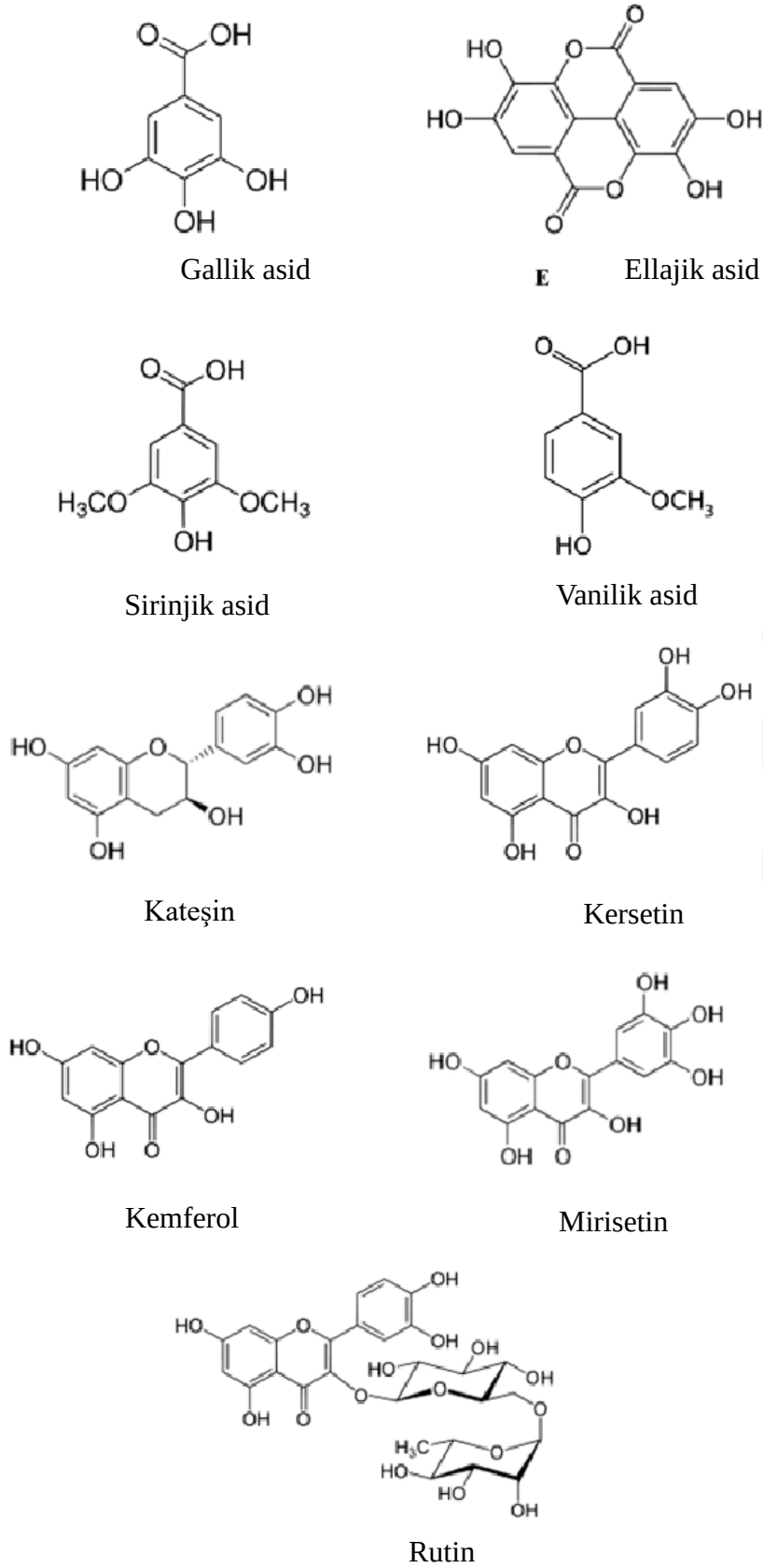
Rosaceae türleri dünyada ve ülkemizin birçok yöresinde doğal olarak yetişmektedir. Günümüzde *Rosa* türleri üzerinde yapılan yoğun ve kapsamlı bilimsel araştırmalar sonucunda bunların vitamin, mineral ve flavonoidler bakımından zengin olduğu ortaya çıkmıştır. Yapılan araştırmalar neticesinde gülün bileşiminde 89 adet etken madde bulunduğu tespit edilmiştir. Bu sayede oldukça geniş bir yelpazede tedaviye destek amaçlı kullanılabilir (Çetinkaya Karafaki ve Karafaki, 2014).

Flavonoidler *Rosa* türlerinin yapraklarında bulunan en önemli bileşiklerdir (Şekil 2-1). Fitokimyasal analizler, *Rosa* türlerinin yapraklarında fitobileşiklerin major kısmını oluşturan diosmetin, kemferol, kersetin, kemferol 3-glukozid (astragalin), kersetin 3-ramnozid (kersitrin), kersetin 3-ksilozid, kersetin 3-galatozid (hiperozid) gibi flavonoidlerin varlığını göstermişlerdir (Bitis et al., 2010). SPE-RP-HPLC metodları kullanılarak 17 *Rosa* türünün yapraklarından hazırlanan ekstraktelerde ellajik asit, kersetin ve kemferol bildirilmiştir (Nowak ve Gawlik-Dziki, 2007). *R. canina*, *R. sempervirens* ve *R. moschata* türlerinin yapraklarından hazırlanan metanol ve etil asetat ekstraktlerinde 15 fenolik bileşik HPLC-DAD ve HPLC-DAD-ESI-MS metodları ile izole edilip tanımlanmış ve *R. canina* yapraklarının kersetin, *R. sempervirens* ve *R. moschata* yapraklarının ise kemferol bakımından zengin oldukları görülmüştür (Ouerghemmi ve ark., 2016).

Sırbistan ve Tunus'ta yetişen *R. canina* kuşburnunun bol miktarda kersetin ve ellajik asit (Hosni ve ark., 2010; Tumbas ve ark., 2012) içerdikleri bildirilmiştir. Ercisli ve ark. (2007), *R. canina*, *R. dumalis* subsp. *boissieri*, *R. dumalis* subsp. *antalyensis*, *R. villosa*, *R. pulverulenta* ve *R. pisiformis* türlerin meyvelerinin yüksek miktarda fenolik bileşik ve askorbik asit içerdikleri bildirmişlerdir.

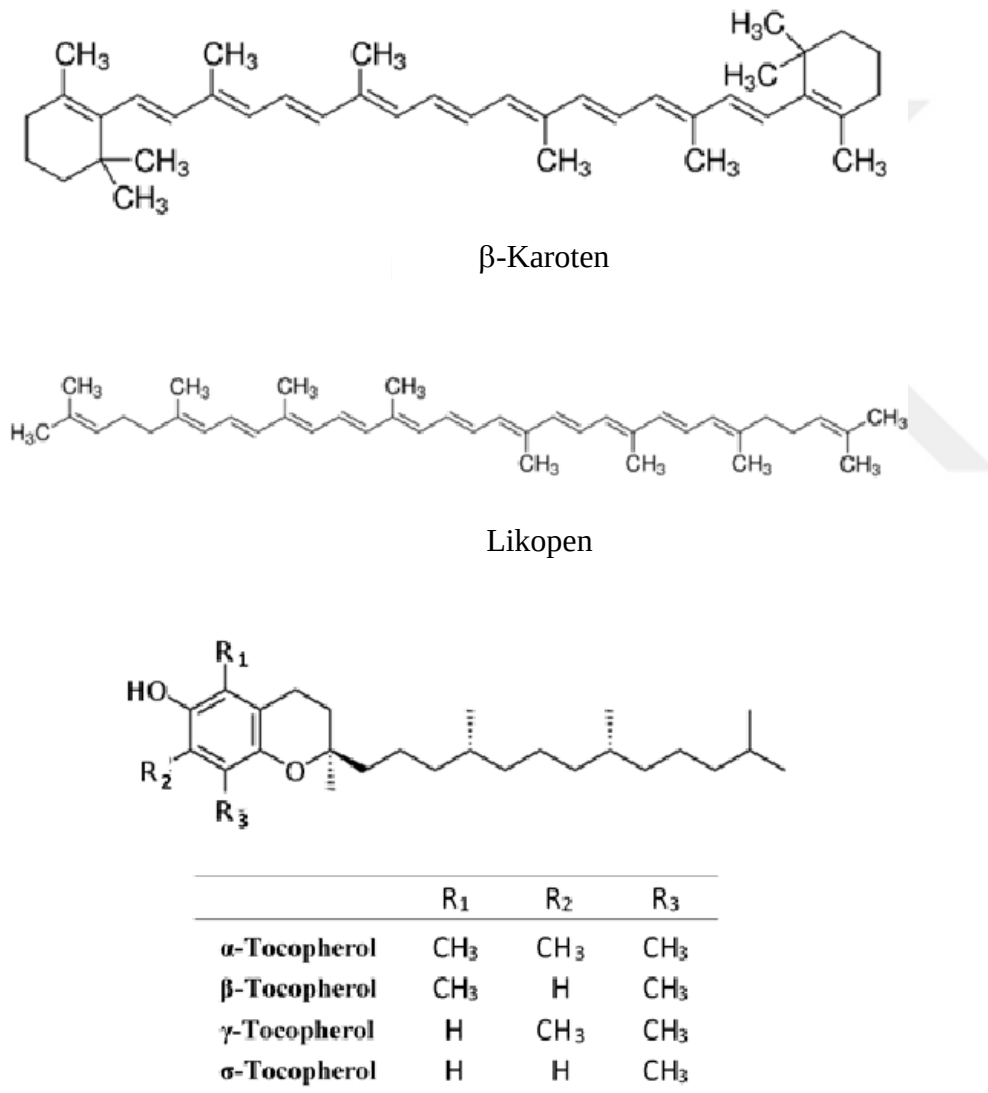
R. davurica köklerinden rosamultin ve gallik asit, metil gallat, protokatehuik asit, kersetin ve huperozid fenolik bileşikleri izole edilmiştir (Park ve ark., 2003).

Gallik asit, kateşin, prosiyanidin-B2 ve hidroksisinnamik asit türevlerinin (klorojenik, t-kafeik, p-kumarik, ferrulik ve sinnaptik asitler) Türkiye'de yetişen *R. canina*, *R. dumalis*, *R. gallica*, *R. dumalis* subsp. *boissieri* ve *R. hirtissima* türlerinden izole edilmiştir (Demir ve ark., 2014).

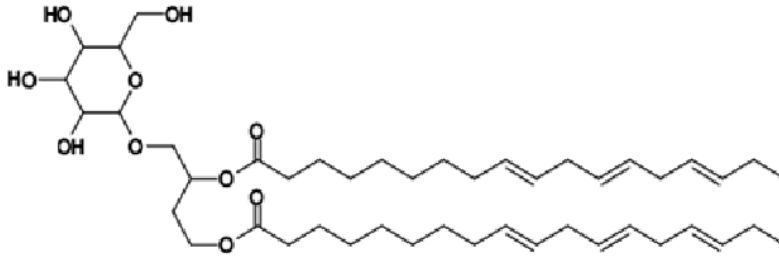


Şekil 2-1: Rosa türlerinde bulunan fenolik bileşikler (Mármol ve ark., 2017).

Rosa türlerinde suda çözünebilen antioksidanlara ek olarak, karotenoidler ve tokoferoller gibi yağda çözünen antioksidanlar da vardır, ancak bu bileşikler daha az çalışılmıştır ve bilgiler diğer biyoaktif maddelerden daha sınırlıdır (Şekil 2-2). Bunlardan en bol olanı β -karoten ve likopen, ardından da β -kriptoksantin, rubiksantin, zeaksantin ve luteindir (Hodisan ve ark., 1997; Hornero-Mendez ve Minguez-Mosquera, 2000; Andersson ve ark., 2011). Rosa türlerinin kuşburnu meyvelerinde yüksek oranda glikolipitler de bildirilmiştir (Şekil 2-3) (Mármol ve ark., 2017).



Şekil 2-2: Rosa türlerinin içerdikleri lipofilik antioksidanlar (Mármol ve ark., 2017).



Monogalaktozildiaçilgliserol

Şekil 2-3: Rosa türlerinde bulunan monogalaktozildiasilgliserol (Mármol ve ark., 2017).

Pentasiklik triterpenler, Rosa türlerinin kuşburnunda en fazla bulunan ve güçlü anti-inflamatuar etkisi gösteren triterpenoit türüdür. Örneğin ursolik asit ve oleanolik asit, *R. canina*, *R. laevigata* ve *R. multiflora*'dan (Zou ve Huang, 2007; Pang ve ark., 2009; Saaby ve ark., 2011), tormentik asit *R. laevigata* ve *R. rugosa*'dan (Yuan ve ark., 2008; Gao ve ark., 2010) izole edilmiştir.

Fitosteroller, antioksidatif ve anti-inflamatuar etkileri olan, bitki kaynaklı steroid alkoller grubudur. Rosa türlerinde en çok bulunan fitosterollerden biri olan sitosterol, doğal olarak *R. canina*, *R. davurica*, *R. laevigata*, *R. multiflora* ve *R. rugosa*'da bildirilmiştir (Yuan ve Du, 2000; Chen ve ark., 2001; Ropciuc ve ark., 2011).

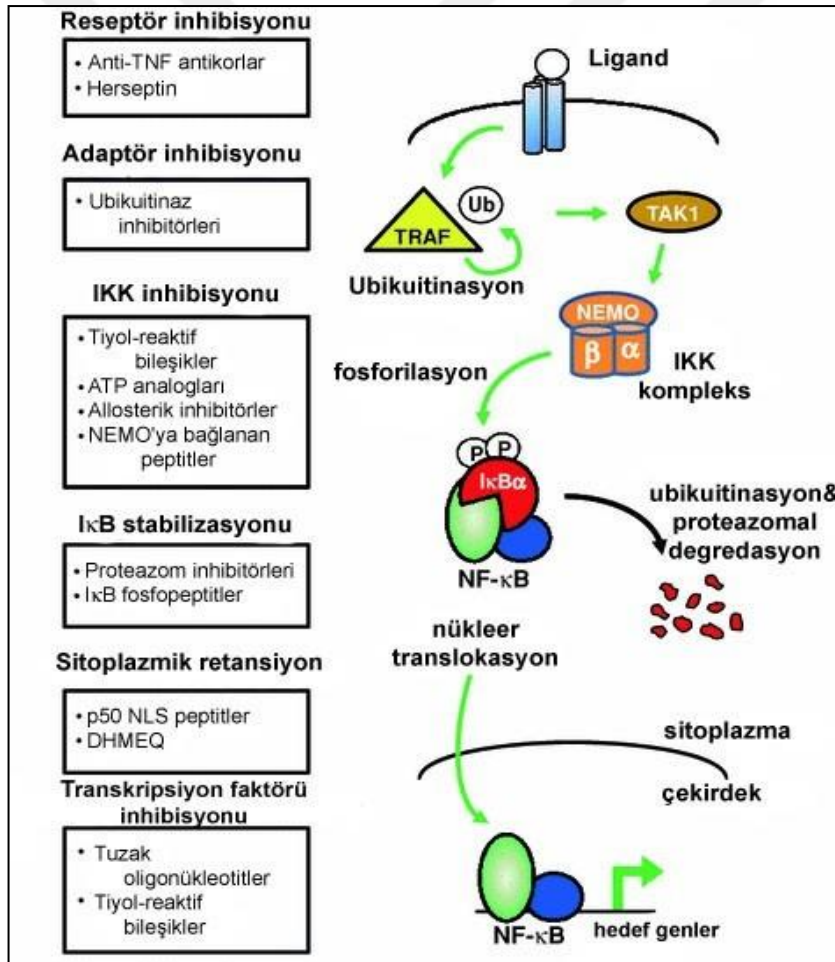
Kuşburnu, meyveler ve sebzeler arasında en yüksek C vitamini içeriğine (300-4000 mg/100 g) sahip olduğu iyi bilinmektedir (Tumbas ve ark., 2012). Ayrıca kuşburnu diğer vitamin ve mineralleri, karotenoidleri, tokoferol, biyoflavonoidleri, meyve asitlerini, tanenleri, pektin, şekerler, organik asitler, amino asitler ve uçucu yağları içerir (Ercisli, 2007).

2.4. Rosa türlerinin Etki Mekanizmaları ve Farmakolojik Etkileri

2.4.1. NF-κB sinyal Yolağın İnhibisyonu

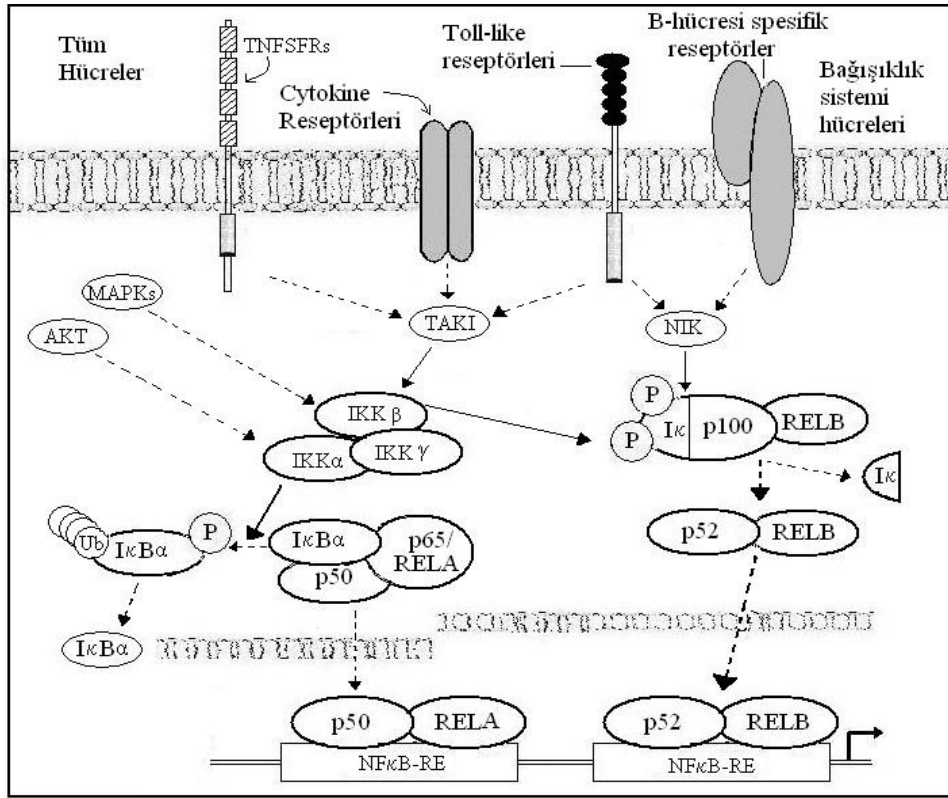
NF-κB, Rel ailesine ait dimerik transkripsiyon faktörleri için kullanılan bir terimdir. Herhangi bir uyarı olmadığı zaman inhibitör proteinlerine (IκB) bağlı olarak NF-κB: IκB kompleksi şeklinde sitoplazmada bulunmaktadır. Sitokinler gibi birçok uyarana cevap olarak, IKK'nin kinaz alt birimlerinin aktivitesi ile IκB proteinlerinin özel serin amino asitleri (genellikle Ser32 ve Ser36) fosforilasyona uğramaktadır.

Fosforilasyonu takiben I κ B proteinlerinin Lys21 ve Lys22 amino asitlerinden ubiquitinasyonu ve daha sonra 26S proteazom tarafından kompleksin yıkılmasının ardından serbest kalan NF- κ B dimerleri, çekirdek içine girerek ve DNA'ya bağlanarak hedef genlerinin ekspresyonunda değişikliklere neden olmaktadır (Şekil 2-4). Sonuç olarak, I κ B kinaz (IKK) kompleksi bağımlı klasik (kanonik) veya NF- κ B bağımlı kanonik olmayan iki aktivasyon yolu ile hücrenin yaşamsal fonksiyonlarını düzenlemektedir. Klasik yol, programlanmış hücre ölümünün inhibisyonunda görev alırken, kanonik olmayan alternatif yol prematüre B hücrelerinin sağkalımı ve ikincil lenfoid organların gelişiminde önemlidir (Lu ve ark., 2006). NF- κ B sinyal yolağı Şekil 2-5'te özetlenmiştir.



Şekil 2-4: NF- κ B'nin aktivasyonunun inhibisyonu için önerilen hedefler (Gilmore ve Garbati, 2011).

Sitokin sinyaline cevap olarak TRAF (TNF reseptörü ile ilişkili faktör) ve dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β 'nin aktifleştirdiği kinaz 1 (TAK1) aracılığı ile NF- κ B'nin aktivasyonu sağlanır.

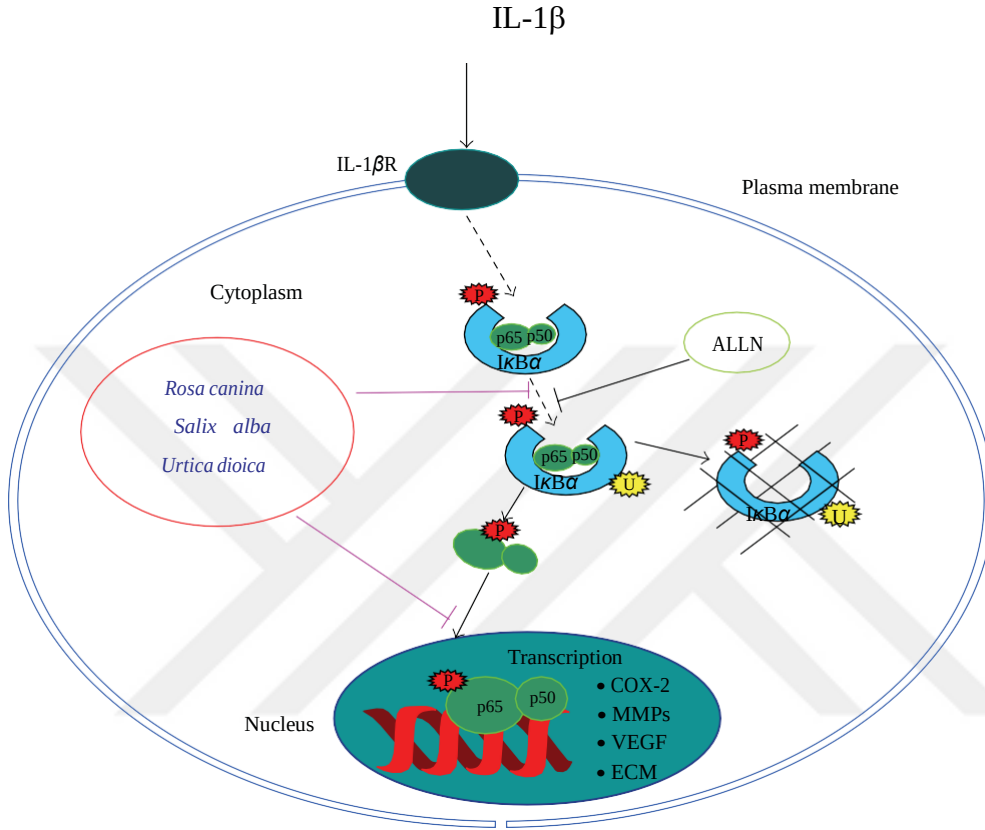


Şekil 2-5: NF-κB sinyal yolağı (Pazarbaşı ve ark., 2011).

NF-κB sinyal yolağı, inflamasyon sürecin gelişiminde, sitokin ve adezyon molekülleri gibi inflamasyon mediatörlerinin ekspresyonunun düzenlenmesinde aracı olarak etki eder. NF-κB, büyüme faktörlerini kodlayan gen ekspresyonunu, proto-onkojen Myc ve hücre döngüsünün düzenleyicisi olan siklin D1'i aktive ederek hücrelerin proliferasyonunu stimule eder ve bu şekilde tümör gelişimine katkıda bulunur. Ayrıca, çevre dokulara tümörün yayılmasına aracılık eden proteolitik enzimler olan matriks metalloproteinazların (MMP), COX-2 ve iNOS genlerin ekspresyonunu, IL-6 ve TNF-α gibi inflamasyona neden olan sitokinlerin, IL-8 gibi hücrelerin migrasyonunu uyaran kemokinlerin ve kemotaktik faktörlerin sentezini uyarak kronik inflamasyonun kansere dönüşmesine aracılık eder. Karsinogeneziste, NF-κB programlanmış hücre ölümünü baskılar. NF-κB aktivitesindeki artış, kronik inflamasyon ve çoğu kanser tipinde gözlenmektedir (Lu ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalarda *R.canina*, *R. rugosa* ve *R. levigata* türlerin kuşburnundan hazırlanan fraksiyonlar veya ekstraktların NF-κB sinyal yolağının bazı basamaklarını inhibe ettikleri rapor edilmiştir. *R. canina* türünün kuşburnundan hazırlanan kloroform

ekstresinin IL-1 β ile indüklenmiş köpek eklem kondrositlerinde, I κ B α fosforilasyonu ve yıkılması ile NF- κ B fosforilasyonu ve translokasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Şekil 2-6) (Shakibaei ve ark., 2012).



Şekil 2-6: Rosa canina, Salix alba ve Urtica dioica ekstrelerinin kondrositlerde IL-1 β ile indüklenen NF- κ B aktivasyonu üzerindeki inhibe edici etkileri (Shakibaei ve ark., 2012).

IL-1 β , kendi reseptörüne bağlanarak, sitoplazmik (I κ κ)- α , I- β ve I κ κ- γ I κ B α kinazlarının aktivasyonuna yol açan hücre içi sinyal transdüksiyon şelalesini uyarır. Kinazlar tarafından I κ B α 'nın fosforilasyonu takiben ubiquitinasyonu ve daha sonra proteazom tarafından kompleksin yıkılmasının ardından serbest kalan NF- κ B dimerleri, çekirdek içine girerek ve DNA'ya bağlanarak hedef genlerinin ekspresyonunda değişikliklere neden olmaktadır. Ekstreler kondrositlerde NF- κ B sinyal transdüksiyon yolunu, fosforile I α B α 'nın ubiquitinasyonunu inhibe ederek ve aktive edilmiş NF- κ B'nin çekirdeğe translokasyonunu bloke ederek etki gösterirler. I κ B α fosforilasyonu ve yıkılmasını N-AcLeu-Leu-norleucinal (ALLN) inhibitörü inhibe etmektedir.

Reaktif oksijen türlerin (ROT) üretimi, mitojenle aktive olan protein kinazların (MAPK) ve serin/treonin protein kinaz (AKT) sinyal yollarının fosforilasyon yolu ile aktivasyonları kronik inflamasyonunun kansere dönüşmesine yol açar. JNK (c-Jun N-

terminal kinaz) ve NF- κ B aktiviteleri arasındaki oranın hücre sağkalımı ve ölümünü kontrol ettiği, JNK aktivasyonu aynı zamanda sitokinlerle uyarılan nekrozu artırarak reaktif oksijen türlerinin birikimini artırdığı belirtilmektedir. *R. rugosa*'dan hazırlanan, polifenol bileşik bakımından zengin fraksiyonun, meme bezi hiperplazisi gelişen sıçanlarda JNK'nin ekspresyonunu modüle ederek ve ayrıca NF-B ile ilişkili oksidatif stresi ve inflamatuvar cevabı hafifleterek anti-hiperplazik etki gösterdiği rapor edilmiştir (Chen ve ark., 2015).

Rosa türlerinden izole edilen birçok bileşiğin NF- κ B ile ilişkili inflamatuvar cevabın üzerindeki inhibitor etkisi incelenmiştir. Loizou ve ark. (2010) bir fitosterol olan beta-sitosterolün, TNF- α ile uyarılmış insan aortik endotel hücrelerinde vasküler adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve hücre içi adezyon molekülü 1 ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği, ayrıca U937 hücrelerinin TNF-alfa ile uyarılan insan aortik endotel hücrelerine bağlanmasını engellediği ve NF- κ B p65'in fosforilasyonunu azalttığı bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada, β -sitosterolün ayrıca 2,4,6-trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) ile indüklenen kolitli farelerin kolonlarında TNF- α , IL-1 β ve IL-6 proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu ve siklooksijenaz-2 (COX)-2'ı inhibe ettiği rapor edilmiştir. Bu bulgulara dayanarak, sitosterolün NF- κ B sinyal yolağını inhibe ederek koliti iyileştirdiği sonucuna varılmıştır (Lee ve ark., 2012).

Sitokin gibi uyarılara cevap olarak, NF κ B'nin RelA/p65 alt birimi asetillenerek aktive olmaktadır. RelA'nın geri dönüşümlü asetilasyonu, hem NF- κ B transkripsiyon yanıtının süresini kontrol eden, hem de sitoplazmik NF- κ B/I κ B α kompleks havuzuna tekrar katılımını sağlayarak hücreyi bir sonraki NF- κ B indükleyici sinyale hazırlayan bir moleküler saat olarak işlev görmektedir (Choi ve ark., 2009).

R. rugosa'nın köklerinden izole edilen öskafik asitin, lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen RAW 264.7 makrofajlarında TLR-4 aracılı NF- κ B aktivasyonunu inhibe ederek inflamatuvar yanıtını azalttığı bildirilmiştir (Kim ve ark., 2012). Ayrıca, LPS uyarısına cevap olarak TRAF6 (TNF reseptörü ile ilişkili faktör 6)'ya IRAK1'in bağlanması ve TAK1 aracılığı ile aktive olan IKK ve MAPK sinyal transdüksiyonu, öskafik asit tarafından inhibe edilerek, NF κ B yolunun aktivitesi azaldığı görülmüştür.

R. agrestis yapraklarından izole edilen astragalinin, kondrositlerde IL-1 β ile indüklenen NF- κ B ve mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz (MAPK) aktivasyonunu inhibe eden peroksisom proliferatörü ile aktive olan reseptör- γ (PPAR- γ)'yı aktive ederek, IL-1 β ile indüklenen NO ve prostaglandin E2 (PGE2) üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Ma ve ark., 2015). Kim ve ark. (2011), astragalinin I κ B α kompleksinin yıkılımını ve NF- κ B'nin translokasyonunu inhibe ederek LPS ile indüklenen NF- κ B yolun aktivasyonunu azalttığını vurgulamışlardır.

19 α -hidroksiursan-tipi bir triterpenoid olan tormentik asidin, LPS ile uyarılmış RAW 264.7 makrofajlarında (An ve ark., 2011) veya IL-1 β ile indüklenen birincil insan osteoartrit kondrositlerinde (Yang ve ark., 2016) COX-2 ve iNOS gibi enzimlerin ve PGE2 ile TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinlerin üretimi üzerine olan inhibitör etkisi araştırılmış ve tormentik asidin, LPS ile uyarılmış COX-2, iNOS ve TNF- α ekspresyonunun üzerine güçlü bir inhibitör etki gösterdiği sonucuna varılmıştır. Sonuçlar, tormentik asidin anti-enflamatuar aktivitesinin, LPS ile uyarılmış NF- κ B'nin DNA'ya bağlanmasını ve NF- κ B'nin p65 ve p50 alt birimlerinin nükleer translokasyonunu azaltması, bunun yanı sıra NF- κ B'nin I κ B- α inhibitörünün fosforilasyonunu ve yıkılımını baskılaması sonucunda meydana geldiğini ve bu etkinin NF- κ B yolağının negatif regülasyonu yoluyla iNOS, COX-2 ve TNF- α 'nın azaltıcı düzenleme ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalar tormentik asidin osteoartrit gibi inflammatuar hastalıkların tedavisinde anti-inflamatuar ajan olarak kullanılabileceği kanıtlar niteliğindedir.

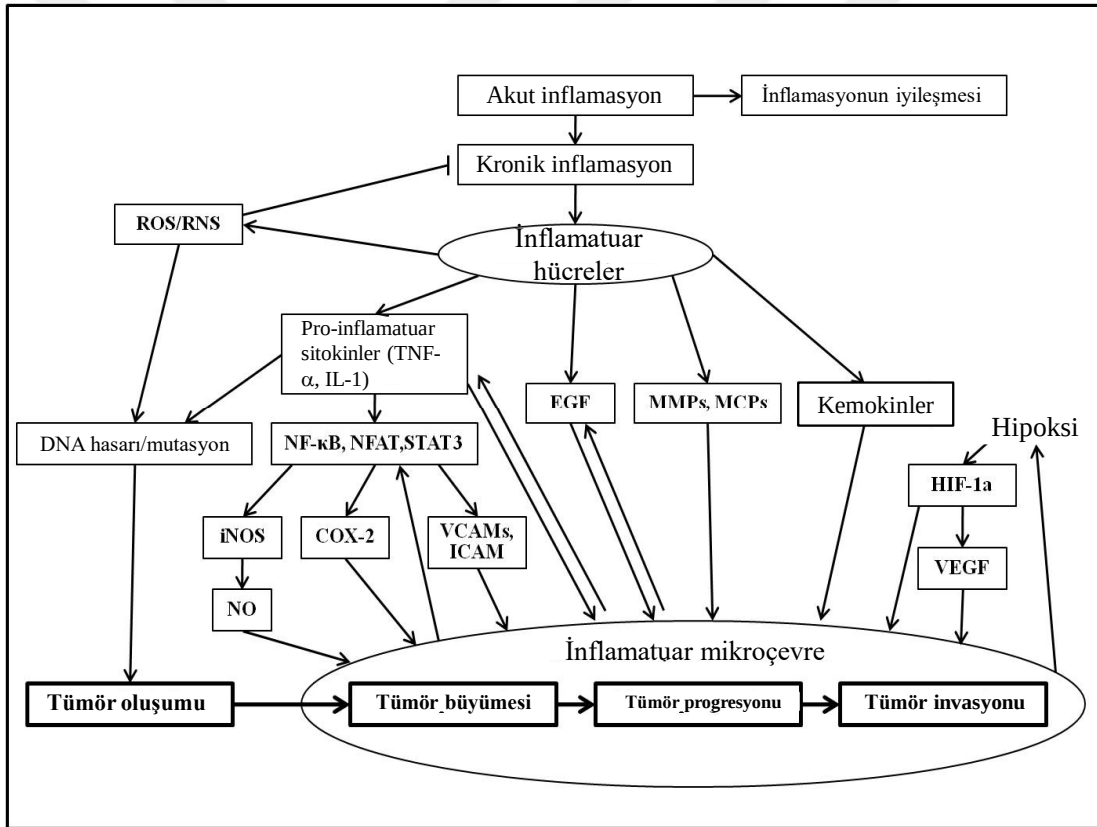
R. laevigata'nın yapraklarından izole edilen laevigin D triterpenoidinin LPS ile uyarılmış RAW 264.7 makrofajlarında NF- κ B transkripsiyonel aktivitesini baskıladığı ve PGE2, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 üretimi üzerine güçlü bir inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (Yan ve ark., 2013).

Nükleer faktör-B ligandının reseptör aktivatörü (RANKL), kemiğin yeniden şekillenmesi için kritik olan başlıca osteoklastojenik sitokinlerden biridir. RANKL, monosit makrofajlarının osteoklastlara farklılaşmasında ve osteoklastların hayatta kalmasında rol oynar. RANK liganda bağlandığında, IKK, NF- κ B ve aktive edilmiş sitoplazma T hücrelerinin nükleer faktörü 1 (NFATc1) osteoklastojenez yol açacak şekilde sırayla aktive olmaktadır. *R. canina*'nın kuşburnundan elde edilen sulu ekstrenin, fare makrofajlarında RANKL'ın aracılık ettiği NF- κ B'nin aktivasyonunu inhibe ettiği ve

RANKL ile indüklenen osteoklastogenezi yavaşlattığını bildirilmiştir (Kurt ve ark., 2013).

2.4.2. Pro-İnflammatuar Enzimleri İnhibe Edici Aktivitelerinin Araştırılması

İnflamasyon, lökositler, makrofajlar, mast hücreleri, trombositler tarafından üretilen çeşitli sinyal moleküllerinin aracılık ettiği karmaşık bir patofizyolojik süreçtir. İnflamasyonda, aktive olan siklooksijenaz (COX), indüklenen nitrik oksit sentaz (iNOS), 5-lipoksijenaz (5-LOX), 12-lipoksijenaz (12-LOX), matriks metalloproteinaz (MMPs) ve hiyaluronidaz enzimlerin etkisiyle pro-inflammatuar prostaglandinler, NO, lökotrienler gibi pro-inflammatuar mediatörler oluşmaktadır. Kanser oluşumunda inflamasyonun rolü Şekil 2-7’de özetlenmiştir.



Şekil 2-7: Kanser oluşumunda inflamasyonun rolü (Lu ve ark., 2006).

2.4.2.1. Metaloproteinazlar

İltihaplı eklemlerdeki aktive sinoviyositler ve mononükleer hücreler, kolajen yıkılmasını katalize eden metaloproteinaz enzimlerinin ekspresyonlarını anlamlı bir şekilde arttırdıkları bildirilmiştir. İndüklenen MMP'ler (MMP-1, MMP-9 ve MMP-13)

ile endojen kırıkta MMP inhibitörleri arasındaki dengesizlik, kondrositlerde apoptozu indüklediği ve osteoartrit ve romatoid artritte yüksek miktarda bulunan MMP'ler kırıkta yıkımına katkıda bulundukları rapor edilmiştir. *R. canina*'nın kuşburnundan hazırlanan kloroform ekstresinin, IL-1 ile uyarılmış birincil köpek eklem kondrositlerinde MMP-9 ve MMP-13'ün protein ekspresyonlarını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Shakibaei ve ark., 2012).

R. canina'nın kuşburnu tozu ve içerdiği galaktolipidin, insan diz eklemi kondrositlerinde IL-1 ile indüklenmiş katabolik MMP-1, MMP-3, MMP-13'ün aşırı ekspresyonunu azaltarak kırıkta koruduğu bildirilmiştir (Schwager ve ark., 2011; Schwager ve ark., 2014).

2.4.2.2. Siklooksijenazlar

Siklooksijenazlar, araşidonik asitten (AA) PG'lerin üretimini katalize eden ve inflamasyonda rolü olan önemli enzimlerdir. COX enzimlerinin iki izoformu bilinmektedir: neredeyse tüm hücrelerde yapısal olarak eksprese edilen COX-1 ve bir inflamatuvar olayda indüklenen COX-2. Hem COX-1 hem de COX-2, steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler) tarafından inhibe edilmektedir. Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar artrit, romatizma gibi çeşitli inflamasyonlu hastalıkların tedavisinde en çok tercih edilen ilaçlardır. Ancak bu ilaçların gastrointestinal ülserler ve renal kanama gibi yan etkileri non-steroidal antiinflamatuvar ilaçların kullanılışlarını sınırlandırmıştır ve bu nedenle araştırmacılar çalışmalarını, araşidonik asit yolağının başlamasında anahtar rol oynayan COX-1 ve COX-2 enzimlerinin inhibisyonu üzerinde yoğunlaştırmıştır. Bu alanda ilaç geliştirmenin ana hedefi yan etkileri minimuma indirilmiş antiinflamatuvar etkili yeni bileşiklerin tasarlanıp geliştirilmesidir. Çeşitli nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, COX-1 veya COX-2 aktivitelerini kovalent modifikasyon veya substrat bağlanma bölgesi için yarışma yoluyla inhibe eder (Lu ve ark., 2006).

Rosa ekstrelerinin ve çeşitli bileşiklerin anti-inflamatuvar ve antitümör etkilerini araştırmak için, çoğunlukla siklooksijenaz enzimlerini inhibe edici aktiviteleri ölçülmektedir. COX-1 fizyolojik süreçlerde rol alarak sürekli şekilde eksprese edilirken, COX-2 ekspresyonunun pek çok premalign dokuda ve malign tümörlerde sıklıkla arttığı gösterilmiştir. COX-2 ekspresyonu, lipopolisakkarit, IL-1 β ve TNF gibi proinflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörleri gibi çeşitli uyaranlarla indüklenebilir.

Kronik inflamasyon epitelyal karsinogenez için önemli bir risk faktörüdür. Kronik inflamasyon olan bölgelerde sitokin kaynaklı COX-2 indüksiyonu sonucunda prostaglandin miktarları artar. Bu durumun kronik inflamasyonda kanser riskinin arttırmasının nedenlerinden birisi olduğunu düşünülmektedir (Lu ve ark., 2006).

R. canina kuşburnundan hazırlanan n-heksan, diklorometan ve methanol ekstrelerin, hem COX-1 hem de COX-2'yi inhibe ettikleri gösterilmiştir (Jager ve ark., 2007; Wenzig ve ark., 2008).

Rosa türlerinden izole edilen astragalin'in (Kim ve ark., 2011; Ma ve ark., 2015), COX ve LOX enzimlerini inhibe ettiği bildirilmiştir.

Tormentik asidin LPS ile uyarılmış COX-2, iNOS ve TNF- α ekspresyonunun üzerine güçlü bir inhibitör etki gösterdiği sonucuna varılmıştır (An ve ark., 2011; Yang ve ark., 2016).

Gül yağının ana bileşenleri olan geraniyol ve sitronellolün, güçlü COX-2 inhibitörü ve NF- κ B aktivitesini inhibe eden peroksizom proliferasyonunu aktive edici reseptör alfa ve gama (PPAR- α ve γ) aktivatörü olarak etki ettikleri bildirilmiştir (Katsukawa ve ark., 2011).

Romatoid artrit ve uyuz tedavisinde kullanılan *R. multiflora* Thunberg'in köklerinden izole edilen tannenlerden procyanidin B-3 (ProB3) ve ent-guibourtinidol-(4 β $\rightarrow$ 6)-catechin (RM-1)'in immünomodülatör özelliklerini değerlendirmek amacıyla NC/Nga farelerdeki atopik dermatit benzeri deri lezyonlarına uygulanmış ve hem ProB3 hem de RM-1'in eozinofilleri, IgE'i ve belirli Th2 sitokinlerin (IL-4, 5 ve 13) serum seviyelerini önemli ölçüde düşürdüğü, fare deri dokularında COX-2 ve iNOS'un hem mRNA hem de protein ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı görülmüş ve atopik dermatit olmak üzere alerjik cilt durumlarının tedavisinde kullanılabilecekleri sonucuna varılmıştır (Park ve ark., 2011).

Başka bir çalışmada *R. taiwanensis* Nakai'nın % 70 etanol ekstresinin sıçanlarda λ -carrageenan ile indüklenmiş pençe ödemi üzerine incelenen antiinflamatuvar etkisinin, COX-2 inhibisyonu yoluyla proinflamatuvar PG'lerin üretiminin azalması, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerini baskılanması, SOD aktivitelerinin artması, MDA ve NO düzeylerinin azalması ile ilgili olabileceği sonucuna varılmıştır (Tsai ve ark., 2015).

2.4.2.3. iNOS

R. canina'nın kuşburnu tozunun ve bileşinlerinden biri olan galaktolipit'in, LPS ile uyarılmış RAW 264.7 makrofajlarında veya insan kan lökositlerinde NO ve PGE2 üretimini inhibe ettikleri bildirilmiştir (Schwager et al., 2011).

2.4.3. Pro-inflamatuar Sitokinlerin ve Kemokinlerin Üretiminin İnhibisyonu Üzerindeki Etkinin Araştırılması

IL, TNF- α , büyüme faktörleri ve farklılaşma faktörleri (koloni uyarıcı faktörler)'in kapsayan sitokinler, bağışıklık hücrelerinin büyümesinde, farklılaşmasında ve aktivasyonunda düzenleyici bir rol oynayan, zara bağlı veya salgılanan moleküllerdir (Lu ve ark., 2006).

Aktive makrofajlar ve tümör hücreleri tarafından salgılanan TNF- α , zara bağlı homotrimerik TNFRI reseptörüne bağlanması ile NF- κ B ve c-Jun transkripsiyon faktörlerini aktive eder ve immün, inflammatuar ve oksidatif stres yanıtları gibi biyolojik süreçlerde görevi olan pek çok genin ekspresyonunun düzenlenmesinden sorumludur. TNF, diğer inflammatuar sitokinleri, kemokinleri, büyüme faktörleri ve endotelial adezyon faktörlerinden oluşan bir inflammatuar şelalesini başlatabilir ve doku hasarı oluşan bölgede aktive edilmiş hücrelerin toplanmasına yol açar.

Kemokinler, sitokinlerin en büyük ailesini oluştururlar. İnflamasyon süreçlerinde, genellikle sitokinler tarafından indüklenen kemokinler, lökositlerin inflammatuar bölgeye göçünü kontrol eden başlıca çözünür düzenleyicilerdir.

Birçok çalışmada deneysel inflammatuar modellerinde, *R. canina* ve *R. laevigata* kuşburnunun ile *R. agrestis* ve *R. laevigata* yapraklarının proinflammatuar sitokinlerin ve kemokinlerin üretimini baskılayarak inflammatuar yanıtı hafifletebilecekleri ileri sürülmüştür (Kim ve ark., 2011; Schwager ve ark., 2011; Yan ve ark., 2013; Schwager ve ark., 2014).

2.4.4. Anti-inflamatuar Etkinin Araştırılması

Sıçan/farelerde karrageenan, araşidonik asit, PGE1 veya ksilen ile indüklenen akut pençe veya kulak ödemi ile asetik asit ile indüklenen kapiler permeabilite artışı modellerinde *R. canina* (Deliorman Orhan ve ark., 2007; Lattanzio ve ark., 2011), *R. taiwanensis* (Tsai ve ark., 2015) ve *R. multiflora* (Zhang ve ark., 2008) kuşburnunun, *R.*

damascena yapraklarının (Hajhashemi ve ark., 2010), *R. hybrida* çiçeklerinin (Choi ve Hwang, 2003), *R. davurica* yapraklarının (Jung ve ark., 2011) anti-inflamatuar etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. Bu çalışmalar, Rosa türlerinin farklı kısımlarından (kuşburnu, yapraklar, çiçekler) hazırlanan lipofilik ekstraktların, hem akut hem de kronik inflammatuar hastalıkların tedavisinde doğal kaynak olarak kullanabileceklerini göstermiştir.

2.4.4.1. Anti-artritik Etkinin Araştırılması

Sıçan/farelerde tip II kollajen, Freud adjuvanı ve formalaldehit ile indüklenen romatoid artrit ve osteoartrit modellerinde *R. multiflora* kuşburnunun (Wu ve ark., 2014), *R. centrifolia* çiçeklerinin (Kumar ve ark., 2015a; Kumar ve ark., 2015b), *R. hibrida* çiçeklerinin (Choi ve ark., 2003) immunomodülatör etki gösterdikleri ve dolayısıyla artrit şiddetini azalttıkları bildirilmiştir.

Kıkırdak yapısının bozulması ve ekstrasellüler matriksin harabiyeti ile sonuçlanan ve inflammatuar bir hastalık olan osteoartrit, deneysel olarak eklem serum fizyolojik ve monoiyodoasetat enjeksiyonu ile indüklendiğinde, *R. canina* kuşburnunun kollajen parçalanmasına yol açan pro-inflamatuar sitokin ve metalloproteinazların salgılanmasını baskıladığını görülmüştür (Park ve ark., 2014a).

2.4.4.2. Anti-Ülserojenik Etkinin Araştırılması

R. canina ekstresinin anti-ülserojenik etkisi Gürbüz ve ark. (2003) tarafından bildirilmiştir. Lattanzio ve ark. (2011), *R. canina* ekstresinin gastrik mukoza eryoziyonunu ve hemorajik ülser oluşumunu önleyerek anti-ülserojenik etki gösterdiği ve bu etkinin gastrik pH'da bile korunmuş olan antioksidan aktivitesinden ileri geldiği ileri sürmüştür.

2.4.4.3. Anti-dermatit Etkinin Araştırılması

Atopik dermatit (AD), özellikle çocuklarda görülen kronik inflammatuar hastalıktır. *R. multiflora* kök ekstresinin topikal uygulanması ile farelerde AD benzeri hasarın iyileştiği görülmüştür. *R. multiflora*'nın anti-AD aktivitesi, COX-2 ve iNOS gibi pro-inflamatuar enzimlerin mRNA düzeylerini azalttığı için anti-inflamatuar etkisiyle ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca tedaviden sonra, serum Th2 seviyelerini önemli ölçüde azalttığı için, *R. multiflora*'nın, Th2-immun yanıtında düzenleyici etkisi olduğu ileri sürülmüştür. Bu bulgular, AD tedavisinde *R. multiflora*'nın umut verici bir

terapötik ajanı olarak kullanabileceğini göstermektedir. *R. multiflora* köklerinde bulunan farklı bileşenlerden yoğunlaştırılmış tanen RM-3'ün AD'ye karşı en etkili olduğu gösterilmiştir (Park ve ark., 2014b).

2.4.5. Antioksidan Etkinin Araştırılması

Gao ve ark. (2000), *Rosa* cinsindeki altı taksonu temsil eden 18 kuşburnu ekstresini, FRAP ve TEAC metodları kullanım yoluyla antioksidan aktiviteler açısından değerlendirmişlerdir.

Moure ve ark. (2001), *R. rubiginosa* tohumlarından hazırlanan metanol ve etanol, ekstrelerin antioksidan aktivitesinin, içerdiği fenolik bileşiklerinin peroksit radikallerini oluşumunu engelleme ve DPPH serbest radikalleri giderme etkisinden kaynaklanabileceği sonucuna varmışlardır.

R. canina'nın kuşburnu, bol miktarda C vitamini ve diğer antioksidanlar içerdiği için antioksidan özellikleriyle bilinmektedir. Kuşburnundan elde edilen lipofilik ekstre, insan polimorfonükleer nötrofillerinde (PMN) superoksit anionu, hipoklorik asit ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin üretimini azalttığı bildirilmiştir (Daels-Rakotoarison, 2002).

Ttiyobarbitürik asid (TBA) testi kullanılarak *R. pimpinellifolia* (koyun gözü) meyvelerinden hazırlanan sulu ekstrenin yüksek lipid peroksidasyonunu inhibe edici potansiyeli tespit edilmiştir (Mavi ve ark., 2004).

Nowak ve ark. (2007), *R. canina* L. var. *canina*, *R. canina* L. var. *corymbifera* (Borkh.) Boulenger, *R. canina* L. var. *puberula* R. Keller, *R. canina* L. var. *dumalis* Baker, *R. vosagiaca* Desportes, *R. subcanina* (H. Christ) Dalla Torre et Sarnath, *R. coriifolia* Fri., *R. caryophyllacea* Besser pro parte, *R. subcollina* (H. Christ) Dalla Torre et Sarnath, *R. tomentosa* Sm., *R. rubiginosa* L., *R. villosa* L., *R. inodora* Fri., *R. agrestis* Savi, *R. jundzilli* Besser, *R. pendulina* L., *R. rugosa* Thunb., *R. gallica* L. yapraklarından hazırlanan metanol ekstrelerin antioksidan aktiviteleri, içerdikleri fenolik bileşiklerinin (kersetin, ellajik asid, kemferol) DPPH serbest radikalleri giderme etkisinden kaynaklanabileceği sonucuna varmışlardır.

Linoleik asit peroksidasyonu ve lesitin lipozom oksidasyon deneyleri kullanılarak British Columbia (Canada)'da yetişen *R. nutkana*, *R. pisocarpa* ve *R.*

woodsii türlerinin kuşburnundan hazırlanan metanol ekstralarının α -tokoferole eşdeğer antioksidan aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Yi ve ark., 2007).

Serteser ve ark. (2008), *R. foetida* Herm., *R. hemisphaerica* J.Herm., *R. pulverulenta* M.Bieb., *R. canina* L' dan elde edilen metanol ekstralarının, DPPH serbest ve H_2O_2 radikalleri giderici etkisi gösterdikleri sonucuna varmışlardır.

R. canina'nın meyvelerinden hazırlanan etanol ekstrenin fraksiyonlandırılması ile elde edilen kloroform, etil asetat, butanol ve su ekstralarının antioksidan etkinin incelenmesinde, en yüksek DPPH serbest radikal giderici aktiviteyi etil asetat fraksiyonun, en güçlü redükleyici gücü ise kloroform ekstrenin gösterdiği görülmüştür (Orhan ve ark., 2009).

R. agrestis'in kurutulmuş yapraklarından fraksiyonlandırma ile hazırlanan ekstralarının antioksidan aktivitesi, ABTS^{•+}, DPPH[•], süperoksit anyonu ve hidroksil radikal giderici aktiviteleri, indirgeme gücü (FRAP), metal kelatlama aktivitesi, β -karoten beyazlatma etkisi gibi çeşitli antioksidan testler kullanılarak incelenmiştir (Bitiş ve ark., 2010).

Guimarães ve ark. (2010) *R. micrantha*'nın taç yaprakları, çiçekleri, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış kuşburnundan hazırlanan ekstralarının esansiyel yağ asitleri, redükleyici şekerleri, vitamin (tokoferol ve askorbik asit), karoten (β -karoten ve likopen), total fenol bileşik ve flavonoid miktarları ile β -karoten beyazlatma, lipid peroksidasyonunu inhibe edici, DPPH[•] serbest radikali giderici aktiviteleri ve ferri iyonu redükleme gücü bakımından incelemiş ve ekstraların her biri TBARS oluşumunu doza bağımlı olarak inhibe edici, DPPH[•] radikali giderici ve ferri iyonunu redükleyici etkisine sahip oldukları sonucuna varmışlardır. En yüksek tokoferol, total fenolik bileşik ve flavonoid miktarının ve antioksidan aktivitenin taç yaprak ve çiçek ekstralarında olduğu bildirilmiştir.

Oztürk Yılmaz ve Ercisli, (2011), β -karoten beyazlatma yöntemini kullanarak, *R. pisiformis*, *R. canina*, *R. villosa* ve *R. dumalis* subsp. *antalyensis* türlerinin kuşburnundan hazırlanan ekstralarının yüksek antioksidan etki gösterdikleri gözlemişlerdir.

Abdel-Hameed ve ark. (2012) tarafından yapılan başka bir çalışmada, *R. damascena trigintipetala* Dieck'ten hazırlanan metanol ekstrenin sırasıyla kloroform,

etil asetat ve en sonunda n-bütanol ile tüketilerek fraksiyonlandırılmıştır. Elde edilen üç fraksiyonun DPPH• serbest radikali giderici ve ferri iyonu redükleme gücü bakımından incelenmiştir ve etil asetat ekstresinin en yüksek aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Ozsoy ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada *R. horrida*'nın yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin potansiyel antioksidan olarak askorbik asit ve demir ile indüklenmiş fosfatidilkolin lipozomlarının peroksidasyonunu engellediği, Fe^{2+} iyonunu bağladığı, ABTS^{•+}, DPPH• ve süperoksit radikallerini giderdiği, indirgeyici güç gösterdiği ve doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Guimares ve ark. (2014), *R. micrantha* ve *R. canina*'nın kuşburnundan hazırlanan antosiyanin bakımından zengin ve antosiyanin içermeyen fakat fenolik bileşiklerden zengin ekstrelerin antioksidan aktivitelerini kıyaslamışlar ve antosiyanin içermeyen ekstrelerin daha yüksek antioksidan etki gösterdikleri gözlemişlerdir.

Denev ve ark. (2014), *R. canina* kuşburnundan hazırlanan ekstrenin zimosan ile aktive edilen opsonize fagositlerin ROS üretimini inhibe ederek protein kinaz C (PKC) ile aktive olan solunum patlamasının aktivasyonunu ve dolayısıyla inflamasyonu engelleyebileceğini sonucuna varmışlardır.

Demir ve ark. (2014) Türkiyede yetişen *R. canina*, *R. dumalis*, *R. gallica*, *R. dumalis* subsp. *boissieri* ve *R. hirtissima* türlerinin kuşburnundan hazırlanan ekstrelerinin güçlü DPPH• serbest radikali ve ABTS^{•+} radikal katyonu giderici aktivitesi ile ferri iyonu redükleme gücü gösterdikleri bildirilmiştir.

R. canina L. ve *R. rugosa* Thunb. türlerinden hazırlanan şarapların antioksidan kapasitesi TEAC değeri (8-13.5 mM) olarak bildirilmiştir (Czyzowska ve ark., 2015).

Tunusta yetişen *R. sempervirens* ve *R. moschata* türlerinin yaprak ekstrelerinin özellikle bu türlerin kolayca bulunabildikleri bölgelerde potansiyel bir antioksidan fenolik kaynağı ve *R. canina*'ya alternatif olarak kullanılabilecekleri ileri sürülmüştür (Ghazghazi ve ark., 2012; Ouerghemmi ve ark., 2016).

Bitiş ve ark. (2017) tarafından *R. sempervirens* yapraklarından hazırlanan petrol eteri, kloroform, etil asetat ve etanol ekstrelerinin total fenol bileşik miktarları, DPPH• serbest radikali ve ABTS^{•+} radikal katyonu giderici aktiviteleri bakımından incelenmiş ve en yüksek total fenolik bileşik miktarının, en yüksek antioksidan aktiviteyi gösteren etil

asetat ekstresinde olduğu saptanmıştır.

2.4.6. Antikanser etkinin araştırılması

R. canina'nın kuşburnundan hazırlanan ekstrelerin birçok kanser hücre hatları üzerindeki güçlü inhibitör etkileri, antioksidan etkileri ile iyi bir korelasyon gösterdikleri bildirmişlerdir.

Lee ve ark. (2008), *R. rugosa* methanol ekstresinin, anti-histon asetiltransferaz aktivitelerine bağlı olarak insan prostat kanseri hücre (LNCaP) büyümesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Androjen reseptörü, prostat kanseri proliferasyonu için anahtar görevi gören, ligand-bağımlı bir transkripsiyon faktörüdür. Histon asetilasyonu, AR ile ilişkili genlerin transkripsiyonunu düzenler, bu nedenle pek çok anti-prostat kanser ilacı bu süreci kesintiye uğratmak için tasarlanmıştır. *R. rugosa* ekstresi, histon asetiltransferaz aktivitesini inhibe ederek androjen reseptör aracılı transkripsiyonunu inhibe ettiği ve bunun sonucunda hücre ölümünü indüklediği gözlenmiştir. Ayrıca, *R. rugosa* ekstresinin, prostat kanseri kemoterapisinde yaygın olarak kullanılan bir androjen reseptör antagonisti olan flutamidin ile birlikte uygulanması sonucunda daha yüksek bir transkripsiyon bloke etme aktivitesi göstermiştir. Bu sinerjik etki, *R. rugosa* ekstresinin tek başına veya bir adjuvan olarak terapide umut verici bir geleceğe sahip olabileceğini göstermektedir.

Fujii ve ark. (2011) *R. canina* kuşburnundaki proantosiyanidinlerin, B16 fare melanom hücrelerinde melanogenezi inhibe edici etkisine büyük ölçüde katkıda bulunduğunu göstermişlerdir. Ayrıca Rosa ekstresinin kobay derisinde tirozinaz aktivitesini inhibe ederek pigmentasyonun inhibisyonuna da neden oldukları ve ağızdan alındığında cilt beyazlatma maddesi olarak yararlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

R. roxburghii, antitümör özelliklere sahip diğer bir geleneksel tıbbi bitkidir. İlk olarak, Liu ve ark. (2012), *R. roxburghii* ekstresinin *Fagopyrum cymosum* ile birlikte verildiği zaman insan özofagus skuamöz (CaEs-17), insan mide (SGC-7901) ve pulmoner (A549) kanser hücrelerinde intrinsik apoptozu indüklediği ve tümör gelişimini baskıladığı ile ilgili bulgular elde etmişlerdir. Daha sonra Chen ve ark. (2014), *Rosa roxburghii*'den izole edilen ham polisakkaritlerin, epitel yumurtalık kanser (A2780) hücre hattında apoptozu indükleyerek tümör gelişimini inhibe ettiğini, bu da *Rosa roxburghii*'nin metastatik yumurtalık kanserinin tedavisi için potansiyel terapötik ajan olarak kullanabileceği sonucuna varmışlardır. Ayrıca, polisakkaritlerle

inkübasyonun, yumurtalık kanseri de dahil olmak üzere belirli tümörlerde artırıcı düzenleme ile etki eden ve metastazda artışa neden olarak tümör gelişimini uyaran bir proteolitik enzim olan matriks metaloproteaz-9 (MMP-9) ekspresyonunun azalmasına yol açtığını gözlemlenmiştir.

Thumbas ve ark. (2012). *R. canina* kuşburnundan hazırlanan ekstrenin HeLa, MCF7 ve HT-29 hücre hatları üzerinde gösterdiği antiproliferatif etkinin içerdiği polifenollerden kaynaklandığı sonucuna varmışlardır. Guimarães ve ark. (2014) tarafından yapılan başka bir çalışmada, *R. canina* ve *R. micrantha*'nın kuşburnundan elde edilen ekstraktlarının insan servikal (HeLa), kolon (HCT-15), meme (MCF-7), akciğer (NCI-H460), hepatosellüler (HepG2), tümörlü olmayan karaciğer primer kültürü (PLP2) hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri incelemiştir ve MCF-7 hücre hattında hücre canlılığını arttırdığı, diğer kanser hücre hatlarında ise inhibe ettiği gözlemiştir. Her iki araştırmacı da incelenen bu iki *Rosa* türünün MCF gibi östrojen-bağımlı hücrelerin büyümesini stimule edici etkisi içerdikleri fitoöstrojenlerden ileri gelebileceği ve meme kanseri olan kişiler tarafından kullanılmaması gerektiğini sonucuna varmışlardır.

Glikolitik fenotip sergileyen tümör hücreleri, glukozu oksijen varlığında da glikolitik yolla yıkararak enerji elde etme yoluna giderler (Warburg etkisi) ve reaktif oksijen türlerini sinyal molekül olarak kullanırlar. Tümör hücreleri enerji gereksinimlerinin yaklaşık %85 ini bu yolla karşılarlar. Tümörögenез sırasında Warburg etkisini düzenleyen sinyal yolağını değiştiren maddeler, kanser hücrelerinin enerji kaynaklarını ve çoğalmasını sınırlayarak ve glukoz metabolizmasını durdurarak fayda sağlamaktadır. Bu nedenle glikolitik fenotip sergileyen tümörü olan hastalara antioksidan içeren *Rosa* türleri fayda sağlamaktadır (Guimarães ve ark., 2014).

Jimenez ve ark. (2016), *R. canina* kuşburnundan hazırlanan ekstrenin fraksiyonlandırılması ile elde edilen fraksiyonların, kolon kanser hücre hattına (Caco-2) karşı antiproliferatif ve antioksidan etki gösterdikleri bildirmişlerdir.

R. canina yapraklarından hazırlanan su-etanol yaprak ekstrenin akut miyeloblastik (HL60) ve miyelomonositik (U937) lösemi hücrelerinin büyümesini ve canlılığını azalttığı ve sitotoksik olmayan dozlarda, D vitamininin hormonal formu olan 1 α , 25-dihidroksivitamin D3'ün düşük dozu ile indüklenen hücre farklılaşmasını güçlendirdiği bildirilmiştir (Zhamanbayeva ve ark., 2016). Ayrıca bitki ekstresi ile

inkübasyon, vitamin D ve retinoid X reseptörlerinin transkripsiyonel aktivitesinde bir artış gözlenmiştir, bu nedenle *R. canina*'da bulunan bazı fitokimyasalların, miyeloid lösemiye karşı klinik deneylerde test edilen 1,25-dihidroksivitamin D3 analoglarının etki mekanizmasını taklit edebileceğini ileri sürülmüştür.

2.4.7. Antidiabetik Etkinin Araştırılması

Diabetes mellitusun ana nedenlerinden biri, pankreas β hücresi canlılığının ve işlevinin azalmasıdır.

Orhan ve ark. (2009), *R. canina* meyvelerinden hazırlanan etanol ekstrenin streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçanlarda kan şekeri seviyesini önemli ölçüde düşürdüğü (% 50-62) ve hipoglisemik etki gösterdiği bildirmişlerdir. Bu bulguları destekleyen histopatolojik incelemede, *R. canina* ekstresinin (250 mg/kg vücut ağırlığı), kontrol grubundaki diyabetik sıçanlara kıyasla adacık sayısını önemli ölçüde artırdığını ve nekrotik adacıkların histolojisini iyileştirdiğini gözlenmiştir.

Can ve ark. (1992), *R. canina* meyvelerinden hazırlanan sulu ve etanol ekstralarının normal tavşanlarda hipoglisemik aktiviteye sahip olmadığını göstermişlerdir.

Fattahi ve ark. (2017), sitotoksikite ve hücre proliferasyonu testleri kullanarak *R. canina* ekstresinin 0.001 mg/mL konsantrasyonunda pankreatik β -hücre (β TC6) proliferasyonunu iyileştirme potansiyeline rağmen, DNA hasarını ve sonuç olarak diabetes mellitus tip 2'de görülen glukotoksikite ile ilişkili β hücresi canlılığının azalmasını önleyemediği sonucuna varmışlardır.

Tip 2 diyabet tedavisinde diğer bir terapötik yaklaşım, yemek sonrası hiperglisemiye azaltmak için α -amilaz ve α -glukozidaz gibi karbohidratları hidrolize eden enzimlerin inhibe edilmesi ile glukoz üretiminin veya emiliminin geciktirilmesidir. Rosa türlerinden hazırlanan kuşburnu ekstralarının her iki enzimi de inhibe ettikleri bildirilmiştir. α -Glukozidaz aktivitesi yüksek oranda baskılandığı zaman kan dolaşımına hızlı glukoz salınımı önlenir ve bu da kan şekeri seviyesinin düzenlenmesine katkıda bulunur (Mármol ve ark., 2017).

2.4.7. Nörokoruyucu Etkinin Araştırılması

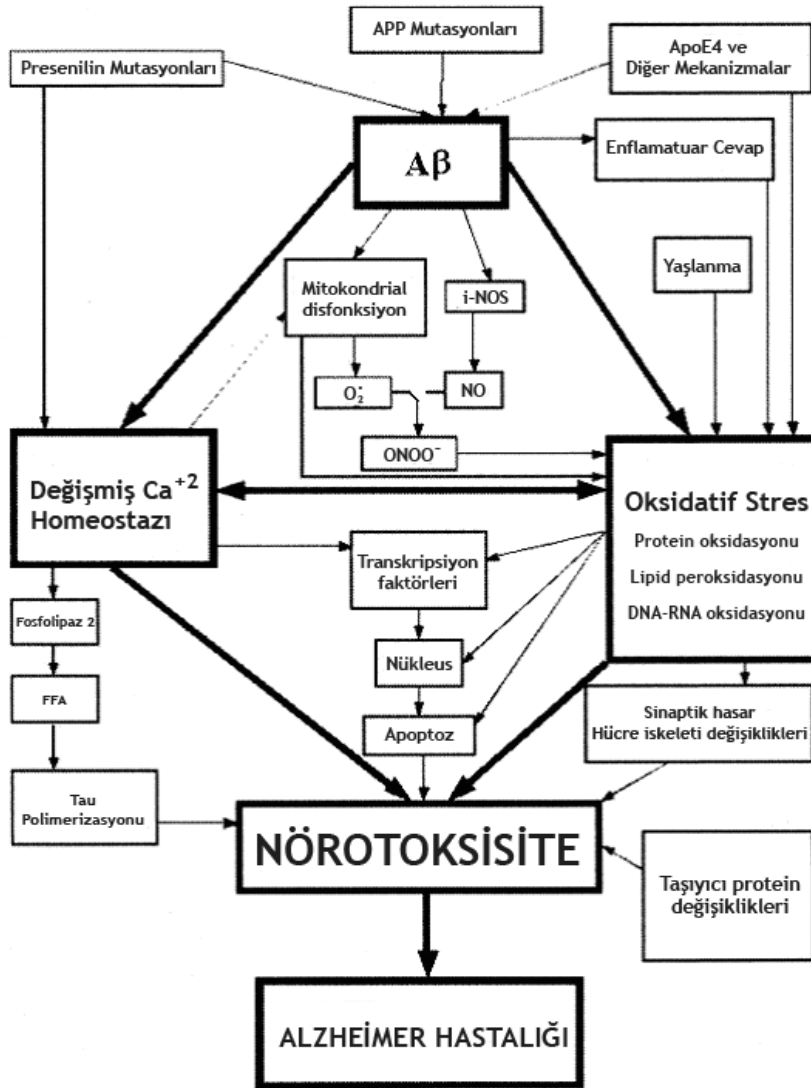
Demans, hatırlama, düşünme ve akıl yürütme becerisindeki zamanla artan kayıp ile karakterize olan ve özellikle gelişmiş ülkelerde, yükselen yaşam standartları sonucu artan yaşlı popülasyonun en sık karşılaştığı hastalıklardan birisi olan Alzheimer

hastalığının (AH) tedavisinde, asetilkolinesteraz (AChE) yanında bütirilkinesterazı (BuChE) da geri dönüşümlü olarak inhibe edici aktiviteye sahip bitkiler, potansiyel bir ilaç adayı olarak kabul edilmektedir. Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisinde başarı oranının elde edildiği tek mekanizma asetilkolinesteraz inhibisyonu olup, tedavide kullanılan ilaçlar donepezil, rivastigmin ve galantamindir.

Alzheimer hastalığı patogeneğinde, fosforilasyonu sağlayan kinaz aktivitesinin artması ve /veya defosforilasyonu sağlayan fosfataz aktivitesinin azalmasına bağlı olarak tau proteinin aşırı fosforillenmesi, bu proteinin mikrotübüllere bağlanma yeteneğinin bozulmasına yol açar. Zamanla sinir hücresi içinde bağlanmamış fosforillenmiş tau proteinleri çift sarmallı filamanlara polimerize olarak nörofibriler yumakları oluşturlar (Özkay ve ark., 2011).

Alzheimer hastalığı etyopatogeneğinde temel patolojik belirleyici olan ve hücre iskeleti bütünlüğünü ve aksonal iletiyi bozarak hücre ölümüne neden olan ekstraselüler amiloid beta plakaları ve intraselüler nörofibriler yumakların yanısıra, glutamat toksisitesi, eser element toksisitesi ve antioksidan savunma mekanizması bozukluğundan oluşan oksidatif stres hipotezi son yıllarda yoğun bir şekilde tartışılmaktadır (Şekil 2-8).

Alzheimer hastaların beyinde, protein ve DNA oksidasyonu veya lipid peroksidasyonu şeklinde oksidatif hasara rastlanmaktadır. Ancak beyin yüksek lipid konsantrasyonu ve oksidasyona duyarlı poliansatüre yağ asitlerinin yoğunluğu nedeniyle beyinde oksidatif stres kendini öncelikle lipid peroksidasyonu olarak gösterir. Nörofibriler yumak ve amiloid plakların çevresinde akut faz proteinleri, proteazlar, sitokinler ve kompleman elemanları gibi inflamasyon sürecine katılan bir çok maddenin varlığının saptanmış olması AH'de inflamatuvar süreçlerin de hastalığın ilerlemesine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (Pratico, 2008).



Şekil 2-8: Alzheimer hastalığında oksidatif stres hipotezi (Pratico, 2008).

Bugüne kadar *R. damascena*'nın Alzheimer tedavisi için en umut verici şifalı bitkilerden biri olduğu bildirilmiştir. Amyloid- β ile Alzheimer hastalığı indüklenmiş sıçanlara *R. damascena* ekstresinin uygulanması ile hafıza kaybında azalma gözlenmiş ve *R. damascena*'nın Alzheimer hastalığında bilişsel işlev bozukluğunun önlenmesi ve tedavisi için yeni bir potansiyel seçenek sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (Esfandiary ve ark., 2015).

R. laevigata ekstresinin, feokromositoma hücrelerinde (PC12) β -amiloid ile indüklenmiş oksidatif stresi önleyerek β -amiloid toksisitesini azalttığını ve Alzheimer hastalığını önlemede etkili olabileceğini bildirilmiştir (Choi ve ark., 2006). Başka bir çalışmada aynı türün flavonoid bakımından zengin meyve ekstresinin, oksidatif stres,

iltihaplanma ve apoptozun hafifletilmesi yoluyla PC12 hücrelerinde hidrojen peroksit ile indüklenen hasara karşı güçlü etkileri görülmüştür (Liu ve ark., 2014).

2.4.8. Anti-hiperlipidemik Etkinin Araştırılması

Ninomiya ve ark. (2007), *R. canina*'nın meyvelerinden (50 mg/kg/gün ve tohumlarından (12.5 ve 25 mg/kg/gün) elde edilen %80'lik sulu aseton ekstrelerinin, farelere uygulanmalarından sonraki 5-14. gününde vücut ağırlığı artışının önemli ölçüde önledikleri, 14. gününde plazma trigliserit (TG) ve serbest yağ asidi (FFA) seviyelerini de düşürdükleri göstermişlerdir. Ayrıca, ekstrelerinin temel bileşeni olan *trans*-tilirosid'in (0.1-10 mg/kg/gün), vücut ağırlığı artışını, özellikle visseral yağ ağırlığını güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve glukoz yüklemesinden sonra kan şekeri düzeylerini önemli ölçüde düşürdüğü (1 g/kg, ip), diğer bileşenlerden kaempferol 3-O- β -D-glukopiranosid'in ise 10 mg/kg/gün dozunda anlamlı olmayan bir şekilde vücut ağırlığı ve iç organlardaki yağ ağırlığının artışını azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca, oral olarak *trans*-tilirosid'in tek dozda (10 mg/kg) farelere uygulanmasından 24 saat sonra karaciğer dokusunda PPAR- α mRNA düzeylerinin ekspresyonunu arttırdığı gözlenmiştir. PPAR- α , PPAR-açıl-CoA oksidaz geninin ekspresyonunu indükleyen ve bu nedenle TG sentezi için gerekli olan yağ asidi substratının azalmasına yol açan bir transkripsiyon faktörüdür. Bu sonuçlar, *R. canina*'nın anti-lipidemik etkisinin, lipid metabolizmasını hızlandırma kapasitesine bağlı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Taghizadeh ve ark. (2016) tarafından yapılmış benzer çalışmada, *R. canina* meyvelerinden hazırlanan ekstrenin 250 mg/kg vücut ağırlığı dozunda STZ ile indüklenen diabetik sıçanlara uygulanmasının, serum trigliserit düzeylerini önemli ölçüde düşürdüğünü, serum kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein ve yüksek yoğunluklu lipoprotein düzeylerini önemli ölçüde düşürdüğünü bildirilmiştir.

2.4.9. Karaciğeri Koruyucu Etkinin Araştırılması

Zhang ve ark. (2013), *R. laevigata* Michx meyvelerin total fenol bileşiklerinin, Sadeghi ve ark. (2016) ise *R. canina*'nın meyvelerinden hazırlanan ekstrenin, sıçanlarda karbon tetraklorür ile deneysel olarak oluşturulmuş karaciğer hasarına olan etkisi ve antioksidan savunma sistemindeki değişiklikleri incelemişlerdir. CCl₄ ile birlikte *R. laevigata* Michx meyvelerinin total fenol bileşikleri veya *R. canina* ekstresi verilmiş sıçanlarda serumda aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz ve alkalen fosfataz

enzim düzeylerinin CCl₄ uygulanmış kontrol deney grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı, superoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ve glutatyon düzeylerinin ise anlamlı şekilde arttığı gözlenmiş ve her iki türün güçlü antihepatotoksik aktivitesinin güçlü antioksidan etkisine bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Bu bulguların yanı sıra, *R. laevigata* Michx meyvelerin total fenol bileşiklerinin, karaciğer iskemik reperfüzyon hasarı oluşturulmuş farelerde, proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerini azalttıkları, TLR4/MyD88 sinyal yolunu ve dolayısıyla NF-κB ve AP-1 transkripsiyon aktivitelerini ve inflamasyonu inhibe ettikleri, Sirt1/Nrf2 sinyal yolunu aktive ederek hem oksidaz-1 ve GST protein düzeylerini arttırdıkları ve oksidatif stresi azalttıkları bildirmişlerdir (Tao ve ark., 2016).

2.4.10. Antimikrobiyal Etkinin Araştırılması

Disk difüzyon yöntemi kullanılarak *R. pisiformis*, *R. canina*, *R. villosa* ve *R. dumalis* subsp. *antalyensis* meyvelerinden elde edilen metanol ekstratlarının *B. cereus* gelişmesini inhibe ettikleri (9-14 mm inhibisyon zonu), *R. canina* ekstresinin ise *Bacillus subtilis*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium* ve *Klebsiella pneumoniae* karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Ozturk Yılmaz ve Ercisli, 2011).

Disk difüzyon yöntemi kullanılarak British Columbia (Canada)'da yetişen *R. nutkana*, *R. pisocarpa* ve *R. woodsii* türlerinin kuşburnundan hazırlanan metanol ekstratlarının Gram pozitif bakterilere karşı etkili oldukları bildirilmiştir (Yi ve ark., 2007).

R. multiflora, *R. rugosa* ve *R. damascena* sırasıyla disk difüzyon yöntemi kullanılarak inhibisyon zonun çapı (Frey ve Meyers, 2010), minimum inhibitör konsantrasyon değeri (MIK) (Kumarasamy ve ark., 2002; Olech ve ark., 2016) ve bakteriyel büyüme inhibisyon yüzdesi (Talib ve Mahasneh, 2010) olarak ifade edilen antibakteriyel aktiviteleri belirlenmiştir.

Miyasaki ve ark. (2013), *R. rugosa*'dan elde edilen ve *Acinetobacter baumannii*'ye karşı orta derecede etkiye sahip bir fenolik bileşik olan ellajik asidin antibakteriyel etkisini bildirmişlerdir.

Rosa türlerinin kuşburnundan elde edilen bileşiklerin ilaç aktivitesini arttıran yardımcı madde olarak kullanımı da ilgi çekicidir. *R. canina*'dan izole edilen tellimagrandin, bir β-laktam antibiyotiği olan ve antibiyotik dirençli *Staphylococcus*

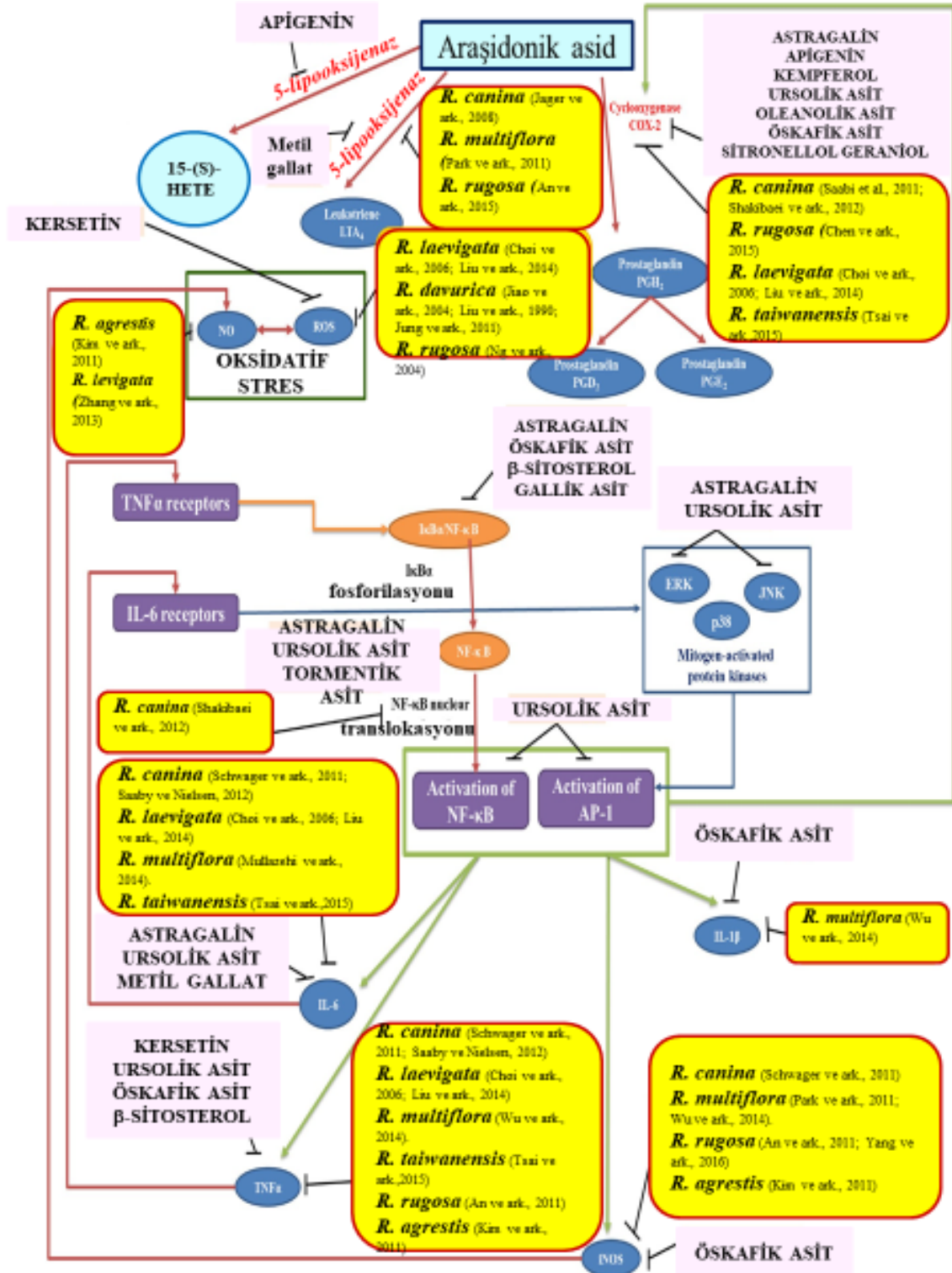
aureus'a karşı kullanılan oksasilin'in etkinliğini arttırdığını bildirilmiştir (Shiota ve ark., 2004). Horváth ve ark. (2012), *R. canina*'dan bazı karotenoidlerin belirli anti-*Helicobacter pylori* aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir (Horváth ve ark., 2012). En bol bulunan karotenoidlerden biri olan likopenin antioksidan aktivitesi, *H. pylori* eradikasyonunda önemli bir faktör olduğunu gözlemlemişlerdir (Jang ve ark., 2012).

R. rugosa' dan elde edilen bazı fitokimyasalların, hepatositleri istila etme kapasitesini inhibe ederek anti-hepatit C virüsü (HCV) aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (Tamura ve ark., 2010).

R. rugosa, yeni bir anti-HIV ajan kaynağı olarak araştırılmıştır. Bir polisakkarit-peptid kompleksi ve akteosid ile akteosid türevlerinden oluşan bir polimer, viral retrotranskriptaz üzerinde güçlü inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu bulgular, HIV eradikasyonunda kuşburnunun terapötik potansiyelini gösterdiği ileri sürülmüştür (Fu ve ark., 2006).

2.4.11. Hipertasyon Düşürücü Etkinin Araştırılması

Hipertansiyon tedavisinde en çok tercih edilen anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri, anjiyotensin I'in, güçlü vazokonstriktör olan anjiyotensin II'ye dönüşümünü sağlayan ACE enzimini inhibe ederek etki ederler. Lisinopril, kaptopril ve enalapril gibi çeşitli sentetik ACE inhibitörleri, hipertansiyonun başarılı tedavisi için yaygın olarak kullanılmalarına rağmen, bu sentetik inhibitörlerin kronik kullanımı, kalıcı öksürük, postural hipotansiyon, böbrek yetmezliği ve anjiyoödeme neden olabilirler. Bu nedenle bilimsel araştırmalar doğal ürünlerin ACE inhibisyon aktivitelerine yoğunlaşmıştır. Peptidlerin ve triterpenlerin ACE inhibe edici aktiviteleri birçok araştırmanın konusu olmuştur. Son yıllarda fenolik bileşiklerin de in vitro ACE inhibe edici aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. Fenolik bileşiklerin ACE inhibisyonu üzerindeki önemi son 10 yılda giderek daha fazla ilgi kazanmıştır. Bu bileşiklerin zayıf bir çözünürlüğe ve bu nedenle biyoyararlanım kısıtlamasına sahip olmalarına rağmen, hipertansif deneysel sıçanlarla yapılan araştırmalarda, kersetin, ferulik asit ve tannik asit gibi fenolik bileşiklerin in vivo kan basıncını düşürücü bir etki gösterdikleri doğrulanmıştır (Guerrero ve ark., 2012; Al Shukor ve ark., 2013). Rosa türlerinden izole edilen bileşiklerin hedefleri Şekil 2-9'da gösterilmiştir.



Şekil 2-9: Rosa türlerinden izole edilen bileşiklerin hedefleri (Cheng ve ark., 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Gereçler

Buzdolabı (Ariston)
 Hassas Terazı (AND HM 200)
 Manyetik karıştırıcı (Kermanlar)
 Mikro-plaka Okuyucu (Eon Biotek)
 Otomatik Pipetler (Eppendorf)
 pH Metre (WTW)
 Spektrofotometre (Shimadzu UV-1208)
 Steril 96 Kuyucuklu Plaka (NEST 701001)
 37°C'lik Su Banyosu (Memmert)
 Ultra Saf Su Cihazı (Elga)
 Vorteks (Velp Scientifica)

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

ABTS·+	(Fluka 11557)
(2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asid) amonyum tuzu)	
Aluminyum klorür	(Merck 101083),
Asetik asid (glasiyel)	(Merck 23332325)
L-Askorbik asit	(Sigma A5960)
Brom	(Merck 101945)
n-Butanol	(Merck 100988)
Demir sülfat	(Fluka 44970)
DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil)	(Sigma D9132)
Derişik HCl	(Merck 100314),
Fenazin metosülfat	(Sigma P 9625)

Ferri klorür	(Merck 803945)
L-a-Fosfatidilkolin	(Tip IV-S; Sigma P3644)
% 85 Fosforik asit	(Merck 100564)
Gallik asit	(Sigma G7384)
Kateşin	(Fluka 22110)
Lityum sülfat	(Merck 105694)
Metanol	(Merck 106008)
b-Nikotinamidadenin dinukleotid (redüklenmiş)	(Fluka 43420)
Nitroblue tetrazolium	(Fluka 74032)
Potasyum peroksodisülfat	(Merck 105090)
Sodyum asetat	(Merck 106264)
Sodyum hidroksit	(Merck 106462)
Sodyum molibdat	(Merck 386521)
Sodyum nitrit	(Merck 106544)
Sodyum tungstat	(Merck 106672)
tiyobarbitürik asit	(Merck 108180)
TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin)	(Merck 110 238)
Trikloroasetik asit	(Merck 100810)
Troloks	(Fluka 56510)

Tamponların hazırlanmasında sodyum fosfat dibazik ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Sigma S7907), sodyum fosfat monobazik (NaH_2PO_4 ; Sigma S 3139), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 ; Sigma P5339), dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4 ; Sigma 60354) kullanıldı.

Asetilkolin esterase (AChE) ve butirilcholin esterase (BuChE) enzim inhibitör aktivitenin tayinlerinde AChE (Sigma-Aldrich C3389), BuChE (Sigma-Aldrich C7512), asetiltiyokolin iyodür (Sigma 01480), butiriltiyokolin iyodür (Sigma-Aldrich B 3263), 5,5'-Ditiyo-bis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) (D8130), sodyum bikarbonat (Merck

6323), kemferol (Sigma-Aldrich K0133), ellajik asid (Sigma-Aldrich E2250), kersetin (Fluka 83370), rutin (Fluka 84082) ve donepezil (Sigma D6821) kullanıldı.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim aktivitenin tayinlerinde anjiyotensin dönüştürücü enzim (Angiotensin Converting Enzyme from rabbit lung, Sigma A6778-5UN), substrat olarak FAPGG (N- [3-(2-Furil)akriloil]-L-fenilalaninil-glisil-glisin), Sigma, F7131-100MG), standart olarak merkaptometil propanil prolin (kaptopril) (Sigma 8856) kullanıldı.

3.3. Bitki Materyali

Bu çalışmada Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden farklı zamanlarda Prof. Dr. Şükran Kültür tarafından toplanan *Rosa* türleri (*Rosa phoenicia* Boiss.; *R. pulverulenta* Bieb.; *R. micrantha* Sm.; *R. pisiformis* ve yine Prof. Dr. Şükran Kültür tarafından teşhis edildikten sonra, birer örnek kurutulularak -20°C'de dondurucudan geçirilip dezenfekte edildikten sonra 28x43 boyutundaki yapıştırma kartonları üzerine yerleştirilerek etiketlenip ve İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumda referans materyali olarak herbaryum örnekleri ile çalışılmıştır (Tablo 3-1).

Tablo 3-1: *Rosa* türlerinin İSTE numaraları, toplandıkları yer, kullanılan kısım

Takson	İSTE	Toplandığı yer	Kullanılan kısım
<i>Rosa micrantha</i> Sm.	68069	Kırklareli	yaprak
<i>Rosa pisiformis</i> (Christ) D. Sosn	79654	Van	yaprak
<i>Rosa phoenicia</i> Boiss.	98230	Mersin-Gözne civarı	yaprak
<i>Rosa pulverulenta</i> Bieb.	72024	Balıkesir-Kaz dağları	yaprak

3.4. Bitki Ekstrelerin Hazırlanışı

Toz haline getirilen yaprak örnekleri, Tablo 1'de belirtilen drog miktarına 500 ml metanol ilave edilerek Soxhlet düzeneğinde ekstrakte edildi. Elde edilen metanol ekstratlar, rotary evaporatörde buhar basıncı düşürülerek ve düşük sıcaklık altında (40° - 50°C) kuruluğa kadar konsantre edildi. Metanol ekstratları liyofilize edilerek +4°C'de saklandı.

3.5. Antioksidan Aktivitenin İncelenmesi

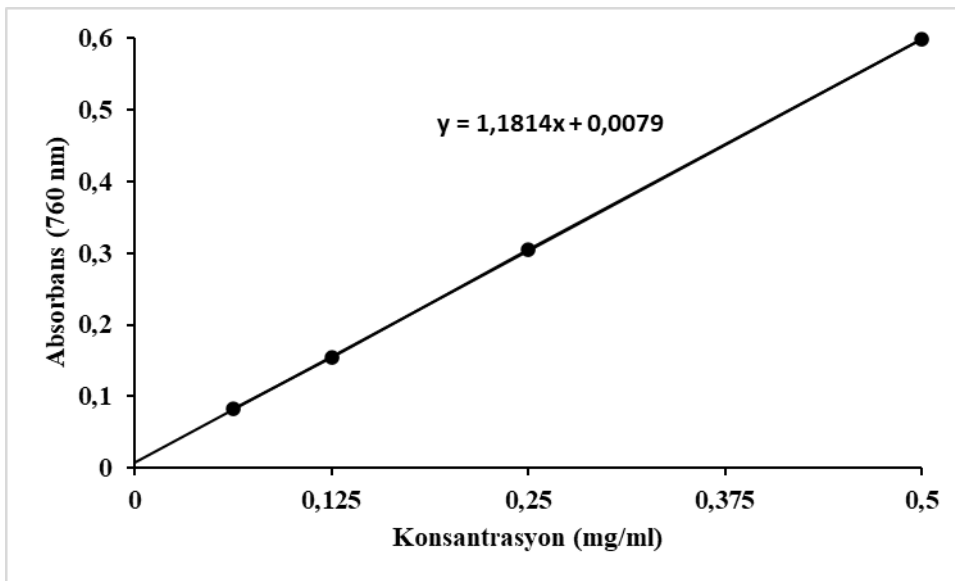
3.5.1. Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini (Folin-Ciocalteu metodu)

3.5.1.1. Deneyin Yapılışı

Rosa ekstrelerinin total fenolik bileşikleri miktarı Folin-Ciocalteu ayırıcı kullanılarak Slinkard ve Singleton'un (1977) geliştirdiği metoda göre tayin edildi. Değişik konsantrasyonlarda (0,31 – 2,5 mg/ml) hazırlanan ekstreden 0,1'er ml tüplere alındı ve hacimleri 4,6 ml olacak şekilde distile su ilave edildi. 0,1 ml Folin-Ciocalteu ayırıcı (distile su ile 1/3 oranında seyreltildi) ve 0,3 ml % 2 sodyum karbonat çözeltisinden ilave edildi, tüpler vorteks mikserde karıştırıldı ve 2 saat bekletildikten sonra meydana gelen mavi rengin absorbansı ekstrenin yerine 0,1 ml distile su içeren köre karşı 760 nm'de ölçüldü. Gallik asit (50 - 400 µg/ml) ile standart eğri çizildi. Sonuçlar mg gallik asit ekivalanları/g yaprak pulpası olarak ifade edildi. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı.

3.5.1.2. Gallik Asit Standart Eğri Denkleminin Elde Edilmesi

Gallik asit standart eğri denkleminin elde edilmesi için önce gallik asidin 1 mg/ml'lik stok çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin distile su ile seyreltilmesiyle konsantrasyonları 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,125 mg/ml ve 0,0625 mg/ml olan çözeltiler elde edildi. Çözeltilere Folin-Ciocalteu metodu uygulandıktan sonra oluşan renklerin absorbansları 760 nm'de ölçüldü. Deney beş kez tekrarlandı, bulunan değerlerden gallik asit standart eğrisi çizilerek regresyon denklemi elde edildi (Şekil 3-1).



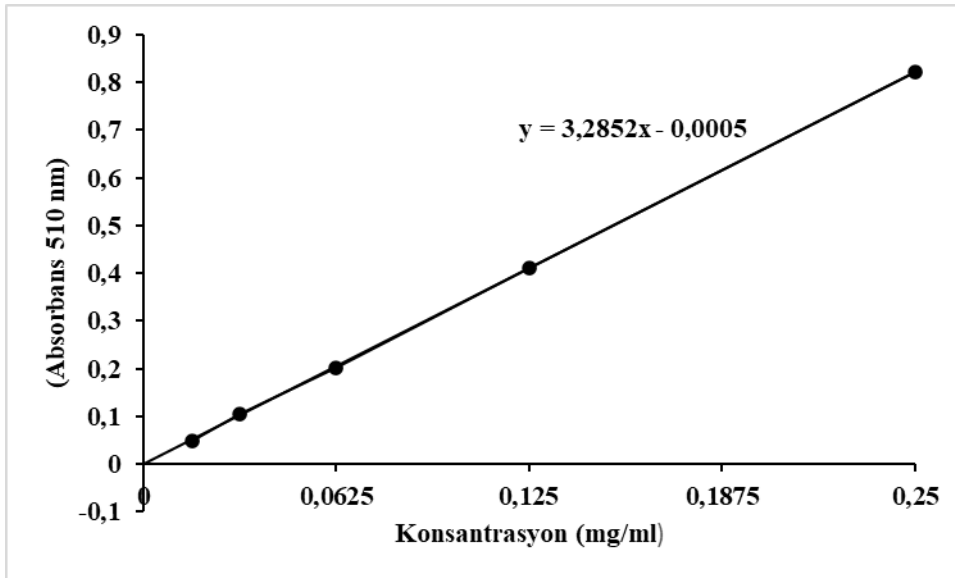
Şekil 3-1: Gallik asit standart eğrisi ve regresyon denklemi.

3.5.2. Flavonoit Miktar Tayini

Flavonoitlerin miktarı Sakanaka ve arkadaşlarının (2005) geliştirdiği metoda göre yapıldı. 0,25 ml ekstreye (0.31 – 2,5 mg/ml) veya standart olarak kullanılan kateşin çözeltilerine 1,25 ml distile su ve 75 µl % 5’lik sodyum nitrit ilave edildikten 6 dakika sonra 150 µl % 10’luk alüminyum klorür eklendi. Karışım 5 dakika bekletildikten sonra 0,5 ml 1 M sodyum hidroksit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 2,5 ml’ye distile su ile tamamlandıktan ve karıştırıldıktan sonra oluşan rengin absorbansı 510 nm’de ayıraç körüne karşı ölçüldü. Sonuçlar kateşin standart eğrisinden elde edilen regresyon denklemi kullanılarak mg kateşin ekivalanları/g ekstre olarak ifade edildi. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı.

3.5.2.1. Kateşin Standart Eğri Denkleminin Elde Edilmesi

Kateşin standart eğri denkleminin elde edilmesi için önce kateşinin 0,25 mg/ml’lik stok çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin distile su ile seyreltilmesiyle konsantrasyonları 0,125mg/ml, 0,0625 mg/ml, 0,0312 mg/ml ve 0,0156 mg/ml olan çözeltiler elde edildi. Çözeltilere deney uygulandıktan sonra oluşan renklerin absorbansları 510 nm’de ölçüldü. Deney beş kez tekrarlandı ve bulunan değerlerden, kateşin standart eğrisi çizilerek regresyon denklemi elde edildi (Şekil 3-2).



Şekil 3-2: Kateşin standart eğrisi ve regresyon denklemi.

3.5.3. Rosa Ekstrelerinin Demir (III) - Askorbik Asit ile İndüklenmiş Fosfatidilkolin Lipozomlarının Peroksidasyonu Üzerine Antioksidan Etkisi

3.5.3.1. Kullanılan çözeltiler

- TCA/TBA Ayıracı

6 g trikloroasetik asit ve 0,15 g tiyobarbitürik asidin 40 ml 0,25 N HCl'de (1 N HCl'in 4 kez seyreltilmesiyle hazırlandı) çözünmesi ile hazırlandı.

3.5.3.2. Deneyin prensibi

Demir (III) ve askorbik asit varlığında, fosfatidilkolininden (lesitinden) oluşturulan lipozomların lipit peroksidasyona uğraması sonucunda son ürün olarak oluşan malondialdehit (MDA), tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek meydana gelen tiyobarbitürik asit reaktif türleri (TBARS)'nin pembe rengi 532 nm'de ölçülmesi ile ekstrenin lipit peroksidasyonuna karşı inhibisyon aktivitesi Duh ve arkadaşlarının (1999) geliştirdiği metoda göre tayin edildi.

300 mg lesitine 30 ml, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0) ilave edildi ve buz içeren bir kapta her 20 saniyede dinlendirilerek sonike edilerek 10 mg/ml fosfolipit lipozom süspansiyonu hazırlandı. 0,25 ml ekstre (0,31 – 2,5 mg/ml) veya standart olarak kullanılan rutin (0,02 – 1,25 mg/ml)'e 1 ml 10 mg/ml lipozom süspansiyonu (3,08 mg/ml), 1 ml 400 µM FeCl₃ (123,2 µM) ilave edildi ve reaksiyon 1 ml 400 µM askorbik asit (123,2 µM) ilavesi ile başlatıldı. Reaksiyon karışımı 37°C'de 1 saat inkübe edildikten sonra TBARS, Buege ve Aust (1978)'un geliştirdiği TBA metoduna göre tayin edildi. Reaksiyon karışımından 0,5 ml ayrı tüplere aktarıldı ve üzerine 1 ml TCA - TBA ayıracı (% 15 w/v TCA ve % 0,375 TBA'nın 0,25 N HCl'deki çözeltisi) ilave edildi. Reaksiyon karışımı vortekste karıştırıldı ve 100°C'de 15 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Soğutulduktan sonra 1 ml n-butanol ilave edildi ve 6 000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Üst kısımdaki pembe renkteki organik tabakanın absorbansı 532 nm'de ölçülerek ekstrelerin lipit peroksidasyonunu inhibe edici yüzdesi Denklem 3-1'e göre hesaplandı. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Ekstrenin 532 nm'deki absorbansı}}{\text{Kontrolün 532 nm'deki absorbansı}}\right) \times 100 \quad (3-1)$$

3.5.4. DPPH Radikali Giderici Aktivitesi Tayini

DPPH radikali giderici aktivitesi, Brand-Williams ve arkadaşları (1995) tarafından geliştirilen metoda göre tayin edildi.

3.5.4.1. Kullanılan çözeltiler

- 1 M DPPH stok çözeltisinin hazırlanması

39,43 mg DPPH 60 ml metanolde çözündü. Hacim 100 ml'ye metanol ile tamamlandı.

- 0,06 mM DPPH çalışma çözeltisinin hazırlanması

6 ml 1 M stok DPPH çözeltisine 94 ml metanol ilave edilmesi ile hazırlandı.

3.5.4.2. Deneyin prensibi

DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dayanıklı olan ve en çok kullanılan organik nitrojen radikalidir. Antioksidan varlığında mor renkli 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil sarı renkli difenilpikril hidrazine redüklenir.

3.5.4.3. Deneyin yapılışı

100 µl ekstre (0.16 - 2.5 mg/ml)'ye 3,9 ml DPPH•'ın metanoldeki çözeltisi ilave edildi. Karışım 30 dakika karanlıkta bekletildikten sonra absorbanslar spektrofotometrede 517 nm'de metanole karşı okundu. Pozitif ve negatif kontroller paralel olarak çalışıldı. Pozitif kontrolde ekstrenin yerine rutin (0.08 - 0.625 mg/ml), negatif kontrolde ise metanol ilave edildi. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. DPPH radikali giderici aktivitesi Denklem 3-2'e göre hesaplandı.

$$\text{DPPH radikali giderici aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Ekstrenin 517nm'deki absorbansı}}{\text{Kontrolün 517 nm'deki absorbansı}}\right) \times 100 \quad (3-2)$$

3.5.4.4. Süperoksit Radikali Giderici Aktivitesi Tayini

Süperoksit anyonu giderici aktivitesi Nishikimi, Rao and Yagi (1972) metoduna göre tayin edildi. Deney, PMS-NADH sistemindeki NADH oksidasyonu ile oluşan süperoksitin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi sonucu oluşan renkli formazonların 560 nm deki absorbansların ölçülmesi esasına dayanır. Süperoksit anyonu giderici aktivitesine sahip olan antioksidanın varlığında bu indirgeme meydana gelmez ve mavi-mor renk oluşmaz.

0,1 ml ekstre (0,31 – 1,25 mg/ml) veya standart olarak kullanılan rutin (0.08 – 1,25 mg/ml)'e 1 ml nitroblue tetrazolium (NBT) çözeltisi (100 mmol/L fosfat tamponunda, pH 7.4, hazırlanmış 156 µmol/L NBT) ve 1 ml NADH çözeltisi (100 mmol/L fosfat tamponunda, pH

7.4, hazırlanmış 468 µmol/L NADH) ilave edildi. Reaksiyon, 100 µl fenazin metosülfat (PMS) çözeltisinin (100 mmol/L fosfat tamponunda, pH 7.4, hazırlanmış 60 µmol/L PMS) ilavesi ile başlatıldı. Reaksiyon karışımına 25°C de 5 dakika inkübe edildi ve oluşan rengin absorbansı 560 nm de köre (sadece NBT ve NADH çözeltileri içerir) karşı okundu. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Süperoksit anyonu giderici aktivitesi Denklem 3-3'e göre hesaplandı.

$$\text{Süperoksit radikali giderici aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Ekstrenin 560 nm'deki absorbansı}}{\text{Kontrolün 560 nm'deki absorbansı}}\right) \times 100 \quad (3-3)$$

3.5.5. Total Radikal Antioksidan Potansiyeli (TRAP)

3.5.5.1. Kullanılan çözeltiler

- **ABTS^{•+} stok çözeltisinin hazırlanması**

38,41 mg ABTS^{•+}, 5 ml 4,9 mM potasyum peroksodisülfat ve 5 ml distile suda çözündü. Hazırlanan ABTS^{•+} stok çözeltisi oda sıcaklığında koyu mavi bir renk meydana gelmesini sağlamak için 12-16 saat bekletildi.

- **ABTS^{•+} çalışma çözeltisinin hazırlanması**

ABTS^{•+} stok çözeltisinin 734 nm' de absorbansı $0,70 \pm 0,02$ olacak şekilde % 96'lık etanol ile seyreltilerek hazırlandı.

3.5.5.2. Deneyin prensibi

Rosa ekstrelerinin TRAP tayini Re ve arkadaşlarının (1999) geliştirdiği metoda göre yapıldı. Bu metod, mavi - yeşil renkli dayanıklı bir bileşik olan ABTS^{•+} radikal katyonu (ABTS^{•+})'nun giderilmesi sonucunda, renkte meydana gelen azalmanın spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

3.5.5.3. Deneyin yapılışı

10 µl *Rosa* ekstresi, rutin (0,16 – 1,25 mg/ml) veya Troloks'a 990 µl ABTS^{•+} çalışma çözeltinin ilave edilmesi ile renkte meydana gelen azalma spektrofotometrik

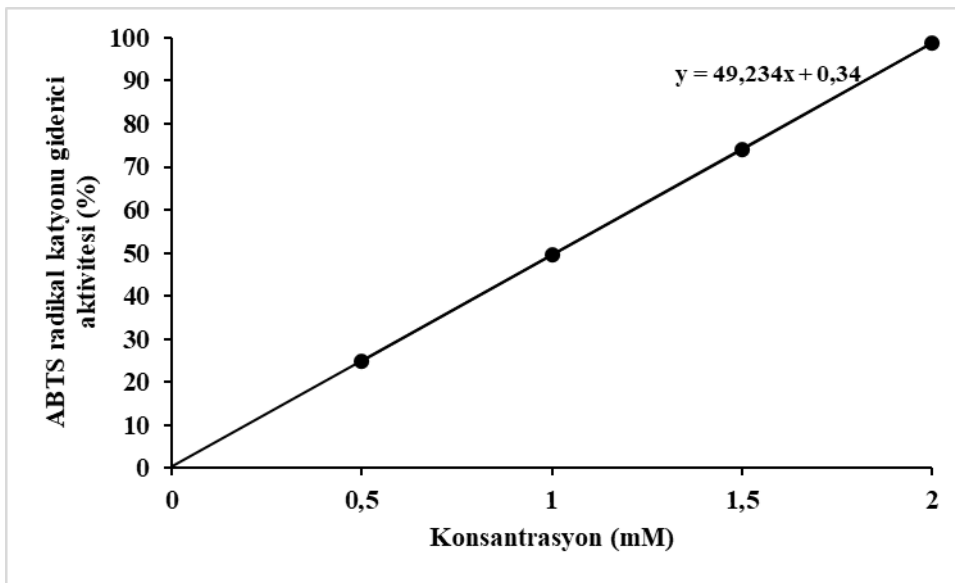
olarak 734 nm'de 6. dakikada ölçüldü. Paralel olarak pozitif ve negatif kontrol deneyleri, ekstre veya rutin çözeltileri yerine aynı miktarda % 96'lık etanol kullanılması suretiyle gerçekleştirildi. ABTS radikal katyonu giderici aktivitesi Denklem 3-4'e göre hesaplandı.

$$\text{ABTS radikal katyonu giderici aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Ekstrenin 734 nm'deki absorbansı}}{\text{Kontrolün 734 nm'deki absorbansı}}\right) \times 100 \quad (3-4)$$

Denklemden elde edilen inhibisyon yüzdeleri, Troloks standart eğrisine ait değerlerle karşılaştırılarak, 1 mM Troloks'un gösterdiği inhibisyon yüzdesine eşdeğer inhibisyon yüzdesi göstermesi için gerekli olan Rosa ekstresinin konsantrasyonu hesaplandı ve TEAC değeri olarak ifade edildi. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı.

3.5.5.4. Troloks Standart Eğri Denkleminin Elde Edilmesi

Troloks standart eğri denkleminin elde edilmesi için önce Troloks'un 10 mM'lık çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin 75 mM'lık fosfat tamponu (pH 7,4) ile seyreltilmesiyle konsantrasyonları, 2 mM, 1,5 mM, 1 mM ve 0,5 mM olan çözeltiler elde edildi. Çözeltilere TEAC deneyi uygulandıktan sonra renkte meydana gelen azalma 734 nm'de 6. dakikada spektrofotometrede ölçüldü ve Troloks'un ABTS radikal katyonu giderici aktivitesi yüzdeleri hesaplandı. Deney beş kez tekrarlandı ve bulunan değerlerden Troloks standart eğrisi çizilerek regresyon denklemi elde edildi (Şekil 3-3).



Şekil 3-3: Troloks standart eğrisi ve regresyon denklemi.

3.5.6. Ferri İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP) Deneyi

FRAP deneyi Benzie ve Strain (1996) metoduna göre yapıldı.

3.5.6.1. Kullanılan çözeltiler

- **FRAP ayırıcının hazırlanması:**
2,5 ml 10 mM TPTZ'nin 40 mM HCl'deki çözeltisi
2,5 ml 20 mM FeCl₃.6H₂O
25 ml 0,3 M asetat tamponu, pH 3,6
- **0.3 M sodyum asetat tamponunun (pH 3.6) hazırlanması:** 3,1 g sodyum asetat.3H₂O tartıldı ve 600 ml distile suda çözündü. Glasiyal asetik asid ilave edilerek pH 3.6'ya ayarlandı (~ 16 ml). Hacim 1000 ml'ye tamamlandı.

3.5.6.2. Deneyin prensibi

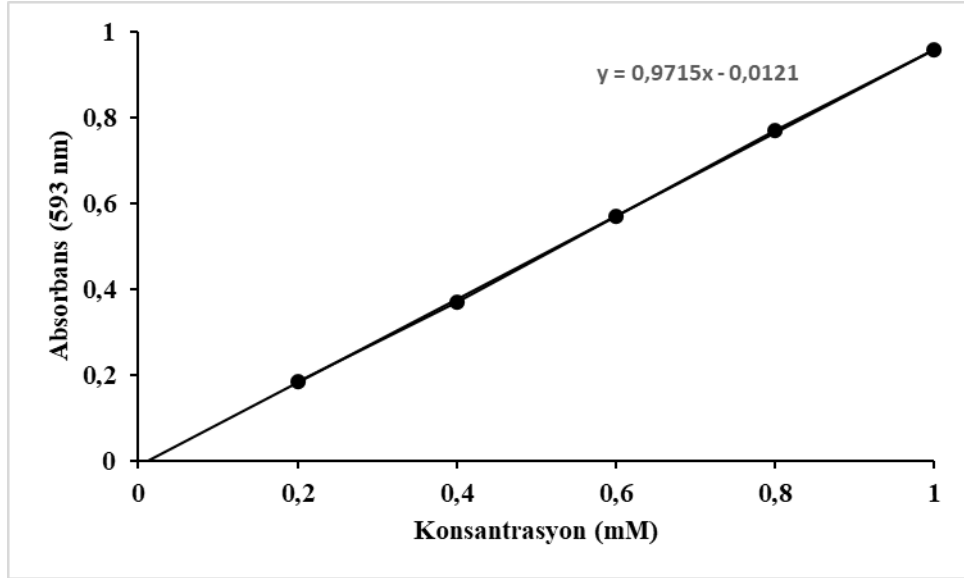
Fe (III) tuzlarının [Fe (III) (TPTZ)₂]³⁺, Fe (II)'ye [Fe (II) (TPTZ)₂]²⁺ indirgenmesi esasına dayanır.

3.5.6.3. Deneyin yapılışı

30 µl ekstre veya standart olarak kullanılan rutin (1,6 – 1,25 mg/ml)'e 90 µl çözücü ve 900 µl önceden 37°C'de inkübe edilen FRAP ayıracı ilave edildikten sonra absorbans artışı 4. dakikada 593 nm'de spektrofotometrede ayıraç körüne karşı ölçüldü. Ekstrenin ΔA_{593nm} değeri, FeSO₄.7H₂O (200 - 1000 µM) ile hazırlanan standart eğrisine ait ΔA_{593nm} değerlerle karşılaştırılarak FRAP değeri (mM/L Fe²⁺) elde edildi. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı.

3.5.6.4. FeSO₄.7H₂O Standart Eğri Denkleminin Elde Edilmesi

1 mM'luk FeSO₄.7H₂O çözeltinin distile su ile seyreltilmesiyle konsantrasyonları 0,8 mM, 0,6 mM, 0,4 mM ve 0,2 mM olan çözeltiler elde edildi. Çözeltilere FRAP deneyi uygulandıktan sonra oluşan renklerin absorbansları 4. dakikada 593 nm'de köre karşı ölçüldü. Deney beş kez tekrarlandı ve bulunan değerlerden FeSO₄.7H₂O standart eğrisi çizilerek regresyon denklemi elde edildi (Şekil 3-6). (Şekil 3-4).



Şekil 3-4: FeSO₄.7H₂O standart eğrisi ve regresyon denklemi.

3.5.7. Anti-Kolinergik Etkinin Araştırılması

3.5.7.1. Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitelerinin Araştırılması

Asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz aktiviteleri Ellman ve arkadaşları (1961) tarafından geliştirilen metoda göre yapıldı.

3.5.7.2. Kullanılan çözeltiler

- Ellman ayıracı

1,5 mg NaH₂CO₄ içeren 100 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7,5), 75 mM asetiltiyokolin iyodür veya butiriltiyokolin ve 10 mM DTNB (3,96 mg/ ml)'nin 100 mM sodyum fosfat tamponundaki çözeltisi (pH 7,5), son konsantrasyonları 95 mM, 1 mM ve 0,3 mM olacak şekilde 150:2:5 oranında karıştırılması ile hazırlandı.

3.5.7.3. Deneyin prensibi

AChE veya BuChE aktivitesi, asetiltiyokolin veya butiriltiyokolin ile DTNB'nin indirgenmesi sonucu dakikada oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asidin (TNB) absorbansında meydana gelen artışın 412 nm'de 10 dakika süreyle her dakika mikropilok okuyucuda ölçülmesiyle belirlendi.

3.5.7.4. Deneyin yapılışı

İnhibitör olarak kullanılan ekstrelerin metanol'deki 10 mg/ml'lik çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerin etanol ile seyreltilmesiyle konsantrasyonları 5; 2,5; 1,25; 0,625 ve 0,31 mg/ml olan çözeltiler elde edildi. Mikroplakadaki kuyucuklara 5 µl inhibitör ve 5 µl AChE (1 U) veya BuChE (5,4 U) enzimi ilave edildi ve reaksiyona girmeleri için 5 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra farklı konsantrasyonda asetiltiyokolin veya butiriltiyokolin içeren Ellman ayracı çözeltilerinden 190 µl ilave edildi. Paralel olarak inhibitör içermeyen negatif kontrol deneyleri, inhibitör çözeltileri yerine aynı miktarda metanol kullanılması suretiyle gerçekleştirildi.

Kersetin, ellajik asit, kemferol ve donepezil referans madde olarak kullanıldı. Fenolik bileşiklerin etanoldeki 1 mM çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerin etanol ile seyreltilmesiyle konsantrasyonları 0,5; 0,25; 0,125 ve 0,0625 mM olan çözeltiler elde edildi. Reaksiyon ortamında bileşiklerin son konsantrasyonları 25; 12,5; 6,25 ve 3,125 µM olarak belirlendi. Donepezil'in DMSO'daki 1 mM çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin seyreltilmesiyle konsantrasyonları 0,125; 0,0625; 0,031 ve 0,016 mM/ml olan çözeltiler hazırlandı. Reaksiyon ortamında donepezil'in son konsantrasyonu 3,1; 1,6; 0,8; 0,4 ve 0,2 µM olarak belirlendi. Paralel olarak enzim ve substrat kontrol deneyleri, enzim ve substrat çözeltileri yerine aynı miktarda metanol veya DMSO kullanılması suretiyle gerçekleştirildi.

Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Ki ve IC₅₀ değerleri GraphPad Prism 9.02 programından yararlanılarak hesaplandı.

3.5.8. Ekstrelerin ACE inhibe edici aktivitelerinin incelenmesi

ACE aktivitesi Ali ve ark. (2019) önermiş olduğu metoda göre tayin edildi.

3.5.8.1. Deneyin prensibi:



ACE aktivitesi, in vitro koşullarda substrat olarak kullanılan FAPGG (N-[3-(2-furil)-acrilolil]-L-pfenilalanin-glisil-glisin)'nin FAP'e dönüştürmesine bağlı olarak FAPGG'nin 340 nm'de verdiği absorbansın zamanla azalması incelenerek ölçüldü.

3.5.8.2. Deneyin yapılışı

5 µl ekstre veya standart olarak kullanılan kaptopril, 5 µl ACE (1U) enzimi ile 37°C’de 15 dakika inkübe edildikten sonra, 100 µl FAPGG (0,9 mM) substratı eklenerek reaksiyon başlatıldı. İlk ve 10. dakika sonunda 340 nm’deki absorbans değerleri kaydedilerek ACE üzerine inhibisyon değerleri Denklem 3-5’e göre hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [1 - (\Delta A_{340} \text{ örnek} / \Delta A_{340} \text{ kontrol})] \times 100 \quad (3-5)$$

$\Delta A_{\text{kontrol}}$: Kontrol çözeltisinin 340 nm de köre karşı ilk 10 dakikada okunan absorbans değeri farkı

$\Delta A_{\text{örnek}}$: Numune çözeltisinin 340 nm de köre karşı okunan ilk 10 dakikada okunan absorbans değeri farkı

4. BULGULAR

Bu çalışmada *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. Pulverulenta* türlerinden hazırlanan metanol ekstralarının hidrojen atomu verici ve serbest radikal giderici etkileri ile indirgeyici güçleri sırasıyla 2,2,-difenil-1-pikrilhidrazil serbest radikali ve superoksit anyon radikali giderici aktiviteleri, ABTS^{•+} radikal katyonu kullanılarak total radikal antioksidan potansiyeli (TRAP) ve FRAP (ferri iyonu redüklemeye antioksidan potansiyeli) tayin edilerek antioksidan etkileri incelendi.

4.1. Total Ekstre Edilebilen Madde Miktarı, Fenolik Bileşiklerin ve Flavonoit miktarı

Bu çalışmada 2,60 g *R. micrantha*, 3,35 g *R. pisiformis*, 4,16 g *R. phoenicia* ve 1,675 g *R. pulverulenta*'dan metanol ekstraları hazırlandı ve sırasıyla 82,03; 74,86; 124,94 ve 103,26 mg/g kuru ağırlığı ekstre edilebilen madde miktarı elde edildi. Tablo 4-1'den de görüldüğü gibi azalan total ekstre edilebilen madde miktarlarına göre Rosa türleri aşağıda gösterildiği şekilde sıralandı:

$$R. phoenicia > R. pulverulenta > R. micrantha > R. pisiformis$$

Tablo 4-1: *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. Phoenicia* ve *R. pulverulenta*'dan ekstre edilebilen madde miktarı (EC), fenolik maddelerin (PC, bitki ağırlığının her gramı için gallik asit ekivalanı (GAE) olarak) ve flavonoit (bitki ağırlığının her gramı için kateşin ekivalanı (KE) olarak) miktarları

Taxon	EC (mg /g DW)	PC (mg GAE /g ekstre)	PC (mg GAE /g DW)	Flavonoit (mg KE/g extract)	Flavonoids (mg KE/g DW)	PC/EC (%)
<i>R. micrantha</i>	82,03	212,98 ± 7,59 ^a	17,47 ± 0,56 ^a	84,91 ± 5,51 ^a	8,64 ± 0,51 ^a	21,29
<i>R. pisiformis</i>	74,86	214,13 ± 5,55 ^a	16,05 ± 0,41 ^a	86,05 ± 1,07 ^a	7,99 ± 0,26 ^a	21,44
<i>R. Phoenicia</i>	124,84	222,90 ± 5,79 ^a	27,63 ± 0,71 ^b	102,75 ± 2,40 ^b	12,98 ± 0,72 ^b	22,13
<i>R. pulverulenta</i>	103,26	227,82 ± 3,91 ^a	23,46 ± 0,41 ^c	96,12 ± 1,35 ^c	10,44 ± 0,58 ^c	22,71

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Anlamlık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edildi. Aynı sütun içindeki farklı harfler verilerin anlamlı olarak farklı olduklarını göstermektedir.

İncelenen *Rosa* türlerinin içerdikleri total fenol bileşiklerinin miktarları 16,05 ile 27,63 mg gallik asit ekivalanı(GAE)/kuru ağırlık veya 212,98 ile 227,82 mg gallik asit ekivalanı(GAE)/g ekstre arasında, flavonoit miktarları ise 7,99 ile 12,98 mg kateşin ekivalanı(KE)/kuru ağırlık veya 84,91 ile 102,75 mg kateşin ekivalanı(KE)/g ekstre arasında değiştiği görüldü. 1 g ekstrenin içerdiği mg GAE veya KE ekivalanları kıyaslandığında, tüm ekstrelerin içerdiği fenolik bileşik veya flavonoid miktarları arasında anlamlı bir fark ($p > 0,05$) gözlenmedi. Ancak *R. micrantha* ve *R. pisiformis*'in verimi daha düşük olduğu için sonuçlar 1 g drog'un içerdiği mg GAE veya KE ekivalanları olarak ifade edildiğinde en yüksek miktarı *R. phoenicia* ekstresinin, bunu *R. pulverulenta* ekstresi takip ettiğini, en düşük miktarı ise aralarında anlamlı bir fark ($p > 0,05$) gözlenmeyen *R. micrantha* ve *R. pisiformis* ekstreleri içerdikleri görüldü.

Fenolik bileşiklerin miktarı total ekstre edilebilen madde miktarına oranı ortalama olarak %22 olduğu gözlemlendi. Bu bulgular ekstrelerin %78 oranında fenolik olmayan bileşikler içerdiklerini gösteriyor.

4.2. Rosa Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi

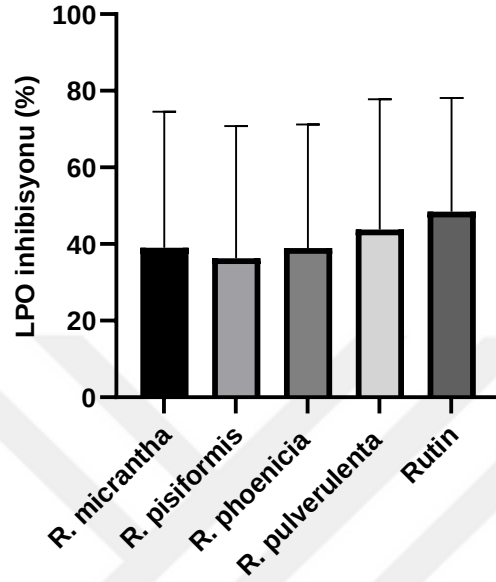
Rosa türlerinden hazırlanan metanol ekstrelerin ve pozitif kontrol olarak kullanılan rutin'in antioksidan aktivitelerini karşılaştırabilmek için efektif konsantrasyonları (EC_{50}) hesaplandı (Tablo 4-1). Düşük EC_{50} değeri yüksek antioksidan aktivitesinin göstergesidir.

4.2.1. Lipozom Peroksidasyonu Üzerine Antioksidan Etkisinin İncelenmesi

Başlangıçta fosfolipitlerden oluşturulan lipozomlar kullanılarak *Rosa* ekstrelerinin, demir (III) ve askorbik asit ile indüklenen lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkileri incelendi ve her bir ekstrenin TBARS oluşumunu ve dolayısıyla fosfolipid yıkımını doza bağlı olarak inhibe edici etkiye sahip oldukları sonucuna varıldı.

Bu deneyde ekstrelerin 0,31 – 2,5 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında maksimum antioksidan aktivitelerine ulaştıkları görüldü. 2,5 mg/ml konsantrasyonunda *R. micrantha* (% 87,3 ± 0,66), *R. pisiformis* (% 85,39 ± 0,97), *R. phoenicia* (% 88,27 ± 0,34) ve *R. pulverulenta* (%89,04 ± 0,75)'nın lipid peroksidasyon inhibisyonu şeklinde yansıyan antioksidan aktiviteleri arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ($p > 0.05$). Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri, rutin 1,25 mg/ml konsantrasyonunda gösterdiği

aktivite'ye ($\% 89,31 \pm 0,17$) yakın olduğu belirlendi. Ekstrelerin doza bağlı olarak lipid peroksidasyonu inhibe edici aktiviteleri Şekil 4-1'de gösterildi.



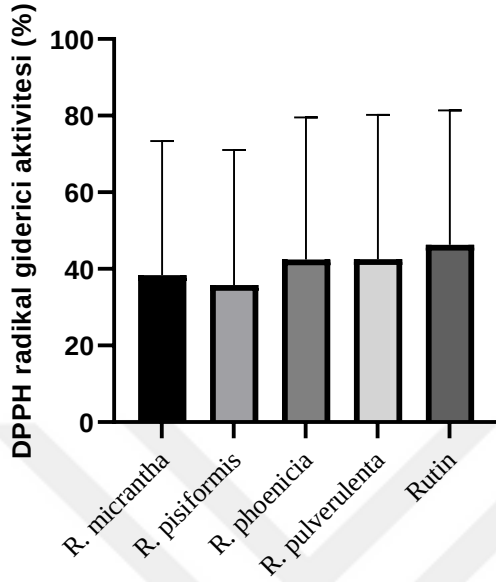
Şekil 4-1: *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstrelerinin ve rutin 0,02-1,25 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında farklı konsantrasyonlardaki lipid peroksidasyonunu inhibe etme yüzdeleri. Deneyler üç tekrarlı yapıldı ve elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi ($n = 3$).

EC₅₀ değerleri (% 50 TBARS oluşumunun inhibisyonunu sağlayan ekstre veya standart konsantrasyonu) arasındaki anlamsız ($p > 0,05$) farklılıklardan da anlaşıldığı gibi benzer etkiye sahip olan *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstreleri, rutin kadar lipid peroksidasyonu inhibisyon etkisine sahip olmasalar bile ($p < 0,05$), hidrojen atomunu vererek serbest radikalleri ve özellikle lipid peroksid radikallerini gidererek lipid peroksidasyonunu devam ettiren zincir reaksiyonunu durdurabildiklerini göstermektedir.

4.2.2. DPPH Radikali Giderici Aktivitesinin İncelenmesi

İncelenen ekstrelerinin DPPH radikali giderici aktivitesine sahip oldukları belirlendi. Aralarında anlamlı fark bulunmayan ($p > 0,05$) ve 0,625 mg/ml'de maksimum inhibisyon aktivitesine ulaşan *R. micrantha* ($\% 82,55 \pm 1,20$), *R. pisiformis* ($\% 81,56 \pm 3,72$), *R. phoenicia* ($\% 85,92 \pm 1,98$) ve *R. pulverulenta* ($\% 86,70 \pm 0,71$) ekstrelerinin DPPH radikali giderici aktivitesi, rutin ($\% 90,45 \pm 0,59$) aynı

konsantrasyonda gösterdiği aktiviteye yakın ($p > 0,05$) olduğu görüldü. İncelenen ekstrelerinin doza bağlı olarak DPPH giderici aktiviteleri Şekil 4-2’de gösterildi.

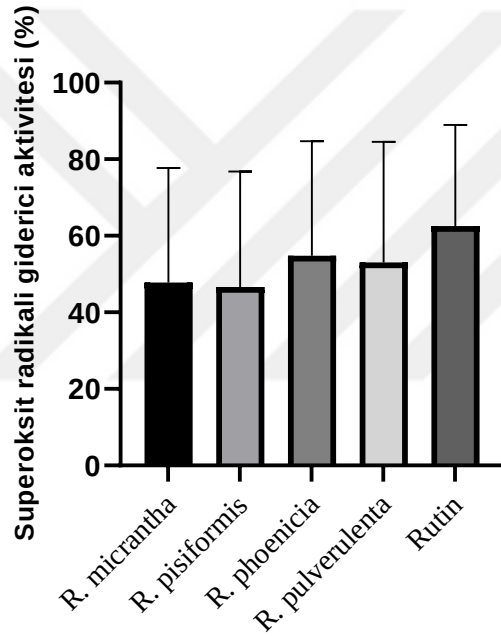


Şekil 4-2: *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstrelerinin ve rutin 0,04-0,625 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında farklı konsantrasyonlardaki DPPH radikali giderme aktivite yüzdeleri. Deneyler üç tekrarlı yapıldı ve elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi ($n = 3$).

Ekstrelerin EC_{50} değerleri (ekstrenin %50 DPPH radikali giderici aktivite göstermesi için gerekli olan miktar) kıyaslandığında, aralarında anlamlı bir farklılık bulunmayan ($p > 0,05$) *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstrelerinin, aralarında anlamlı bir farklılık bulunmayan ($p > 0,05$) *R. micrantha* ve *R. pisiformis* ekstrelerinden daha etkili DPPH serbest radikal giderici aktiviteleri olduğu saptandı. Ekstrelerin ve rutin EC_{50} değerleri kıyaslandığında ise ekstrelerin DPPH giderici aktivitelerinin rutin aktivitesinden daha düşük olduğu saptandı ($p < 0,05$).

4.2.3. Süperoksit Anyon Radikali Giderici Aktivitesinin İncelenmesi

Rosa ekstrelerinin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgeme hızını doza-bağımlı olarak inhibe ettikleri ve 1,25 mg/ml konsantrasyonunda sırasıyla % $78,47 \pm 2,41$, $78,81 \pm 2,70$, $85,17 \pm 0,06$ ve $85,83 \pm 0,66$ maksimum inhibisyon aktivitesi gösterdikleri bulundu. Rosa ekstrelerinin 1,25 mg/ml konsantrasyonundaki süperoksit radikali giderici aktiviteleri rutin aynı konsantrasyonda gösterdiği aktiviteye (% $91,78 \pm 0,28$) yakın olduğu belirlendi ($p > 0,05$). Ekstrelerin doza bağlı olarak süperoksit radikali giderici aktiviteleri Şekil 4-3’de gösterildi.



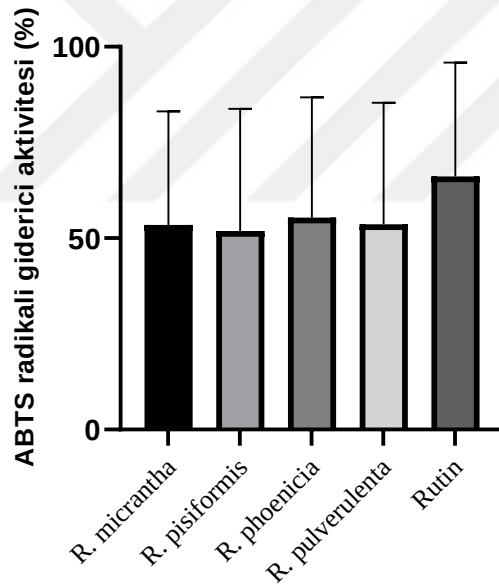
Şekil 4-3: *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstrelerinin ve rutin 0,08-1,25 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında farklı konsantrasyonlardaki süperoksit radikali giderme aktivite yüzdeleri. Deneyler üç tekrarlı yapıldı ve elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi ($n = 3$).

Ekstrelerin EC_{50} değerleri (ekstrenin %50 süperoksit radikali giderici aktivite göstermesi için gerekli olan miktarı) kıyaslandığında, aralarında anlamlı bir farklılık bulunmayan ($p > 0,05$) ve EC_{50} değerleri sırasıyla $0,459 \pm 0,002$ ve $0,490 \pm 0,008$ mg/ml olan *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstrelerinin, aralarında anlamlı bir farklılık bulunmayan ($p > 0,05$) *R. micrantha* ve *R. pisiformis* ekstrelerinden daha etkili süperoksit radikal giderici aktiviteleri olduğu saptandı. Ekstrelerin ve rutin EC_{50}

değerleri kıyaslandığında ise ekstrelerin superoksit radikali giderici aktiviteleri rutin aktivitesinden daha düşük olduğu saptandı ($p < 0,05$).

4.2.4. Total Radikal Antioksidan Potansiyeli (TRAP)

İncelenen ekstrelerin ABTS radikali giderici aktivitesine sahip oldukları belirlendi. Rosa ekstrelerin 0,08-1,25 mg/ml sınırları arasında maksimum antioksidan aktivitelere ulaştıkları görüldü. 1,25 mg/ml konsantrasyonda aralarında anlamlı farklılık ($p > 0.05$) bulunmayan *R. micrantha* (% 90,21 $\pm$ 1,09), *R. pisiformis* (% 90,93 $\pm$ 1,29), *R. phoenicia* (% 91,14 $\pm$ 0,47) ve *R. pulverulenta* (% 90,47 $\pm$ 0,50) ekstrelerinin gösterdikleri ABTS radikal katyonu giderici aktiviteleri, rutin 1,25 mg/de (% 93.40 $\pm$ 1.92) gösterdiği aktiviteye yakın oldukları gözlemlendi. İncelenen ekstrelerinin doza bağlı olarak ABTS radikali giderici aktiviteleri Şekil 4-4'te gösterildi.



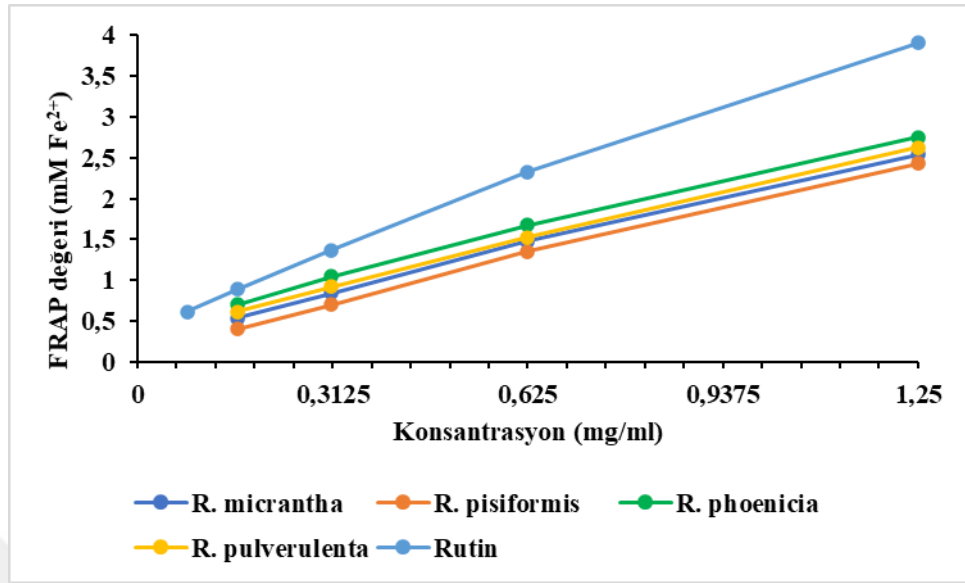
Şekil 4-4: *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstrelerinin ve rutin 0,08-1,25 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında farklı konsantrasyonlardaki ABTS radikali giderme aktivite yüzdeleri. Deneyler üç tekrarlı yapıldı ve elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi ($n = 3$).

Ekstrelerin EC_{50} değerleri (ekstrenin % 50 ABTS radikali giderici aktivite göstermesi için gerekli olan miktarı) kıyaslandığında, birbirleri arasında anlamlı bir fark bulunmayan ($p > 0,05$) ve EC_{50} değerleri sırasıyla $0,458 \pm 0,02 \pm 0,02$ ve $0,457 \pm 0,07$ mg/ml olan *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstrelerinin, birbirleri arasında anlamlı bir fark bulunmayan ($p > 0,05$) *R. micrantha* ve *R. pisiformis* ekstrelerinden daha etkili ABTS radikal giderici aktivite gösterdikleri saptandı. Ekstrelerin ve rutin EC_{50} değerleri kıyaslandığında ise ekstrelerin ABTS radikali giderici aktivitelerinin rutin aktivitesinden daha düşük olduğu saptandı ($p < 0,05$).

Ekstrelerin antioksidan kapasitesi TEAC değeri (Troloks Ekivalan Antioksidan Kapasite) olarak değerlendirildi. 1 TEAC 1 mM/L troloks ekivalan, test edilen ekstrenin veya referansın antioksidan konsantrasyonu olarak ifade edildi. TEAC değeri, bileşiklerin hidrojen ya da elektron verici etkisini yansıtır. Bu nedenle, TEAC değerinin yüksek olması yüksek antioksidan aktivitesinin göstergesidir. 1,25 mg/ml’de aralarında anlamlı bir farklılık ($p > 0,05$) bulunmayan *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstrelerinin, rutin 1,25 mg/ml’deki TEAC değerine yakın değer gösterdikleri belirlendi.

4.2.5. Ferri İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyelinin (FRAP) İncelenmesi

Ekstrelerinin redükleyici gücü elektron verici yeteneklerini yansıtmaktadır. Redükleyici gücü yüksek olan ekstreler serbest radikallere elektron vererek ve onları zararsız hale getirerek radikal reaksiyonları sonlandırabilirler. Ekstrelerinin indirgeme gücü FRAP (Ferri iyonu Redükleme Antioksidan Potansiyeli) değeri olarak ifade edildi. FRAP değerinin yüksek olması yüksek indirgeme gücü göstergesidir. İncelenen ekstrelerin Fe (III)’ redükleme ve dolayısıyla elektron verici yeteneğine sahip oldukları sonucuna varıldı. 1,25 mg/ml konsantrasyonda arasında anlamlı farklılık ($p > 0,05$) bulunmayan *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstrelerinin gösterdikleri indirgeme gücü, rutin 1,25 mg/de gösterdiği indirgeme gücüne yakın olduğu gözlendi ($p > 0,05$). İncelenen ekstrelerinin doza bağlı olarak redükleyici güçleri Şekil 4-5’de gösterildi.



Şekil 4-5: *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstralarının FRAP değeri olarak redüklenme güçleri. Pozitif kontrol olarak rutin kullanıldı. Deneyler üç defa tekrarlandı ve elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi ($n = 3$)

İncelenen Rosa türlerinin EC₅₀, TEAC ve FRAP değeri olarak antioksidan aktiviteleri.Tablo 4-2’de özetlenmiştir.

Tablo 4-2: *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstralarının EC₅₀, TEAC ve FRAP değeri olarak antioksidan aktiviteleri.

Extract	EC ₅₀ (mg/ml)				Total Antioxidant potential ^{b*} (mM TEAC/L) 1,25 mM	FRAP value ^{c*} (mM/mg/ml Fe ²⁺) (1,25 mM)
	Anti-LPO	DPPH	Superoksit	ABTS		
<i>R. micrantha</i>	0,493 $\pm$ 0,003 ^a	0,269 $\pm$ 0,024 ^a	0,546 $\pm$ 0,027 ^a	0,492 $\pm$ 0,01 ^a	2.08 $\pm$ 0.076 ^a	2,54 $\pm$ 0,010 ^a
<i>R. pisiformis</i>	0,475 $\pm$ 0,016 ^a	0,272 $\pm$ 0,006 ^a	0,536 $\pm$ 0,018 ^a	0,501 $\pm$ 0,01 ^a	2.13 $\pm$ 0.023 ^a	2,45 $\pm$ 0,080 ^a
<i>R. Phoenicia</i>	0,414 $\pm$ 0,012 ^b	0,229 $\pm$ 0,007 ^b	0,459 $\pm$ 0,002 ^b	0,458 $\pm$ 0,02 ^b	2.11 $\pm$ 0.046 ^a	2,75 $\pm$ 0,005 ^b
<i>R. pulverulenta</i>	0,404 $\pm$ 0,011 ^b	0,227 $\pm$ 0,007 ^b	0,490 $\pm$ 0,008 ^b	0,457 $\pm$ 0,07 ^b	2.13 $\pm$ 0.015 ^a	2,62 $\pm$ 0,010 ^b
Rutin	0,160 $\pm$ 0,004 ^c	0.169 $\pm$ 0.001 ^c	0,181 $\pm$ 0,002 ^c	0,362 $\pm$ 0,01 ^c	2.15 $\pm$ 0.017 ^a	3,90 $\pm$ 0,015 ^c

EC₅₀ değeri (% 50 TBARS oluşumunun inhibisyonunu sağlayan indol türevi konsantrasyonu; % 50 DPPH, superoksit ve ABTS radikali giderici aktivitesi göstermesi için gerekli olan antioksidan miktarı). Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi.

Anlamlık sınırı olarak $p < 0,05$ kabul edildi. Aynı sütun içindeki farklı harfler verilerin anlamlı olarak farklı olduklarını göstermektedir.

4.3. Anti-kolinerjik Etkinin İncelenmesi

Bu çalışmada, incelenen Rosa türlerinden hazırlanan metanol ekstralarının ve standart olarak kullanılan ellajik asit, kersetin ve kemferol flavonoidleri ile Alzheimer tedavisinde kullanılan donepezil'in asetilkolinesteraz ve bütilkolinesteraz enzimlerine karşı inhibisyon aktiviteleri değerlendirildi.

4.3.1. Asetilkolinesteraz İnhibe Edici Aktivitenin İncelenmesi

İncelenen Rosa ekstralarının AChE enzimine karşı IC₅₀ değerleri Tablo 4-3'te gösterildi.

İnhibisyon aktivitesi sonuçlarına göre incelenen ekstraların aktiviteleri, EC₅₀ değerleri arasındaki anlamsız ($p > 0.05$) farklılıklardan da anlaşıldığı gibi birbirine çok yakın olduğu belirlendi.

Tablo 4-3: *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstralarının AChE inhibe edici aktiviteleri.

Ekstre	2,5 mg/ml; 1,25 mg/ml ve 0,625 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerin reaksiyon ortamındaki konsantrasyonları			
	62,5 µg/ml	31,25 µg/ml	15,62 µg/ml	IC ₅₀
	İnhibisyon %			
<i>R. micrantha</i>	78,21 ± 2,35	56,99 ± 3,33	35,11 ± 2,09	31,22 ± 0,25 ^a
<i>R. pisiformis</i>	76,79 ± 2,78	57,03 ± 1,51	37,33 ± 1,02	31,29 ± 0,04 ^a
<i>R. phoenicia</i>	78,80 ± 1,08	57,01 ± 1,35	32,14 ± 1,87	31,14 ± 0,08 ^a
<i>R. pulverulenta</i>	78,37 ± 0,92	56,65 ± 1,31	35,20 ± 1,00	31,25 ± 0,11 ^a

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Anlamlık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edildi. Aynı sütun içindeki farklı harfler verilerin anlamlı olarak farklı olduklarını göstermektedir.

Artan inhibitör derişimlerine karşı 0.1, 0.316, 1, 3,16 ve 10 mM asetiltiyokolin iyodür derişimlerindeki ilk hız ölçümleri yapıldı, 1/V değerlerine karşı [I] derişimleri grafiklenerek Lineweaver-Burk doğruları çizildi. Elde edilen Lineweaver-Burk grafiklere göre bileşikler AChE'ı non-kompetitif şekilde inhibe ettikleri gözlemlendi.

Ellajik asit, kemferol, kersetin ve donepezil bileşiklerinin AChE inhibe edici aktivitelerine ait IC₅₀ ve Ki değerleri Tablo 4-4'te gösterildi.

Tablo 4-4: Ellajik asit, kemferol, kersetin ve donepezil bileşiklerinin AChE inhibe edici aktivitelerine ait IC₅₀ ve K_i değerleri.

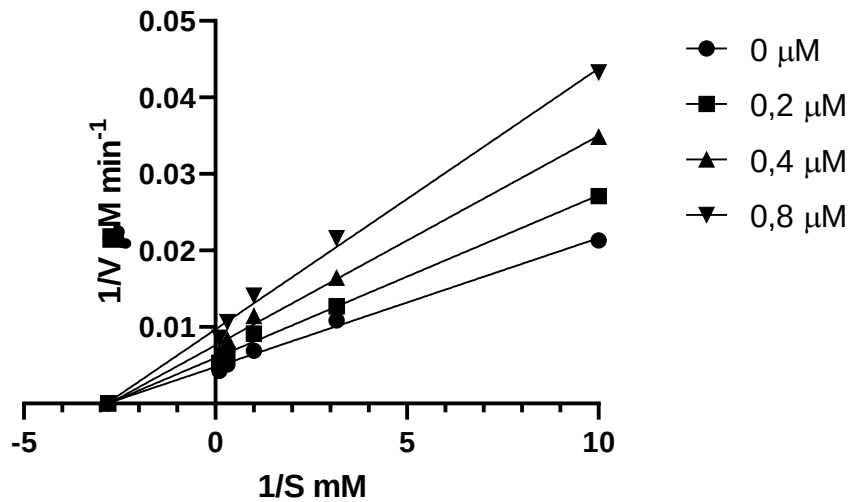
	IC ₅₀ (μM)	K _i (μM)	İnhibisyon türü
Ellajik asit	0,37 ± 0,01 ^a	0,45 ± 0,03 ^a	Non-kompetitif
Kemferol	1,15 ± 0,06 ^b	1,85 ± 0,05 ^b	Non-kompetitif
Kersetin	1,64 ± 0,08 ^c	2,04 ± 0,06 ^c	Non-kompetitif
Donepezil	0,36 ± 0,05 ^a	0,40 ± 0,03 ^a	Non-kompetitif

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Anlamlık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

Aynı sütun içindeki farklı harfler verilerin anlamlı olarak farklı olduklarını göstermektedir

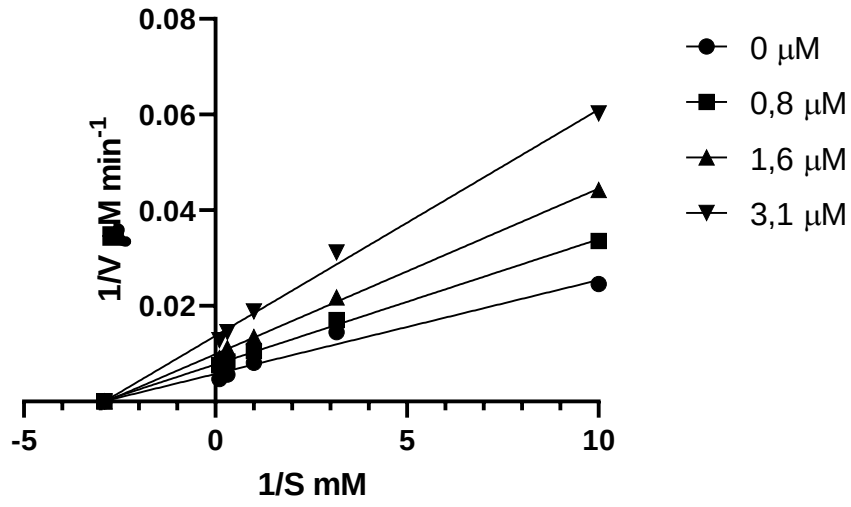
IC₅₀ değerleri kıyaslandığında en yüksek aktiviteyi IC₅₀ değeri $0,37 \pm 0,01 \mu\text{M}$ olan ellajik asit gösterdiği, onu kersetin takip ettiği, en düşük aktiviteyi ise kemferol gösterdiği görüldü. Ellajik asidin AChE inhibe edici aktivitesi referans olarak kullanılan donepezil'in aktivitesine yakın ($p > 0,05$), kersetin ve kemferol'un ise daha düşük olduğu ($p < 0,05$) saptandı. Ellajik asidin referans olarak kullanılan donepezil kadar etkin olduğu sonucuna varıldı.

Ellajik asitin AChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği Şekil 4-6'da gösterildi.



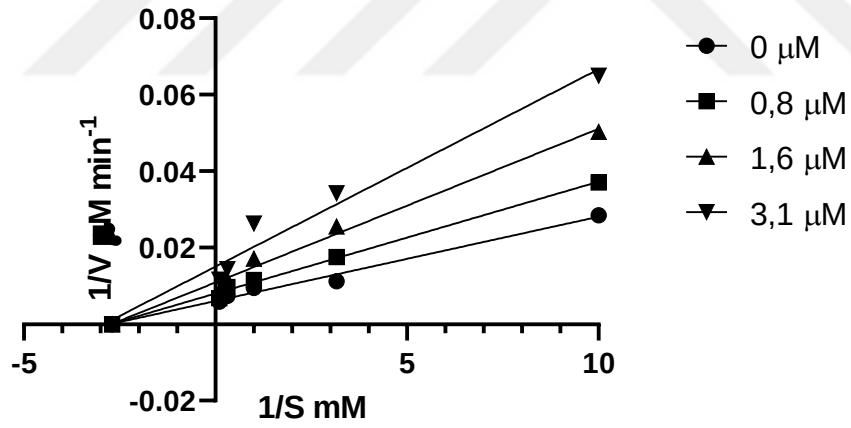
Şekil 4-6: Ellajik asitin AChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.

Kemferol'un AChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği Şekil 4-7'de gösterildi.



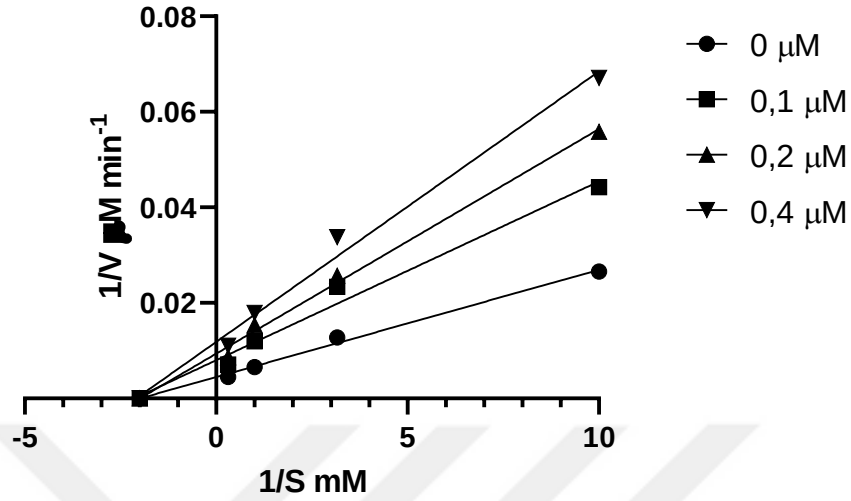
Şekil 4-7: Kemferol'ün AChE inhıbe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.

Kersetin'in AChE inhıbe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği Şekil 4-8'de gösterildi.



Şekil 4-8: Kersetin'in AChE inhıbe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.

Donepezil'in AChE inhıbe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği Şekil 4-9'da gösterildi.



Şekil 4-9: Donepezil'in AChE inhıbe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.

4.3.2. Butirilkolinesteraz İnhıbe Edici Aktivitenin İncelenmesi

İncelenen Rosa ekstrelerinin Tablo 4-5'te gösterilen BuChE enzimine karşı IC₅₀ değerlerin arasındaki anlamsız ($p > 0.05$) farklılıklardan da anlaŐıldığđı gibi benzer etkiye sahip oldukları görüldü.

Tablo 4-5: *R. micrantha*, *R. pisiformis*, *R. phoenicia* ve *R. pulverulenta* ekstrelerinin BuChE inhıbe edici aktiviteleri

Ekstre	Konsantrasyon			IC ₅₀
	2,5 mg/ml final 62,5 µg/ml	1,25 mg/ml final 31,2 µg/ml	0,625 mg/ml final 16 µg/ml	
	% İnhibisyon			
<i>R. micrantha</i>	77,84 ± 1,82	57,04 ± 2,18	35,27 ± 2,37	31,16 ± 0,04 ^a
<i>R. pisiformis</i>	76,23 ± 2,73	58,01 ± 1,05	36,87 ± 3,01	31,13 ± 0,12 ^a
<i>R. phoenicia</i>	77,92 ± 0,59	56,15 ± 1,58	35,23 ± 1,99	30,63 ± 0,25 ^a
<i>R. pulverulenta</i>	78,01 ± 1,12	57,95 ± 2,05	36,99 ± 2,31	31,91 ± 0,32 ^a

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

Aynı sütün içindeki farklı harfler verilerin anlamlı olarak farklı olduklarını göstermektedir

Artan inhibitör derişimlerine karşı 0.1, 0.316, 1, 3,16 ve 10 mM butiriltiyokolin iyodür derişimlerindeki ilk hız ölçümleri yapıldı, 1/V değerlerine karşı [I] derişimleri grafiklenerek Lineweaver-Burk doğruları çizildi. Elde edilen Lineweaver-Burk grafiklere göre bileşikler BuChE'ı non-kompetitif şekilde inhibe ettikleri gözlemlendi.

Ellajik asit, kemferol, kersetin ve donepezil bileşiklerinin BuChE inhibe edici aktivitelerine ait IC₅₀ ve Ki değerleri Tablo 4-6'da gösterildi.

Tablo 4-6: Ellajik asit, kemferol, kersetin ve donepezil bileşiklerinin BuChE inhibe edici aktivitelerine ait IC₅₀ ve Ki değerleri.

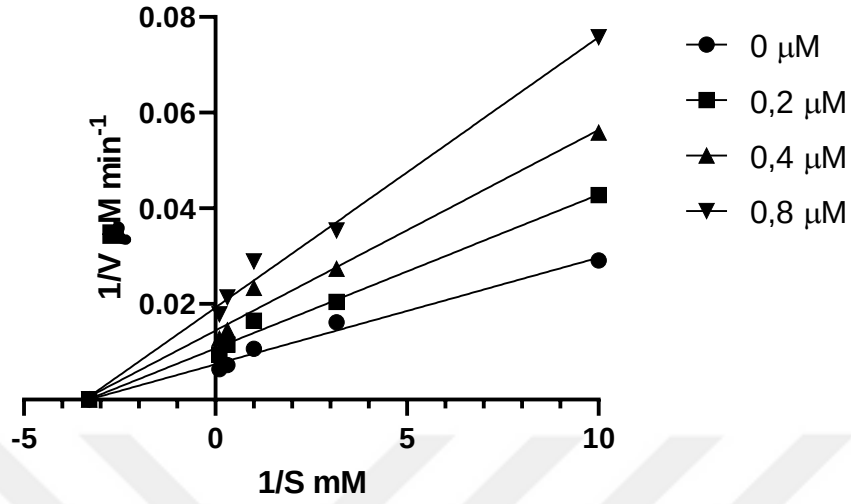
	IC ₅₀ (μM)	Ki (μM)	İnhibisyon türü
Ellajik asit	0,48 ± 0,06	0,44 ± 0,01	Non-kompetitif
Kemferol	2,39 ± 0,15	2,26 ± 0,14	Non-kompetitif
Kersetin	2,24 ± 0,12	2,37 ± 0,08	Non-kompetitif
Donepezil	0,50 ± 0,05	0,81 ± 0,11	Non-kompetitif

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Anlamlık sınırı olarak p < 0.05 kabul edildi.

Aynı sütun içindeki farklı harfler verilerin anlamlı olarak farklı olduklarını göstermektedir

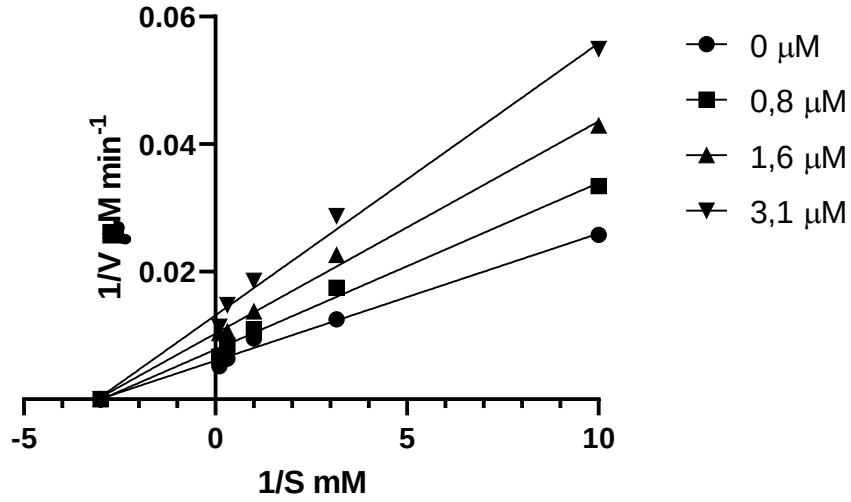
Ellajik asit, kemferol ve kersetinin IC₅₀ değerleri kıyaslandığında en etkin BuChE inhibitörü ellajik asit olduğu görüldü. Ellajik asidin BuChE inhibe edici aktivitesi referans olarak kullanılan donepezil'in aktivitesine yakın (p > 0,05) olduğu saptandı.

Ellajik asid'in BuChE inhıbe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği Şekil 4-10'da gösterildi.



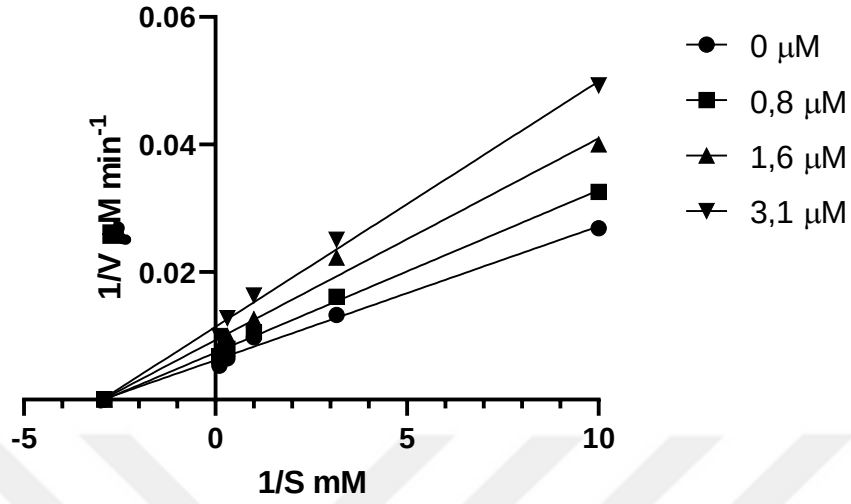
Şekil 4-10: Ellajik asid'in BuChE inhıbe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.

Kemferol'ün BuChE inhıbe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği Şekil 4-11'de gösterildi



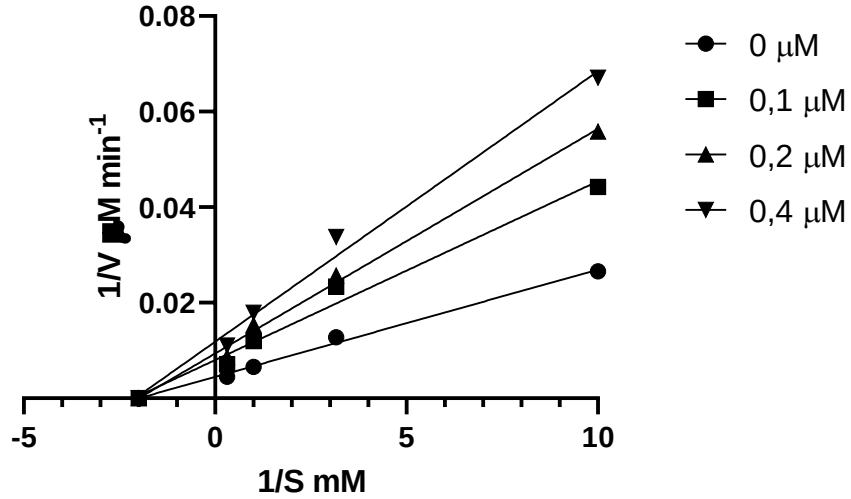
Şekil 4-11: Kemferol'ün BuChE inhıbe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.

Kersetin'in BuChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği Şekil 4-12'de gösterildi.



Şekil 4-12: Kersetin'in BuChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.

Donepezil'in BuChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği Şekil 4-13'te gösterildi.



Şekil 4-13: Donepezil'in BuChE inhibe edici aktivitesine ait Lineweaver-Burk grafiği.

4.4. Ekstrelerin ACE İnhibe Edici Aktivitelerinin İncelenmesi

Bu çalışmada, incelenen Rosa türlerinden hazırlanan metanol ekstralarının ve standart olarak kullanılan kaptoprilin kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan anjiyotensin dönüştürücü enzimine karşı inhibisyon aktiviteleri değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 4-7’de gösterildi.

Ekstrelerin 0,9 mg/ml konsantrasyonda gösterdiği ACE inhibisyon aktivitesi, kaptoprilin 0,45 µg/ml’de gösterdiği aktiviteye yakın ($p > 0.05$) olduğu görüldü.

EC₅₀ değerleri kıyaslandığında, aralarındaki anlamsız ($p > 0.05$) farklılığından da anlaşıldığı gibi benzer etkiye sahip olan ekstraların, kaptoprilden daha düşük aktivite gösterdikleri saptandı ($p < 0.05$).

Tablo 4-7: Rosa Ekstrelerinin ACE inhibe edici aktiviteleri.

Ekstre	20 mg/ml; 10 mg/ml; 10 mg/ml ve 5 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraların reaksiyon ortamındaki konsantrasyonları				
	0,9 mg/ml	0,45 mg/ml	0,225 mg/ml	0,112 mg/ml	EC ₅₀ (mg/ml)
	İnhibisyon %				
<i>R. micrantha</i>	93,27 ± 0,87	75,50 ± 2,31	56,40 ± 1,60	32,35 ± 2,31	0,36 ± 0,01 ^a
<i>R. pisiformis</i>	91,39 ± 4,99	77,19 ± 1,33	59,15 ± 1,46	35,62 ± 2,28	0,34 ± 0,01 ^a
<i>R. Phoenicia</i>	95,76 ± 0,82	73,78 ± 1,35	60,49 ± 1,64	35,13 ± 1,98	0,35 ± 0,01 ^a
<i>R. pulverulenta</i>	95,37 ± 0,63	73,44 ± 1,14	58,15 ± 3,34	32,00 ± 2,83	0,36 ± 0,03 ^a
	0,01 mg/ml, 0,005 mg/ml, 0,0025 mg/ml ve 0,00125 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin reaksiyon ortamındaki konsantrasyonları				
Standard	0,45 µg/ml	0,225 µg/ml	0,112 µg/ml	0,056 µg/ml	EC ₅₀ (µg/ml)
	İnhibisyon %				
Kaptopril	87,65 ± 0,45	71,92 ± 0,99	54,50 ± 1,72	26,37 ± 3,12	0,10 ± 0,01 ^b

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

Aynı sütun içindeki farklı harfler verilerin anlamlı olarak farklı olduklarını göstermektedir

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, insan sağlığı ve besin değeri açısından oldukça faydalı olan Rosa türlerinden *R. micrantha*, *R. phoenicia*, *R. pisiformis* ve *R. pulverulenta* yapraklarının antioksidan, anti-kolinerjik ve ACE inhibe edici etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. *R. pulverulenta* (Serteser ve ark., 2008), *R. micrantha* (Guimarães ve ark., 2010) ve *R. pisiformis* (Ozturk Yılmaz ve Ercisli, 2011) kuşburnunun antioksidan aktiviteleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır, fakat yaprakların biyolojik aktivitelerine dair herhangi bir araştırma yapılmamıştır.

Tıbbi bitkilerden elde edilen ekstrelerin antioksidan aktiviteleri üzerinde son yıllarda yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Normal metabolizma olayları sürecinde oksidasyon reaksiyonlarının sonucunda oluşan serbest radikaller, antioksidan sistemlerin yetersiz kalması neticesinde, hücredeki DNA, protein, lipit ve diğer biyomoleküller ile etkileşime girerek oksidatif hasara neden olurlar. Böyle hasarlar hücre ölümüne ve yaşlanmaya sebep olarak biyolojik işlev kaybına yol açarlar. Oksidatif hasarın en aza indirilmesi kanser, ateroskleroz, nörodejeneratif ve inflamatuvar hastalıkların önlenmesi veya tedavisi için en önemli yaklaşımlardan biri olabilir, çünkü antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu durdurabilir veya bir oksitleyici zincir reaksiyonunu kesintiye uğratabilirler.

Rosa türlerinin bileşiminde fenolik bileşiklerin ve terpenoitlerin güçlü antioksidan etkileri bildirilmiştir. Bu nedenle Rosa türlerinden elde edilen ekstraksiyon ürünlerinin doğal antioksidan kaynağı olarak fitoterapi sağlık ürünlerinde kullanılması giderek önem kazanmaktadır.

Tablo 5-1’de Rosa türlerinin yapraklarından elde edilen ekstrelerin içerdikleri fenolik ve flavonoit miktarları gösterilmiştir. Nowak ve Gawlik-Dziki (2007) inceledikleri 17 Rosa türünün yapraklarından hazırlanan metanol ekstratlarının içerdikleri total fenolik bileşik miktarının 5,7 ile 15,2 mg GAE/100 mg kuru ağırlık arasında değiştiği, en düşük miktarda *R. rugosa* (5.7%) ve *R. vosagiaca* (7.7%), en yüksek miktarda ise *R. canina* türlerinin içerdikleri bildirmişlerdir. İncelenen 17 Rosa türlerinin yapraklarındaki total ellajik asit miktarının 9,37 ve 19,42 mg/g kuru ağırlık arasında; kersetin miktarının 3,68 (*R. agrestis*) ve 15,81 (*R. gallica*) mg/g kuru ağırlık arasında, kemferol miktarının ise 1.25 (*R. subcanina*) ve 9.41 (*R. caryophyllacea*) mg/g

kuru ağırlık arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, gül yapraklarının özellikle ellajik asit, kersetin ve kemferol gibi fenolik bileşik bakımından zengin olduklarını göstermektedir. Hosni ve ark. (2010), major fenolik bileşik olarak ellajik asit ve kersetin'in olduğu bulmuşlardır. Ellajik asit, bitki taninlerin hidrolizi ile oluşan doğal bir fenolik lakton bileşiğidir Rutin gibi farklı şekerlerle glikozitler oluşturan kersetinin, ellajik asidin ve kemferolün antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerinden ileri gelen antimutajenik ve anti-kanser etkiler gösterdikleri bildirilmiştir (Gong ve ark., 2012; Khodadadi ve Nasri, 2017, Imran ve ark., 2019). Kersetin, hiperozid, gallik asit ve protokateşik asit *R. davurica* (Park ve ark., 2003); diosmetin, kemferol, kersetin, kemferol 3-gluzid (astragalin), kersetin 3-ramnozid (kersitrin), kersetin 3-ksilozid, kersetin 3-galaktozid (hiperozid) *R. agrestis* (Bitiş ve ark., 2010) ve *R. sempervirens* (Bitiş ve ark., 2017); kersetin ve kemferol glikozidleri *R. hybrida* 'Smart' (Shetty ve ark., 2011); kemferol ve kersetin glikozidleri *R. spinosissima* (Porter ve ark., 2012); kersetin glikozidleri *R. rugosa* (Hashidoko, 1996) ve *R. sericea* (Li et al., 2013); iki kemferol türevi (kemferol 3-O-glukozid ve kemferol-7-O-glukozid) Q-arabinofuranozid, Q-galaktozid, Q-glukozid, Q-glukuronid, Q-ramnozid, Q-rutinozid, Q-ksilozid *R. sempervirens*, *R. canina* (Cunja ve ark., 2014) ve *R. moschata* (Ouerghemmi ve ark., 2016), yapraklarından izole edilmiştir.

Tablo 5-1: Rosa türlerinin yapraklarından elde edilen ekstralarının içerdikleri fenolik ve flavonoid miktarları.

Rosa türü	Kullanılan ekstre	Total fenol bileşikleri	Flavonoid	Kaynak
<i>R. agrestis</i>	Metanol	489.76 ± 22.33 (mg GAE/g ekstre) 9.7 ± 0.18 (mg GAE/ 100 mg kuru ağırlık)	265.01 ± 30.33 (mg/g ekstre) 8.79 ± 0.04 (mg/g kuru ağırlık)	Bitiş ve ark. (2010) Nowak ve Gawlik-Dziki (2006)
<i>R. sempervirens</i>	Petrol eteri Etanol Kloroform Etil asetat Metanol	17,49 62,86 63,25 203,8 mg GAE/g ekstre 217,0 mg GAE/g ekstre	9,85 40,87 38,92 95,81 mg /g ekstre	Bitiş ve ark. (2017) Ouerghemmi ve ark. (2016)
<i>R. moschata</i>		172,2 mg GAE /g ekstre		Ouerghemmi ve ark. (2016)
<i>R. horrida</i>		152.0 ± 0.69 (mg GAE/g ekstre) 21.9 ± 0.58 (mg/g kuru ağırlık)	67.64 ± 0.78 (mg/g ekstre) 9.73 ± 0.13 mg/g kuru ağırlık	Özsoy ve ark. (2013)
<i>R.canina var canina</i>	Metanol	9,9 ± 0,01 (% kuru ağırlık)	6,84 ± 0,04 (mg/g kuru ağırlık)	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. canina var. corymbifera</i>	Metanol	13,9 ± 0,24	11,78 ± 0,04	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. canina var. puberula</i>	Metanol	12,2 ± 0,32	9,46 ± 0,05	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. canina var dumalis</i>	Metanol	15,2 ± 0,21	8,84 ± 0,04	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. vosagiaca</i>	Metanol	7,7 ± 0,08	5,55 ± 0,03	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. subcanina</i>	Metanol	10,2 ± 0,12	6,41 ± 0,03	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. coriifolia</i>	Metanol	13,2 ± 0,27	12,77 ± 0,03	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. caryophyllaceae</i>	Metanol	11.1 ± 0.14	17.20 ± 0.05	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. subcollina</i>	Metanol	9.3 ± 0.08	11.27 ± 0.04	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. tomentosa</i>	Metanol	11.1 ± 0.2	1.67 ± 0.03	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. rubiginosa</i>	Metanol	10.8 ± 0.3	18.27 ± 0.03	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. villosa</i>	Metanol	10.5 ± 0.2	2.39 ± 0.05	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. inodora</i>	Metanol	13.2 ± 0.09	8.88 ± 0.05	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. jundzilli</i>	Metanol	10.0 ± 0.11	10.780 ± 0.03	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. rugosa</i>	Metanol	5,7 ± 0,08	6,57 ± 0,03	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)
<i>R. gallica</i>	Metanol	11.50 ± 24	19.01 ± 0.1	Nowak ve Gawlik-Dziki (2007)

Bu çalışmada bulunan fenol ve flavonoid miktarları diğer Rosa türleri için bildirilen miktarların sınırları içerisinde.

Süperoksit radikali oluşumu ve lipid peroksidasyonu normal metabolik yolların işleyişi sırasında meydana geldiği için ekstrelerin süperoksit radikalleri ve lipid peroksidasyonu giderici etkileri biyolojik sistemdeki antioksidan aktivitelerini yansıtmaktadır.

Membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek kendi kendini katalizleyerek devam ettiren ve doğrudan membran yapısına ve oluşturduğu reaktif aldehitlerle dolaylı olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verip, birçok hastalığın oluşmasına yol açan lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Bu nedenle, öncelikle fosfolipitlerden oluşturulan lipozomlar kullanılarak Rosa türlerinin yaprak ekstrelerinin, askorbik asit ve demir (III) ile indüklenmiş lipid peroksidasyonunun inhibisyonuna sebep olan etkileri incelendi. Her bir ekstrenin TBARS oluşumunu ve bundan dolayı fosfolipid yıkımını doza bağlı olarak inhibe edici etkiye sahip olduğu görüldü. Bu sonuçlar, incelenen ekstrelerin rutin kadar etkili lipid peroksidasyon inhibitörleri olmasalar bile hidrojen atomu vererek serbest radikalleri ve özellikle lipid peroksit radikallerini gidererek lipid peroksidasyonunu devam ettiren zincir reaksiyonunu durdurabildiklerini göstermektedir. Bu sonuçlar Rosa türlerinin lipid peroksidasyona karşı iyi bir antioksidan aktivite gösterdikleri rapor eden diğer çalışmalar ile aynı yöndedir (Jiao ve ark., 2004; Özsoy ve ark., 2013).

Süperoksit radikali, neredeyse tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alıp indirgenmesi sonucu oluşur. Süperoksit anyonu, nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidaz, ksantin oksidaz (XOD), nötrofil miyeloperoksidaz gibi enzimlerin katalitik aktivitesi sonucunda oluşur. Diğer radikallerden daha az reaktif olmasına rağmen bu radikal anyon, kendisinden çok daha reaktif olan hidrojen peroksidin kaynağıdır ve geçiş metalleri varlığında, Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu ile serbest oksijen radikalleri içinde en reaktif ve zarar verici olan hidroksil radikale dönüşerek hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir. Süperoksit radikali ve hidrojen peroksit DNA ve membran lipidlerin hasarına yol açabilir, fakat direkt olarak lipid peroksidasyonunu başlatamazlar (Halliwell ve Chirico, 1993). Son zamanlarda süperoksit radikalının bazı patolojik durumlarda nitrik oksit ile reaksiyona girerek peroksinitritin oluşumuna neden oldukları ileri sürülmüştür. Çok güçlü ve toksik bir

oksidan olan peroksinitrit, DNA ve dolayısıyla hücrel hasarına neden olabilir. DNA hasarı nükleer enzim poli (ADP-riboz) polimerazı (PARP) aktive eder ve bu enzimin substratı olan NAD^+ seviyelerini azaltır. NAD^+ 'nın tükenmesi, glikoliz, elektron taşınması ve ATP oluşumunun hızını yavaşlatır ve gliseraldehid-3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH)'nin ADP-ribosilasyonuna neden olur. Bunun sonucunda diabetes gibi bazı patolojik durumlarının komplikasyonlarında görülen endotel disfonksiyonu gelişir (Mármol ve ark., 2017). Bu çalışmada incelenen *Rosa* türlerinin yapraklarından hazırlanan metanol ekstraktlarının güçlü superoksit radikal giderici aktiviteleri gösterdikleri gözlenmiştir ve diabetes gibi hastalıkların tedavisinde terapötik bir ajan olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Metal iyonları lipid peroksidasyonunu indükler. Fe^{3+} , lipidlerle reaksiyona girerek alkil serbest radikalleri, hidroperoksitleri parçalayarak peroksil ve alkoksil radikalleri, moleküler oksijeni aktive ederek singlet oksijeni oluşturur. Bu çalışmada incelenen *Rosa* ekstraktlarının $Fe(III)$ 'ü redükleme ve dolayısıyla elektron verici yeteneğine sahip oldukları görüldü. Redükleyici gücü yüksek olan ekstraktlar serbest radikallere elektron vererek ve onları zararsız hale getirerek radikal reaksiyonları sonlandırabilirler. Bu çalışmadaki sonuçlar *R. agrestis*, *R. horrida* ve *R. sempervirens* için bildirilen sonuçlarla uyum göstermektedir (Bitiş ve ark., 2010, Özsoy ve ark., 2013, Ouerghemmi ve ark., 2016; Bitiş ve ark., 2017).

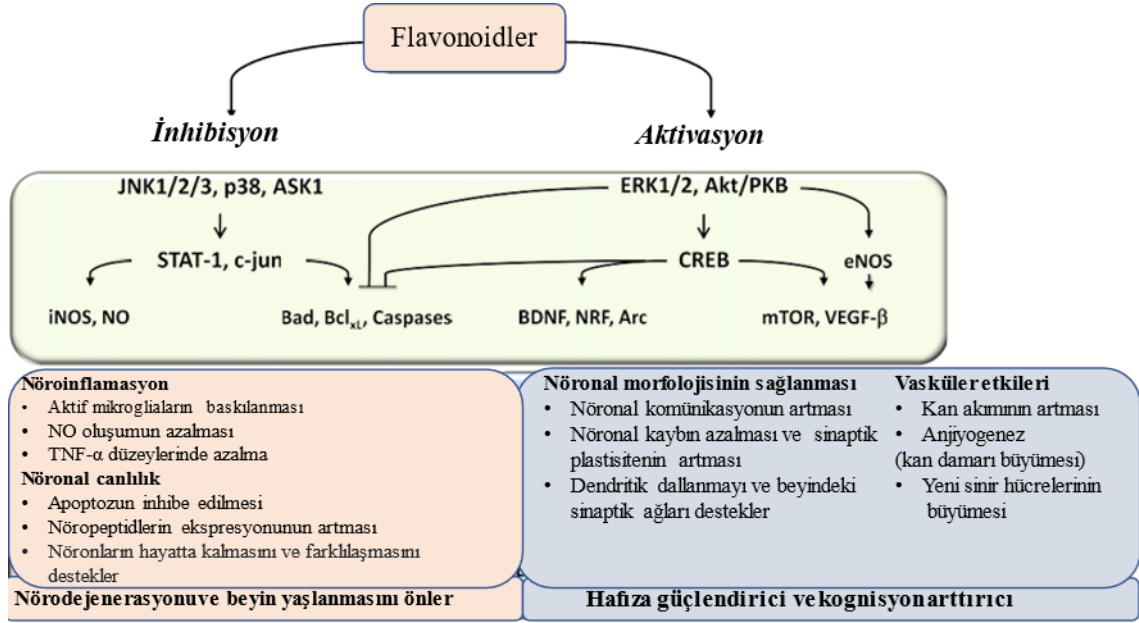
İncelenen ekstraktlarının biyolojik sistemlerdeki hidrojen atomu transfer (HAT) ve elektron transfer (ET) etkilerini tayin etmek için sentetik olan DPPH• ve ABTS•⁺ radikalleri kullanılmıştır. *Rosa* türlerinin DPPH ve ABTS gibi radikaller ile reaksiyona girerek onları etkisiz hale getirebildikleri bulgularımız literatür ile uyumlu olarak bulundu (Nowak ve Gawlik-Dziki, 2007; Bitiş ve ark., 2008, Özsoy ve ark., 2013, Ouerghemmi ve ark., 2016; Bitiş ve ark., 2017).

Alzheimer hastalığı üzerine yapılan çalışmalarda elde edilen patolojik ve biyokimyasal veriler, bu hastalığın tedavisi için kesin bir çözüm bulunmamakla beraber beyin fonksiyonlarındaki gerilemeyi azaltacak veya hastalığın gelişimini yavaşlatacak yönde yeni yaklaşımlar geliştirildiğini göstermektedir. AH tedavisinin temel dayanağı, beyindeki nörotransmitter sistemleri hedef alan ilaçlardır. AH, öncelikle glutamat ve asetilkolin salgılayan nöronlara ve bunlarla ilişkili sinapslara zarar vermekte ve bu hasar, AH'nın erken bilişsel semptomları ile ilişkilidir. Alzheimer hastalığının tedavi yaklaşımlardan biri, hastalarda kolinerjik kavşak ve sinapslardan salınan asetilkolin

miktarının azaldığının belirlenmesi ile, asetilkolini hidroliz yoluyla parçalayan bir enzim olan asetilkolinesterazın inhibe edilerek asetilkolin miktarının artırılmasıdır. Tedavide en etkili ilaç grubu olarak asetilkolinesteraz inhibitörleri kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda, butirilkolinesteraz miktarının Alzheimer hastalarının beyinlerinde normal beyinlerden daha fazla olduğu belirlenmesiyle butirilkolinesteraz enzimin inhibisyonu da tedavide önem kazanmıştır (Korolev, 2014).

Birçok araştırma, doğal veya sentezlenmiş flavonoid analoglarının AChE enzimini, A β fibril oluşumunu ve tau agregasyonunu inhibe ederek nörokoruyucu etkiler gösterdikleri bildirmişlerdir. Bazı doğal flavonoidlerin ve metabolitlerinin nörolojik süreçler üzerinde faydalı etkiler gösterebildiğini ve bunun nöronal sinyal yollarıyla etkileşimleriyle bağlantılı olduğunu gösteren kapsamlı kanıtlar vardır (Williams ve Spencer, 2012). Parkinson hastalığı (PD), AH ve diğer nörodejeneratif hastalıklar, nöroinflamasyon, glutamaterjik eksitotoksisite, demir artışları ve/veya endojen antioksidanların tükenmesi gibi çok faktörlü olaylar tarafından tetiklendikleri ileri sürülmektedir. Flavonoidlerin, bu hastalıklara yol açan nöronal hasarı önleyebileceğini ve böylece hastalığın ilerlemesini yavaşlatabileceğini öne süren artan sayıda araştırma yapılmıştır.

Flavonoidlerin nörolojik sağlığı iyileştirme potansiyeli, hücre içi nöronal ve glial sinyal yollarıyla etkileşime girmesi, periferik ve serebral vasküler sistemi etkilemesi ve çeşitli nörotoksik türler ve nöroinflamasyon tarafından indüklenen nöronal hasarı ve kayıpları azaltma yetenekleriyle ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir. Flavonoidler, eNOS aktivasyonu yoluyla sinaptik plastisitede ve potansiyel olarak anjiyogenez/nörogenezde değişikliklere yol açan ERK-CREB yolunu ve PI3-kinaz mTOR kaskadını aktive ederken, diğer taraftan JNK ve ASK1'i inhibisyonu yoluyla proapoptotik sinyalleşmeyi inhibe ettikleri bildirilmiştir. ERK1/2'nin aktivasyonu ile birlikte bu kinazların inhibisyonu, apoptoz ve nöroinflamasyonun ve dolayısıyla bunlarla ilişkili nörodejenerasyonun baskılanmasına yol açar (Williams ve Spencer, 2012). (Şekil 5-1).



Şekil 5-1: Flavonoidler tarafından ERK-CREB yolağı ve PI3-kinaz-mTOR kaskadının aktivasyonu ile birlikte JNK ve ASK1 inhibisyonu yoluyla apoptoz ve nöroinflamasyonun ve dolayısıyla bunlarla ilişkili nörodejenerasyonun baskılanması (Williams ve Spencer, 2012).

Khan ve ark., (2009) kersetin, rutin, kempferol 3-O-d-galaktozid ve makluraksanton'un in vitro AChE ve BuChE inhibisyon aktivitelerini incelemişler, ve IC₅₀ değerleri 353.86 µM/L (AChE) ve 420.76 µM (BChE) olan kersetin'in her iki enzimi inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da kersetinin her iki enzimi geri dönüşümlü olarak fakat daha düşük konsantrasyonda inhibe ettiği gözlenmiştir.

Çalışmamızda standart madde olarak Alzheimer tedavisinde başarıyla kullanılan donepezil klorhidrat geri dönüşümlü selektif bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür (Rogers ve ark., 1998; Jacobsen ve ark., 1999). Donepezil, geri dönüşümlü olarak asetilkolinesteraza bağlanarak asetilkolinin hidrolizini inhibe eder, böylece sinapslarda asetilkolinin ve dolayısıyla kolinerjik iletimi artırır. Bu çalışmada ellajik asid, kemferol ve kersetin gibi flavonoidleri, AChE yanında bütirilkolinesterazı da geri dönüşümlü olarak inhibe ettikleri için, incelenen Rosa türlerinin yapraklarının potansiyel bir ilaç adayı kaynağı olabileceği düşünülmektedir.

Anjiyotensin I dönüştürücü enzimi, anjiyotensin I'in anjiyotensin II'ye dönüştürülmesinden sorumludur ve kan basıncının düzenlenmesinde ve sıvı ve elektrolit homeostazında önemli bir rol oynar. Bu nedenle, ACE'nin inhibisyonu, yüksek tansiyonun düzenlenmesi ve tedavisi için umut verici bir yol haline gelmiştir. Lisinopril,

kaptopril ve enalapril gibi çeşitli sentetik ACE inhibitörleri, hipertansiyonun başarılı tedavisi için yaygın olarak kullanılmasına rağmen, bu sentetik inhibitörlerin kronik kullanımı, kalıcı öksürük, postural hipotansiyon, böbrek yetmezliği ve anjiyoödem gibi birçok istenmeyen yan etki ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle doğal ürünlerinden ACE inhibisyonu gösteren bileşiklerin tespit edilmesi için kapsamlı araştırmalar yapılmıştır. Peptidler (Murray ve FitzGerald, 2013), triterpenler (Somova ve ark., 2003), kumarinler (Ali ve ark., 2019) gibi ACE inhibisyonunu hedefleyen doğal maddeler literatürde bildirilmiştir. Birçok çalışmada, farklı bitkilerden izole edilen fenolik bileşiklerin ACE aktivitesini inhibe ettikleri ve kan basıncını düşürdükleri gösterilmiştir (Actis-Goretta ve ark., 2006; Ojeda ve ark., 2010; Dong ve ark., 2011). Bu bileşikler zayıf bir çözünürlüğe ve ardından kısıtlı biyoyararlanıma sahip olsa da, spontan hipertansif sıçanlarla yapılan farklı deneylerin, kersetin (Hackl ve ark., 2002)), ferulic asit (Alam ve ark., 2013) ve tannik asit (Thekkumkara ve ark., 2012) gibi fenolik bileşiklerin *in vivo* olarak kan basıncını düşürdükleri görülmüştür. Guerrero ve ark. (2012) flavonoidlerin yapı ile ACE inhibitör aktiviteleri arasındaki ilişkiyi incelemişler, Al Shukor ve ark. (2013) aralarında kersetin, ellajik asit, kemferol ve rutin olan 22 bileşiğin ACE inhibitör etkilerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da incelenen Rosa türleri ACE inhibe edici aktivite gösterdikleri tespit edilmiş, bu etkinin içerdikleri flavonoidlerden ileri gelebileceği sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, *R. micrantha*, *R. phoenicia*, *R. pulverulenta* ve *R. pisiformis* antioksidan potansiyelini değerlendirmek amacıyla hazırlanan metanol ekstratlarının antioksidan aktiviteleri, çeşitli antioksidan testler kullanılarak incelendi. Ekstrelerin antioksidan aktiviteye sahip fenolik ve flavonoit bileşikler içerdikleri, potansiyel antioksidan olarak demir ve askorbik asit ile indüklenmiş fosfatidilkolin lipozomlarının peroksidasyonunu inhibe ettikleri, DPPH, ABTS ve superoksid radikallerini giderdikleri, indirgeyici güç gösterdikleri ve doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecekleri sonucuna varıldı.

Önemli bir demans nedeni olan Alzheimer hastalığı tedavisinde AChE ve BuChE'ı geri dönüşümlü olarak inhibe edici aktiviteye sahip bitkilerin potansiyel bir ilaç adayı olarak değerlendirilmesi dikkate alarak bu çalışmada AChE ve BuChE inhibisyon potansiyelini gösteren *R. micrantha*, *R. phoenicia*, *R. pulverulenta* ve *R. pisiformis* yaprakları gelecekte hastalığın seyrini değiştirebilecek yeni ilaçların geliştirilmesinde kullanılabilecekleri kanısına varıldı.

Ekstrelerin ACE üzerinde inhibe edici etkileri incelenerek yüksek tansiyon tedavisinde doğal bir kaynak olarak kullanılabilecekleri sonucuna varıldı.

Sonuçlar *R. micrantha*, *R. phoenicia*, *R. pisiformis* ve *R. pulverulenta* yapraklarının yeni ilaçların geliştirilmesinde yüksek potansiyele sahip olduklarını göstermektedir.

KAYNAKLAR

Abdel-Hameed, E.S.S., Bazaid, S.A., Shohayeb, M.M (2012). Total phenolics and antioxidant activity of defatted fresh taif rose, Saudi Arabia. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 129-140.

Actis-Goretta, L., Ottaviani, J. I., Fraga, C. G. (2006). Inhibition of angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 229-234.

Al Shukor, N., Van Camp, J., Gonzales, G.B., Staljanssens, D., Struijs, K., Zotti, J.M., Raes, K., SmaggheG. (2013). Angiotensin-converting enzyme inhibitory effects by plant phenolic compounds: A study of structure activity relationships. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 61, 11832-11839.

Alam, M.A., Sernia, C., Brown, L. (2013). Ferulic acid improves cardiovascular and kidney structure and function in hypertensive rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 61, 240-249.

Ali, M.Y., Serong, S.H., Jung, H.A., Choi, J.S. (2019). Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity of coumarins from *Angelica decursiva*. *Molecules*, 24, 3937.

An, H.J., Kim, I.T., Park, H.J., Kim, H.M., Choi, J.H., Lee, K.T. (2011). Tormentic acid, a triterpenoid saponin, isolated from *Rosa rugosa*, inhibited LPS-induced iNOS, COX-2, and TNF- α expression through inactivation of the nuclear factor-B pathway in RAW 264.7 macrophages. *International Immunopharmacology*, 11 (4), 504-510.

Andersson, U., Henriksson, E., Ström, K., Alenfall, J., Göransson, O., Holm, C. (2011). Rose hip exerts antidiabetic effects via a mechanism involving downregulation of the hepatic lipogenic program. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 300, E111–E121.

Başer, KHC., Kürkçüoğlu, M., Konur, O.Z. (1990). Production and properties of Turkish rose Oil. *TAB Bulletin*. 4, 13-15.

Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.

Bitis, L., Melikoglu, G., Kultur, S., Ozsoy, N., Can, A. (2010). Flavonoids and antioxidant activity of *Rosa agrestis* leaves. *Natural Product Research*, 24, 580-589.

Bitis, L., Sen, A., Ozsoy, N., Birteksoz-Tan, S., Kultur, S., Melikoglu, G. (2017). Flavonoids and biological activities of various extracts from *Rosa sempervirens* leaves. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31 (2), 299-303.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28, 25-30 (1995).

Buege, J.A. & Aust, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302-310.

Çakilcioglu, U., Şengün, M.T., Türkoğlu, I. (2010a). An ethnobotanical survey of medicinal plants of Yazikonak and Yurtbasi districts of Elazığ province, Turkey. *Journal of Medicinal Plant Research*, 4(7), 567-572.

Cakilcioglu, U. ve Turkoglu, I. (2010b). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 165-175.

Can, A., Akev, N., Sütlüpinar, N. (1992). Effect of rose hips on blood glucose level. *Acta Pharmaceutica Turcica*, 34, 17-22.

Çetinkaya Karafaki, F. ve Karafaki, L. (2013). Tıbbi bir bitki olarak gül. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 17, 11-13.

Chen, F.Z., Peng, S.L., Ding, L.S., He, Y.H., Wang, M.K. (2001). Chemical Constituents from fruits of *Rosa davidii*, *Journal of Integrative Plant Biology*, 43, 101-104.

Chen, Y., Liu, Z.-J., Liu, J., Liu, L.-K., Zhang, E.-S., Li, W.-L. (2014). Inhibition of metastasis and invasion of ovarian cancer cells by crude polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt *in vitro*. *Journal of Cancer Prevention*, 15, 10351-10354.

Chen, T., Li, J., Chen, J., Song, H., Yang, C. (2015). Anti-hyperplasia effects of *Rosa rugosa* polyphenols in rats with hyperplasia of mammary gland. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39 (2) 990-996.

Cheng, B.C.Y., Fu, X.-Q., Guo, H., Li, T., Z.-Z., Wu, Chan, K., Yu, Z.-L. (2016). The genus *Rosa* and arthritis: Overview on pharmacological perspectives. *Pharmacological Research*, 114, 219-234.

Choi, E.M. ve Hwang, J.K. (2003). Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Piper cubeba*, *Physalis angulata* and *Rosa hybrida*, *Journal of Ethnopharmacology*, 89 (1), 171-175.

Choi, S.J., Kim, M.J., Heo, H.J., Kim, H.K., Hong, B., Kim, C.J., Kim, B.G., Shin, D.H. (2006). Protective effect of *Rosa laevigata* against amyloid beta peptide-induced oxidative stress, *Amyloid*, 13 (1), 6-12.

Choi, K.C., Lee, Y.H., Jung, M.G., Kwon, S.H., Kim, M.J., Jun, W.J., Lee, J., Lee, J.M., Yoon, H.G. (2009). Gallic acid suppresses lipopolysaccharide-induced nuclear factor-kappaB signaling by preventing RelA acetylation in A549 lung cancer cells. *Molecular Cancer Research*, 7 (12), 2011-2021.

Cunja, V., Mikulic-Petrovsek, M., Stampar, F., Schmitzer, V. (2014). Compound identification of selected Rose species and cultivars: an insight to petal and leaf phenolic profiles. *Journal of the American Society and Horticultural Science*, 139, 157–166.

Czyzowska, A., Klewicka, E., Pogorzelski, E., Nowak, A. (2015). Polyphenols, vitamin C and antioxidant activity in wines from *Rosa canina* L. and *Rosa rugosa* Thunb. *Journal of Food Composition and Analysis*, 39, 62-68.

Daels-Rakotoarison, D.A., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Luyckx, M., Dine, T., Bailleul, F., Cazin, M., Cazin, J.C. (2002). Effects of *Rosa canina* fruit extract on neutrophil respiratory burst. *Phytotherapy Research*, 16 (2) 157-161.

Deliorman Orhan, D., Hartevioglu, A., Kupeli, E., Yesilada E. (2007). In vivo anti-inflammatory and antinociceptive activity of the crude extract and fractions from *Rosa canina* L. Fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, 112 (2), 394-400

Demir, N., Yildiz, O., Alpaslan, M., Hayaloglu, A. (2014). Evaluation of volatiles, phenolic compounds and antioxidant activities of rose hip (*Rosa* L.) fruits in Turkey. *LWT- Food Science and Technology*, 57, 126-133.

Denev, P., Kratchanova, M., Ciz, M., Lojek, A., Vasicek, O., Nedelcheva, P.,

Blazheva, D., Toshkova, R., Gardeva, E., Yossifova, L., Hyrsl, P., Vojtek, L. (2014). Biological activities of selected polyphenol-rich fruits related to immunity and gastrointestinal health. *Food Chemistry*, 157, 37-44.

Dong, J., Xu, X., Liang, Y., Head, R., Bennett, L. (2011). Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by polyphenols from tea (*Camellia sinensis*) and links to processing method. *Food and Function*, 2, 310-319.

Duh, P.-D., Tu, Y.-Y. & Yen, G.-C. (1999). Antioxidant activity of water extract of Harng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie-Food Science and Technology*, 32, 269-277.

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. ve Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.

Ercisli, S. (2007). Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry*, 104, 1379-1384.

Esfandiary, E., Karimipour, M., Mardani, M., Ghanadian, M., Alaei, H.A., Mohammadnejad, D., Esmaeili, A. (2015). Neuroprotective effects of *Rosa damascena* extract on learning and memory in a rat model of amyloid- β -induced alzheimer's disease. *Advanced Biomedical Research*, 4, 131-141.

Fattahi, A., Niyazi, F., Shahbazi, B., Farzaei, M.H., Bahrami, G. (2017). Antidiabetic mechanisms of *Rosa canina* fruits. *Journal of Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 22, 127-133.

Frey, F.M. ve Meyers, R. (2010). Antibacterial activity of traditional medicinal plants used by haudenosaunee peoples of New York state. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10, 64-74.

Fu, M., Ng, T., Jiang, Y., Pi, Z., Liu, Z., Li, L., Liu, F. (2006). Compounds from rose (*Rosa rugosa*) flowers with human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase inhibitory activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58, 1275-1280.

Fujii, T., Ikeda, K., Saito, M. (2011). Inhibitory effect of rose hip (*Rosa canina* L.) on melanogenesis in mouse melanoma cells and on pigmentation in brown guinea pigs. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75, 489-495.

Gao, P.Y., Li, L.Z., Peng, Y., Piao, S.J., Zeng, N., Lin, H.W., Song, S.J. (2010). Triterpenes from fruits of *Rosa laevigata*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, 457-459.

Gao, X.Q., Björk, L., Trajkovski, V., Uggla, M. (2000). Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(14), 2021-2027.

Ghazghazi, H., Miguel, M.G., Hasnaoui, B., Sebei, H., Figueiredo, A.C., Pedro, L.G., Barroso, J.G. (2012). Leaf essential oil, leaf methanolic extract and rose hips carotenoids from *Rosa sempervirens* L. growing in North of Tunisia and their antioxidant activities. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6 (4), 574-579.

Gilmore, T.D. ve Garbati, M.R. (2011). Inhibition of NF- κ B Signaling as a Strategy in Disease Therapy. M. Karin (Ed.). *NF- κ B in Health and Disease* (s. 245-263): Springer Berlin Heidelberg.

Gong, J.H., Shin, D., Han, S.Y., Kim, J.L., Kang, Y.H. (2012). Kaempferol suppresses eosinophil infiltration and airway inflammation in airway epithelial cells and in mice with allergic asthma, *Journal of Nutrition*, 142 (1) (2012) 47-56.

Guerrero, L., Castillo, J., Quinones, M., Garcia-Vallve, S., Arola, L., Pujadas, G., Muguerza, B. (2012). Inhibition of angiotensin-converting enzyme activity by flavonoids: Structure-activity relationship studies. *PloS One*, 7, e49493.

Guimarães, R., Barros, L., Carvalho, A.M, Ferreira, I.C.F.R. (2010). Studies on chemical constituents and bioactivity of *Rosa micrantha*: an alternative antioxidants source for food, pharmaceutical, or cosmetic applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 6277-6284.

Guimarães, R., Barros, L., Calhella, R.C., Carvalho, A.M., Queiroz, M.J.R.P., Ferreira, I.C.F.R. (2014). Bioactivity of different enriched phenolic extracts of wild fruits from Northeastern Portugal: A comparative study. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69, 37-42.

Guo, D., Xu, L., Cao, X., Guo, Y., Ye, Y., Chan, C., Mok, D.K., Yu, Z., Chen, S. (2011). Anti-inflammatory activities and mechanisms of action of the petroleum ether fraction of *Rosa multiflora* Thunb. hips. *Journal of Ethnopharmacology*, 138 (3), 717-722.

Gürbüz, I., Üstün, O., Yesilada, E., Sezik, E., Kutsal, O. (2003). Anti-Ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, 93–97.

Hackl, L.P., Cuttle, G., Dovichi, S.S., Lima-Landman, M. T., Nicolau, M. (2002). Inhibition of angiotensin-converting enzyme by quercetin alters the vascular response to bradykinin and angiotensin I. *Pharmacology*, 65, 182-186.

Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Hajiloo, M. (2010). Analgesic and anti-inflammatory effects of *Rosa damascena* hydroalcoholic extract and its essential oil in animal models, Iran. *Journal of Pharmacy Research*, 9 (2), 163-168.

Halliwell, B. ve Chirico, S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57, 71S-72S.

Hashidoko, Y. (1996). The phytochemistry of *Rosa rugosa*. *Phytochemistry*, 43, 535-549.

Hodisan, T.; Socaciu, C.; Ropan, I.; Neamtu, G. (1997). Carotenoid composition of *Rosa canina* fruits determined by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 16, 521-528.

Hornero-Mendez, D. ve Minguez-Mosquera, M.I. (2000). Carotenoid pigments in *Rosa mosqueta* hips, an alternative carotenoid source for foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 825-828.

Horváth, G., Molnár, P., Radó-Turcsi, E., Deli, J., Kawase, M., Satoh, K., Tanaka, T., Tani, S., Sakagami, H., Gyémánt, N. (2012). Carotenoid composition and in vitro pharmacological activity of rose hips, *Acta Biochimica Polonica*, 59, 129-132.

Hosni, K., Chrif, R., Zahed, N., Abid, I., Medfei, W., Sebei, H., Brahim, N.B. (2010). Fatty acid and phenolic constituents of leaves, flowers and fruits of tunisian dog rose (*Rosa canina* L.). *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 87, 117-123.

Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Gondal, T.A., Imran, A., Shahbaz, M., Fokou, P.V.T., Arshad, M.U., Khan, H., Guerreiro, S.G., Martins, N., Estevinho, L.M. (2019). Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules*, 24, 2277-2293.

Jacobsen, F.M., Comas-Diaz, L. (1999). Donepezil for psychotropic-induced memory loss. *Journal of Clinical Psychiatry*, 1999, 60 (10), 698-704.

Jager, A.K., Eldeen, I.M., van Staden, J. (2007). COX-1 and -2 activity of rose hip. *Phytotherapy Research*, 21(12) 1251-1252.

Jang, S.H., Lim, J.W., Morio, T., Kim, H. (2012). Lycopene inhibits *Helicobacter pylori*-induced ATM/ATR-dependent DNA damage response in gastric epithelial AGS cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 52, 607-615.

Jiao, S.P., Chen, B., Du, P.G. (2004). Anti-lipid peroxidation effect of *Rosa davurica* Pall. fruit. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*, 2 (5), 364-365.

Jimenez, S., Gascon, S., Luquin, A., Laguna, M., Ancin-Azpilicueta, C., Rodriguez-Yoldi, M.J. (2016). *Rosa canina* extracts have antiproliferative and antioxidant effects on Caco-2 human colon cancer. *PLoS ONE*, 11, e0159136.

Jung, H.J., Sa, J.H., Song, Y.S., Shim, T.H., Park, E.H., Lim, C.J. (2011). Anti-inflammatory, anti-angiogenic, and anti-nociceptive activities of the chloroform fraction of a methanol extract from *Rosa davurica* Pall. leaves in experimental animal models. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 33 (1), 186-192.

Kaack, K. ve Falk Kühn, B. (1991). Evaluation of rose hip species for processing of jam, jelly and soup. *Planteavl*, 95, 353-358.

Katsukawa, M., Nakata, R., Koeji, S., Hori, K., Takahashi, S., Inoue, H. (2011). Citronellol and geraniol, components of rose oil, activate peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma and suppress cyclooxygenase-2 expression. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75 (5) 1010-1012.

Khan, M.T.H., Orhan, I., Şenol, F.S., Kartal, M., Şener, B., Dvorská, M., Šmejkal, K., Šlapetová, T. (2009). Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies. *Chemico-Biological Interactions*, 181, 383-389.

Khodadadi, S. ve Nasri, H. (2017). An update on ellagic acid as a natural powerful flavonoid. *Annals of Research in Antioxidants*, 2(2), e02.

Kim, I.T., Ryu, S., Shin, J.S., Choi, J.H., Park, H.J., Lee, K.T. (2012). Euscaphic acid isolated from roots of *Rosa rugosa* inhibits LPS-induced inflammatory responses via TLR4-mediated NF-kappaB inactivation in RAW 264.7 macrophages. *Journal of Cellular Biochemistry*, 113, (6), 1936-1946.

Kim, M.S., Kim, S.H. (2011). Inhibitory effect of astragalin on expression of lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators through NF-kappa B in macrophages, *Archives of Pharmacal Research*, 34 (12), 2101-2107.

Korkmaz, M., Özçelik, H., Kandemir, A., İlhan, V. (2013). Erzincan ve Çevresinde yayılış gösteren doğal gül (*Rosa L.*) taksonları. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 17 (1), 49-59.

Korolev, I.O. (2014). Alzheimer's disease: A clinical and basic science review. *Medical Student Research Journal*, 4, 24-33.

Kultur S. (2004). A new *Rosa* species for European flora. *Istanbul Journal of Pharmacy*, 37, 75-83.

Kültür, Ş. (1998). Kuzey-Batı Türkiyede Yetişen Yabani *Rosa* Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Bir Araştırma. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.

Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111, 341-364.

Kumar, R., Nair, V., Gupta, Y.K., Singh, S. (2015a). Anti-inflammatory and anti-arthritic activity of aqueous extract of *Rosa centifolia* in experimental models in rats, *International Journal of Rheumatic Diseases*, 20(9), 1072-1078 (2015).

Kumar, R., Nair, V., Singh, S., Gupta, Y.K. (2015b). In vivo antiarthritic activity of *Rosa centifolia* L. flower extract. *Ayu*, 36 (3) (2015) 341-345.

Kumarasamy, Y., Cox, P.J., Jaspars, M., Nahar, L., Sarker, S.D. (2002). Screening seeds of Scottish plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 83, 73-77.

Kurt, A., Bjoern, F., Bernd, W., Eduardo, M. (2013). Rose hip special extract FB9440 inhibited osteoclastogenesis via NF-B pathway. *Planta Medica*, 79-PM3 (2013).

Lattanzio, F., Greco, E., Carretta, D., Cervellati, R., Govoni, P., Speroni, E. (2011). In vivo anti-inflammatory effect of *Rosa canina* L. extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 880-885.

Lee, I.A., Kim, E.J., Kim, D.H. (2012). Inhibitory effect of beta-sitosterol on TNBS-induced colitis in mice. *Planta Medica*, 78 (9), 896-898.

Lee, Y.-H., Jung, M.G., Kang, H.B., Choi, K.-C., Haam, S., Jun, W., Kim, Y.-J., Cho, H.Y., Yoon, H.-G. (2008). Effect of anti-histone acetyltransferase activity from *Rosa rugosa* Thunb. (*Rosaceae*) extracts on androgen receptor-mediated transcriptional regulation. *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 412-417.

Li, J.R., Liu, J., He, D.H., Xu, H.X., Ding, L.S., Bao, W.K., Zhou, Z.Q., Zhou, Y. (2013). Three new phenolic compounds from the leaves of *Rosa sericea*. *Fitoterapia*, 84, 332-337.

Liu, M., Xu, Y., Han, X., Liang, C., Yin, L., Xu, L., Qi, Y., Zhao, Y., Peng, J., Sun, C. (2014). Potent effects of flavonoid-rich extract from *Rosa laevigata* Michx fruit against hydrogen peroxide-induced damage in PC12 cells via attenuation of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Molecules*, 19 (8), 11816-11832.

Liu, W., Li, S.-Y., Huang, X.-E., Cui, J.-J., Zhao, T., Zhang, H. (2012). Inhibition of tumor growth in vitro by a combination of extracts from *Rosa roxburghii* Tratt and *Fagopyrum cymosum*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13, 2409-2414.

Loizou, S., Lekakis, I., Chrousos, G.P., Moutsatsou, P. (2010). Beta-sitosterol exhibits anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54 (4), 551-558.

Lu, H., Ouyang, W., Huang, C. (2006). Inflammation, a key event in cancer development. *Molecular Cancer Research*, 4(4), 221- 233.

Ma, Z., Piao, T., Wang, Y., Liu, J. (2015). Astragalin inhibits IL-1 β -induced inflammatory mediators production in human osteoarthritis chondrocyte by inhibiting NF- κ B and MAPK activation. *International Immunopharmacology*, 25 (1), 83-87.

Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Jiménez-Moreno, N., Ancín-Azpilicueta, C., Rodríguez-Yoldi, M.R. (2017). Therapeutic applications of Rose hips from *Rosa* species. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1137, 1-37.

Mavi, A., Terzi, Z., Ozgen, U., Yildirim, A., Coskun, M. (2004). Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciatia taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 27, 702-705.

Miyasaki, Y., Rabenstein, J.D., Rhea, J., Crouch, M.L., Mocek, U.M., Kittell, P.E., Morgan, M.A., Nichols, W.S., Van Benschoten, M.M., Hardy, W.D., Liu, G.E. (2013). Isolation and characterization of antimicrobial compounds in plant extracts against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *PLoS ONE*, 8, e61594.

Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M.J., Lema, J.M. (2001). Antioxidant activity of extracts from *Gevuina avellana* and *Rosa rubiginosa* defatted seeds. *Food Research International*, 34, 103-109.

Murray, B.A. ve FitzGerald, R.J. (2007). Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: Biochemistry, bioactivity and production. *Current Pharmaceutical Design*, 13, 773-791.

Newman, D.J. ve Cragg, G.M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.*, 83, 770-803.

Ninomiya, K., Matsuda, H., Kubo, M., Morikawa, T., Nishida, N., Yoshikawa, M. (2007). Potent anti-obese principle from *Rosa canina*: Structural requirements and mode of action of trans-tiliroside. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17, 3059-3064.

Nishikimi, M., Rao, N. A. & Yagi, K. (1972). The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 46, 849-854.

Nowak, R. ve Gawlik-Dziki, U. (2007). Polyphenols of *Rosa* L. leaves and their radical scavenging activity. *Z. Naturforsch [C]*, 62, 32-8.

Ojeda, D., Jimenez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., Alvarez, L. (2010). Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 127, 7-10.

Olech, M., Nowak, R., Pecio, Ł., Ło's, R., Malm, A., Rzymowska, J., Oleszek, W. Multidirectional characterisation of chemical composition and health-promoting potential of *Rosa rugosa* hips. *Natural Product Research*, 31 (6), 667-671 (2017).

Orhan, N., Aslan, M., Hoşbaş, S., Deliorman Orhan, D. (2009). Antidiabetic effect and antioxidant potential of *Rosa canina* fruits. *Pharmacognosy Magazine*, 5(20), 309-315.

Ouerghemmi, S., Sebei, H., Siracusa, L., Ruberto, G., Saija, A., Cimino, F., Cristani, M. (2016). Comparative study of phenolic composition and antioxidant activity of leaf extracts from three wild *Rosa* species grown in different tunisia regions: *Rosa canina* L., *Rosa moschata* Herrm. and *Rosa sempervirens* L. *Industrial Crops and Products*, 94, 167-177.

Özkay, Ü.D., Öztürk, Y., Can, Ö.D. (2011). Yaşlanan dünyanın hastalığı: Alzheimer hastalığı. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 18(1), 35-42.

Ozsoy, N., Kultur, S., Melikoglu, G., Can, A. (2013). Screening of the antioxidant potential of the leaves and flowers from *Rosa horrida* Fischer. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7, 573-578.

Ozturk Yılmaz, S. ve Ercisli, S. (2011). Antibacterial and antioxidant activity of fruits of some Rose species from Turkey. *Romanian Biotechnological Letters*, 16 (4), 6407-6411.

Pang, N.N. Malike, D., Liu, H.W. (2009). Simultaneous determination of main bioactive components in *Rosa multiflora* Thunb. and their fragmentation study by LC-MS. *Chromatographia*, 70, 1253-1257.

Park, J.C., Hwang, Y.H., Choi, D.R., Jung, D.Y., Park, J.G., Hur, J.M., Kim, S.J., Kim, S.N., Kim, M.S. (2003). A triterpenoid glucoside and phenolic compounds from *Rosa davurica*. *Natural Product Sciences*, 9, 31-33.

Park, K.H., Choi, S.E., Choi, Y.W., Lee do, I., Joo, S.S., Jeong, M.S., Bang, H., Lee, C.S., Lee, M.K., Seo, S.J., Lee, M.W. (2011). Topical application of two condensed tannins from the root of *Rosa multiflora* Thunberg for the treatment of atopic dermatitis (AD) in NC/Nga mice. *Phytotherapy Research*, 25 (10) 1564-1569.

Park, K.H., Jeong, M.S., Park, K.J., Choi, Y.W., Seo, S.J., Lee, M.W. (2014b). Topical application of *Rosa multiflora* root extract improves atopic dermatitis-like skin lesions induced by mite antigen in NC/NGA mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 37, 178-183.

Park, S., Park, S.Y., Kim, K.S., Seo, G.Y., Kang, S. (2014a). Rose hip alleviates pain and disease progression in rats with moniodoacetate induced osteoarthritis. *Journal of the Korean Society for Applied Bioscience*, 57 (2), 143-151.

Pazarbaşı, A., Kasap, M., Kasap, H. (2011). Kanser yolakları. *Arşiv*, 20, 187-229.

Pieroni, A., Quave, C.L. (2005). Traditional pharmacopoeias and medicines among Albanians and Italians in southern Italy: A comparison. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 258-270 1008.

Porter, E.A., van den Bos, A., Kite, G.C., Veitch, N.C., Simmonds, M.S.J. (2012). Flavonol glycosides acylated with 3-hydroxy-3-methylglutaric acid as systematic characters in *Rosa*. *Phytochemistry*, 81, 90-96.

Pratico, D. (2008). Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends in Pharmacological Sciences*, 29 (12), 609-615.

Raskin, I., Ribnický, D.M., Komarnytsky, S., Ilic, N., Poulev, A., Borisjuk, N., Brinker, A., Moreno, D.A., Ripoll, C., Yakoby, N., O'Neal, J.M., Cornwell, T., Pastor, I. and Fridlender, B. (2002). Plants and human health in the twenty-first century. *Trends in Biotechnology*, 20, 522-531.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26, 1231-7.

Rogers, S.L., Doody, R.S., Mohs, R.C. (1998). Donepezil improves cognition and global function in Alzheimer's disease: A 15-week, double-blind, placebo-controlled study. *Archives of Internal Medicine*, 158, 1021-31.

Ropciuc, S., Cenușă, R., Capriță, R., Crețescu, I. (2011). Study on the ascorbic acid content of rose hip fruit depending on stationary conditions. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 44, 129-132.

Saaby, L., Jager, A.K., Moesby, L., Hansen, E.W., Christensen, S.B. (2011). Isolation of immunomodulatory triterpene acids from a standardized rose hip powder (*Rosa canina* L.), *Phytotherapy Research*, 25 (2), 195-201.

Sadeghi, H. Hosseinzadeh, S. Touri, M.A. Ghavamzadeh, M. Barmak, M.J. (2016). Hepatoprotective effect of *Rosa canina* fruit extract against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6 (2), 181-188.

Sakanaka, S., Tachibana, Y. ve Okada, Y. (2005). Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). *Food Chemistry*, 89, 569-575.

Schwager, J., Hoeller, U., Wolfram, S., Richard, N. (2011). Rose hip and its constituent galactolipids confer cartilage protection by modulating cytokine, and chemokine expression. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11, 105-119.

Schwager, J., Richard, N., Schoop, R., Wolfram, S. (2014). A novel rose hip preparation with enhanced anti-inflammatory and chondroprotective effects. *Mediators of Inflammation*, 105710, 1-10.

Serteser, A., Kargioglu, M., Gok, V., Bagci, Y., Ozcan, M.M. Arslan, D. (2008). Determination of antioxidant effects of some plant species wild growing in Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59 (7-8), 643-651.

Shakibaei, M., Allaway, D., Nebrich, S., Mobasheri, A. (2012). Botanical extracts from rosehip (*Rosa canina*) willow bark (*Salix alba*), and nettle leaf (*Urtica dioica*) suppress IL-1 β -Induced NF-kappa B activation in canine articular

chondrocytes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 1-16, 509383.

Shetty, R., Fretté, X., Jensen, B., Shetty, N.P., Jensen, J.D., Jørgensen, H.J., Newman, M.A. & Christensen, L.P (2011). Silicon-induced changes in antifungal phenolic acids, flavonoids, and key phenylpropanoid pathway genes during the interaction between miniature roses and the biotrophic pathogen *Podosphaera pannosa*. *Plant Physiology*, 157, 2194-2205.

Shiota, S., Shimizu, M., Sugiyama, J., Morita, Y., Mizushima, T., Tsuchiya, T. (2004). Mechanisms of action of corilagin and tellimagrandin I that remarkably potentiate the activity of β -lactams against methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Microbiology and Immunology*, 48, 67-73.

Slinkard, K. ve Singleton, V.L. (1977). Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.

Somova, L. O., Nadar, A., Rammanan, P., Shode, F. O. (2003). Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. *Phytomedicine*, 10, 115-121.

Taghizadeh, M., Rashidi, A.A., Taherian, A.A., Vakili, Z., Sajad Sajadian, M., Ghardashi, M. (2016). Antidiabetic and antihyperlipidemic effects of ethanol extract of *Rosa canina* L. fruit on diabetic rats: An experimental study with histopathological evaluations. *Journal of Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 21, NP25–NP30.

Talib, W.H. ve Mahasneh, A.M. (2010). Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of jordanian plants used in traditional medicine. *Molecules*, 15, 1811-1824.

Tamura, S., Yang, G.-M., Yasueda, N., Matsuura, Y., Komoda, Y., Murakami, N. (2010). Tellimagrandin I, HCV invasion inhibitor from *Rosae rugosae* Flos. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20, 1598–1600.

Tao, X., Sun, X., Xu, L., Yin, L., Han, X., Qi, Y., Xu, Y., Zhao, Y., Wang, C., Peng, J. (2016). Total flavonoids from *Rosa laevigata* Michx fruit ameliorates hepatic

ischemia/reperfusion injury through inhibition of oxidative stress and inflammation in rats, *Nutrients*, 8, 418- 432.

Thekkumkara, T., Gumaste, U., Snyder, R., Karamyan, V. (2012). Tannic acid, an inhibitor for renal angiotensin type 1 receptor and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Endocrine Reviews*, 33, SAT-248.

Tsai, D.S., Huang, M.H., Tsai, J.C., Chang, Y.S., Chiu, Y.J., Lin, Y.C., Wu, L.Y., Peng, W.H. (2015). Analgesic and anti-Inflammatory activities of *Rosa taiwanensis* Nakai in mice, *Journal of Medicinal Food*, 18 (5), 592-600.

Tumbas, V.T., Čanadanović-Brunet, J.M., Četojević-Simin, D.D., Četković, G.S., Dilas, S.M., Gille, L. (2012) Effect of rosehip (*Rosa canina* L.) phytochemicals on stable free radicals and human cancer cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 1273-1281.

Wenzig, E.M., Widowitz, U., Kunert, O., Chrubasik, S., Bucar, F., Knauder, E., Bauer, R. (2008). Phytochemical composition and in vitro pharmacological activity of two rose hip (*Rosa canina* L.) preparations. *Phytomedicine*, 15 (10), 826-835.

Williams, R.J. ve Spencer, J.P.E. (2012). Flavonoids, cognition, and dementia: Actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 52, 35-45.

Wu, J., Liu, X., Chan, C.O., Mok, D.K., Chan, S.W., Yu, Z., Chen, S. (2014). Petroleum ether extractive of the hips of *Rosa multiflora* ameliorates collagen-induced arthritis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 157, 45-54.

Yan, M., Zhu, Y., Zhang, H.J., Jiao, W.H., Han, B.N., Liu, Z.X., Qiu, F., Chen, W.S., Lin, H.W. (2013). Anti-inflammatory secondary metabolites from the leaves of *Rosa laevigata*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 21 (11), 3290-3297.

Yang, Y., Wang, Y., Wang, Y., Zhao, M., Jia, H., Li, B., Xing, D. (2016). Tormentic acid inhibits IL-1 β -induced inflammatory response in human osteoarthritic chondrocytes. *Inflammation*, 39 (3), 1151-1159.

Yi, O., Jovel, E.M., Towers, G.N., Wahbe, T.R., Cho, D. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of native *Rosa* sp. from British Columbia, Canada. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58, 178-189.

Yuan, G. ve Du, F. (2000). Studies on chemical constituents of the fruits of *Rosa bracteata* var. *bracteata*, *Zhong Yao Cai*, 23, 454-456.

Yuan, J.Q., Yang, X.Z., Miao, J.H., Tang, C.P., Ke, C.Q., Zhang, J.B., Ma, X.J., Ye, Y. (2008). New triterpene glucosides from the roots of *Rosa laevigata* Michx, *Molecules*, 13 (9)2229-2237.

Zhamanbayeva, G.T., Aralbayeva, A.N., Murzakhmetova, M.K., Tuleukhanov, S.T., Danilenko, M. (2016). Cooperative antiproliferative and differentiation-enhancing activity of medicinal plant extracts in acute myeloid leukemia cells. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 82, 80-89.

Zhang, G.Q., Huang, X.D., Wang, H., Leung, A.K., Chan, C.L., Fong, D.W., Yu, Z.L. (2008). Anti-inflammatory and analgesic effects of the ethanol extract of *Rosa multiflora* Thunb. hips. *Journal of Ethnopharmacology*, 118 (2), 290-294.

Zhang, S., Lu, B., Han, X., Xu, L., Qi, Y., Yin, L., Xu, Y., Zhao, Y., Liu, K., Peng, J. (2013). Protection of the flavonoid fraction from *Rosa laevigata* Michx fruit against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 60-69.

Zou, S.Q. ve Huang, H.W. (2007). Determination of ursolic acid and oleanolic acid in *Rosa laevigata* Michx. by RP-HPLC-PAD. *Food Research and Development*, 28, 130-132.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

TÜRKİYE'DE YETİŞEN ROSA MICRANTHA, ROSA PISIFORMIS, ROSA PHOENICIA VE ROSA PULVERULENTA TÜRLERİNİN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ_2

ORJİNALLİK RAPORU

%19

BENZERLİK ENDEKSİ

%18

İNTERNET KAYNAKLARI

%5

YAYINLAR

%0

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikerisim.dicle.edu.tr

İnternet Kaynağı

%6

2

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

%2

3

www.scribd.com

İnternet Kaynağı

%1

4

hdl.handle.net

İnternet Kaynağı

%1

5

www.beyazegitim.com

İnternet Kaynağı

%1

6

dergipark.ulakbim.gov.tr

İnternet Kaynağı

%1

7

tez.sdu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

8

etd.lib.metu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı		Soyadı	
Doğ.Yeri		Doğ.Tar.	
Email		Uyruğu	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans		
Lise		

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):