

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak  
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya  
(sol yandaki gibi) olacak .

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;  
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

**(DOKTORA TEZİ)**

**CRATAEGUS PETRODAVISII DÖNMEZ, CRATAEGUS  
PESHMENII DÖNMEZ VE CRATAEGUS CHRISTENSENII  
DÖNMEZ TÜRLERİ ÜZERİNE FARMAKOGNOZİK  
ARAŞTIRMALAR**

**SEZİN ANIL**

**DANIŞMAN  
DOÇ. DR. GÜLAY MELİKOĞLU**

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI  
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI**

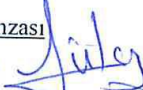




**İSTANBUL-2016**

**TEZ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı Doktora Programında Araş. Gör. Sezin ANIL tarafından hazırlanan Crataegus Petrodavisii Dönmez, Crataegus Peshmenii Dönmez ve Crataegus Christensenii Dönmez Türleri Üzerine Farmakognozیک Araştırmalar başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

15 / 02 / 2016

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Doç. Dr. Gülay MELİKOĞLU (İ.Ü.Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı)	
2.Doç. Dr. Nur TAN (İ.Ü.Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı)	
3.Doç. Dr. Şükran KÜLTÜR(İ.Ü.Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı)	
4.Prof. Dr. Ali DÖNMEZ (Hacettepe Üniv. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik A.B.D.)	
5.Doç. Dr. Leyla BİTİŞ (Marmara Üniv. Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı)	

**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.

Sezin ANIL



## İTHAF

Destęini hiç esirgemeyen güzel aileme ithaf ediyorum...

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca yoğun görevlerine rağmen bilgi ve deneyimleriyle çalışmalarımı yönlendiren, her aşamada ilgisi, desteği ve değerli fikirleri ile bana destek olan tez danışmanım Doç. Dr. Gülay MELİKOĞLU'na saygı ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Afife MAT'a, sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Esra EROĞLU ÖZKAN'a, Anabilim Dalı öğretim üyelerine, yardımcılarına ve elemanlarına da teşekkürlerimi sunarım.

Bitkimin toplanmasında, teşhisinde ve botanik açıdan incelenmesinde ve fotoğrafların sağlanmasında yardımcı olan Hacettepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik A.B.D. öğretim üyesi değerli hocam Prof. Dr. Ali DÖNMEZ'e ve İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik A.B.D. üyesi değerli hocam Doç.Dr. Şükran KÜLTÜR'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Farmakolojik aktivite çalışmalarımı yürütmeme olanak sağlayan Farmakoloji A.B.D. Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Sönmez UYDEŞ DOĞAN'a, bilgi ve yardımını esirgemeyen Sayın Doç.Dr.Gökçe TOPAL ve çalışmaya olan yardımı için Armond DACI'ye ve tüm Farmakoloji A.B.D. üyelerine teşekkür ederim.

Tez çalışmama Ekim 2011-Ocak 2016 tarihleri arasında Yurtiçi Doktora Burs Programı ile destek veren Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) – Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB)'na teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince manevi desteğini her an hissettiğim değerli aileme, biricik eşim Ömer'e ve tüm dostlarıma en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39214

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Xİ
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	Xİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	XVİ
ÖZET .....	XVİİ
ABSTRACT.....	XVİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. <i>Crataegus</i> Türleri.....	3
2.1.1. Botanik Bölüm .....	3
2.1.1.1. Rosaceae Familyası.....	3
2.1.1.2. <i>Crataegus</i> L. Cinsi .....	3
2.1.1.3. <i>Crataegus monogyna</i> Jacq. subsp. <i>monogyna</i> .....	5
2.1.1.4. <i>Crataegus peshmenii</i> Dönmez .....	6
2.1.1.5. <i>Crataegus petrodavisii</i> Dönmez.....	9
2.1.1.6. <i>Crataegus christensenii</i> Dönmez .....	10
2.1.2. Kimyasal Bölüm .....	13
2.1.2.1. Şeker ve şeker alkolleri .....	13
2.1.2.2. Organik ve fenolik asitler .....	14
2.1.2.3. Terpenler .....	15
2.1.2.4. Uçucu yağ.....	17
2.1.2.5. Polifenolikler.....	18
Hidrosinamik asitler .....	18
Lignanlar .....	18
2.1.2.6. Flavonoitler .....	18
2.1.3. <i>Crataegus</i> Türlerinin Farmakolojik Etkileri .....	25

2.1.4. <i>Crataegus</i> Türleri ile Yapılmış Aktivite Çalışmaları.....	27
2.1.4.1. Kalp Kasılmasının Artışı Üzerine Etkisi (Pozitif İnotropik Etki).....	27
2.1.4.2. Kas ve Sinir Uyarılabilirliğini Azaltıcı Etki (Negatif Batmotropik Etki) ..	28
2.1.4.3. İskemi-Reperfüzyon Nedenli Zarardan Koruma.....	29
2.1.4.4. Vazorelaksasyon, Periferik Damar Direncinin Azalması .....	30
2.1.4.5. Antioksidan etkileri .....	32
2.1.4.6. Antiinflamatuvar etkileri .....	33
2.1.4.7. Analjezik etkileri .....	33
2.1.4.8. Antihiperlipidemik Aktivite .....	34
2.1.4.9. Antikatarakt Potansiyeli .....	34
2.1.4.10. Antiviral Aktivite .....	35
2.1.4.11. Üreme Sistemi üzerine etkisi.....	35
2.1.4.12. İmmünostimulan Etki.....	35
2.1.4.13. Anksiyete ve Depresyon Üzerine Etkisi.....	36
2.1.4.14. Hepatoprotektif Etkisi .....	36
2.1.4.15. Sitotoksik Aktivite .....	36
2.1.4.16. Hipoglisemik Aktivite.....	36
2.1.4.17. KLİNİK ÇALIŞMALAR .....	37
2.1.4.18. Farmakokinetik Özellikleri .....	42
2.1.4.19. Preklinik Güvenlik Sınırları .....	42
2.1.4.20. Yan etkiler .....	43
2.1.4.21. İlaç ilaç Etkileşimleri .....	43
2.2. Antiinflamatuvar Etki .....	43
2.2.1. Tümör Nükleozis Faktör Alfa (TNF $\alpha$ ).....	44
2.2.2. İnterlökin 1-beta (IL-1 $\beta$ ) .....	44
2.2.3. Myeloperoksidaz (MPO).....	45
2.3. Antioksidan Etki .....	45
2.3.1. Serbest Okijen Radikallerinin Lipidler üzerine Etkileri ve Malondialdehit (MDA).....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	47
3.1. Bitkisel Materyal.....	47
3.2. Genel Metodlar .....	47
3.2.1. Fitokimyasal Ön Denemeler .....	47



3.2.1.1. Flavon Türevlerinin Aranması .....	47
3.2.1.2. Antrasen Türevlerinin Aranması .....	48
3.2.1.3. Saponin Aranması .....	48
3.2.1.4. Tanen Bileşiklerinin Aranması .....	48
3.2.1.5. Alkaloid Aranması .....	48
3.2.2. Miktar Tayini Yöntemleri .....	49
3.2.2.1. Su Miktar Tayini .....	49
3.2.2.2. Kül Miktar Tayini.....	49
3.2.2.3. Total Flavonoit Miktar Tayini.....	49
3.3. Ekstrelerin Hazırlanması.....	50
3.3.1. Kullanılan aletler:.....	50
3.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile kimyasal içeriğin aydınlatılması .....	50
3.4.1. HPLC Cihazının Özellikleri:.....	51
3.4.2. Fenolik Bileşikler için Çalışma Koşulları .....	51
3.4.3. Ekstrelerin ve Örnek Çözeltilerin Hazırlanması .....	53
3.4.3.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması .....	53
3.4.3.2. Ölçü Eğrisi Hazırlanması .....	53
3.5. Antiinflamatuvar ve Antioksidan aktivitenin <i>In vitro</i> incelenmesi.....	54
3.5.1. Araç ve Gereçler .....	54
3.5.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları.....	54
3.5.3. Kullanılan Kitler: .....	54
3.5.4. Dene Hayvanlarının Genel Özellikleri :.....	54
3.5.5. Örneklerin Hazırlanması .....	55
3.5.6. Standartların hazırlanması:.....	57
3.5.7. Test Protokolü: .....	58
4. BULGULAR.....	60
4.1. Fitokimyasal Ön Denemeler .....	60
4.2. Miktar Tayini Sonuçları .....	60
4.2.1. Kül ve Su Miktar Tayini Sonuçları .....	60
4.2.2. Total Flavonoit Miktar Tayini Sonuçları .....	61
4.3. HPLC İle Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları.....	62
4.3.1. Standartların Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması.....	65

4.3.1.1. Klorojenik asit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması .....	65
4.3.1.2. Kafeik asit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması.....	67
4.3.1.3. Viteksin-4"-O-glikozit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması.....	69
4.3.1.4. Viteksin-2"-O-ramnozit Ölçü Eğrisi Hazırlanması.....	71
4.3.1.5. Viteksin Ölçü Eğrisi Hazırlanması.....	73
4.3.1.6. Rutin Ölçü Eğrisi Hazırlanması .....	75
4.3.1.7. Hiperozit Ölçü Eğrisi Hazırlanması .....	77
4.3.1.8. İzokersetin Ölçü Eğrisi Hazırlanması .....	79
4.3.1.9. Kempferol 3-glikozit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması .....	81
4.3.1.10. Kersitrin Ölçü Eğrisi Hazırlanması .....	83
4.3.1.11. Apigenin 7 glikozit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması .....	85
4.3.1.12. Spireozit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması.....	87
4.3.1.13. Luteolin Ölçü Eğrisinin Hazırlanması.....	89
4.3.1.14. Kersetin Ölçü Eğrisi Hazırlanması.....	91
4.3.1.15. Apigenin Ölçü Eğrisinin Hazırlanması .....	93
4.3.1.16. Kempferol Ölçü Eğrisinin Hazırlanması.....	95
4.3.2. Ekstrelerdeki Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayinleri .....	97
4.3.2.1. <i>Crataegus petrodavisii</i> yaprak ekstresinin içeriği.....	98
4.3.2.2. <i>Crataegus petrodavisii</i> meyve ekstresinin içeriği.....	100
4.3.2.3. <i>Crataegus peshmenii</i> yaprak ekstresinin içeriği.....	102
4.3.2.4. <i>Crataegus peshmenii</i> meyve ekstresinin içeriği.....	104
4.3.2.5. <i>Crataegus christensenii</i> yaprak ekstresinin içeriği .....	106
4.3.2.6. <i>Crataegus christensenii</i> meyve ekstresinin içeriği.....	108
4.3.2.7. <i>Crataegus monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> yaprak ekstresinin içeriği .....	110
4.3.2.8. <i>Crataegus monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> meyve ekstresinin içeriği.....	112
4.4. Antiinflamatuvar ve Antioksidan Aktivitenin <i>In vitro</i> İncelenmesi .....	114
4.4.1. <i>Crataegus peshmenii</i> yaprak ekstresinin Malondialdehit (MDA) düzeyi üzerine etkisi .....	114
4.4.2. <i>Crataegus peshmenii</i> yaprak ekstresinin Myeloperoksidaz (MPO) düzeyi üzerine etkisi .....	116
4.4.3. İnflamatuvar koşullarda izole sıçan aortasından TNF alfa salıverilmesi üzerine <i>Crataegus peshmenii</i> yaprak ekstresinin etkisi .....	118

4.4.4. İnflmatuvar koşullarda izole sıçan aortasından IL-1 $\beta$ salıverilmesi üzerine <i>Crataegus peshmenii</i> yaprak ekstresinin etkisi .....	120
5. TARTIŞMA .....	122
KAYNAKLAR .....	137
ETİK KURUL KARARI .....	148
ÖZGEÇMİŐ .....	150



## TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1. Ülkemizde yetişen <i>Crataegus</i> türleri [2,19,20].....	4
Tablo 2-2. <i>Crataegus</i> türlerinde bulunan şeker ve şeker alkolleri .....	13
Tablo 2-3. <i>Crataegus</i> türlerinde bulunan organik asit, fenolik asit ve terpenik bileşikler.....	16
Tablo 2-4. <i>Crataegus</i> türlerinde yer alan Apigenin ve türevi flavonoidler .....	20
Tablo 2-5. <i>Crataegus</i> türlerinde yer alan Kersetin türevi bileşikler .....	21
Tablo 2-6. <i>Crataegus</i> türlerinde yer alan Eriodiktiyol ve Kempferol türevi bileşikler ..	23
Tablo 2-7. <i>Crataegus</i> türlerinde bulunan kateşin ve türevi prosiyanidin bileşikleri .....	25
Tablo 3-1. <i>Crataegus</i> türleri için HPLC’de kullanılan gradient yöntem .....	53
Tablo 3-2. Çalışmada kullanılan doku, RPMI, PSA, LPS, IL-1 $\beta$ ve <i>Crataegus</i> ekstre miktarları.....	55
Tablo 4-1. Fitokimyasal ön deneme sonuçları.....	60
Tablo 4-2. Kül ve su miktar tayini sonuçları .....	60
Tablo 4-3. Total Flavanoit miktar tayini sonuçları .....	61
Tablo 4-4. Çalışılan standartların retansiyon zamanları ve çalışılan dalga boyları .....	63
Tablo 4-5. Klorojenik asit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	65
Tablo 4-6. Kafeik asit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	67
Tablo 4-7. Viteksin-4"-O-glikozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	69
Tablo 4-8. Viteksin-2"-O-ramnozid standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	71
Tablo 4-9. Viteksin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	73
Tablo 4-10. Rutin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	75
Tablo 4-11. Hiperozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	77
Tablo 4-12. İzokersetin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	79
Tablo 4-13. Kempferol 3-glikozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	81
Tablo 4-14. Kersitrin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	83
Tablo 4-15. Apigenin 7 glikozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	85
Tablo 4-16. Spireozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	87
Tablo 4-17. Luteolin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	89
Tablo 4-18. Kersetin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	91
Tablo 4-19. Apigenin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	93

Tablo 4-20. Kempferol standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	95
Tablo 4-21. <i>Crataegus</i> ekstrelerinin verim hesabı (%).....	97
Tablo 4-22. <i>C. petrodavisii</i> yaprak ekstresinin içeriği.....	99
Tablo 4-23. <i>C. petrodavisii</i> meyve ekstresinin içeriği.....	101
Tablo 4-24. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin içeriği.....	103
Tablo 4-25. <i>C. peshmenii</i> meyve ekstresinin içeriği.....	105
Tablo 4-26. <i>C. christensenii</i> yaprak ekstresinin içeriği .....	107
Tablo 4-27. <i>C. christensenii</i> meyve ekstresinin içeriği.....	109
Tablo 4-28. <i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> yaprak ekstresinin içeriği .....	111
Tablo 4-29. <i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> meyve ekstresinin içeriği.....	113
Tablo 4-30. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin MDA düzeyi üzerine etkisi .....	114
Tablo 4-31. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin MPO düzeyi üzerine etkisi .....	116
Tablo 4-32. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin TNF $\alpha$ salınımı üzerine etkisi.....	118
Tablo 4-33. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin IL-1 $\beta$ salınımı üzerine etkisi .....	120
Tablo 5-1. HPLC çalışması ile kimyasal içerikleri aydınlatılan <i>Crataegus</i> türleri.....	125
Tablo 5-2. <i>Crataegus</i> Ekstreleri üzerine yapılan HPLC çalışmasının sonuçları .....	132
Tablo 5-3. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin antiinflamatuvar ve antioksidan aktivite sonuçları.....	134

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1. <i>Crataegus peshmenii</i> Dönmez (AAD 18774) .....	7
Şekil 2-2. <i>Crataegus peshmenii</i> Dönmez [20] .....	8
Şekil 2-3. <i>Crataegus petrodavisii</i> Dönmez (AAD 18791) .....	10
Şekil 2-4 <i>Crataegus christensenii</i> Dönmez (AAD 18766) .....	11
Şekil 2-5. <i>Crataegus christensenii</i> Dönmez [20] .....	12
Şekil 2-6. <i>Crataegus</i> türlerinde yaygın bulunan asitler .....	14
Şekil 2-7. <i>Crataegus</i> türlerinde yaygın olarak bulunan flavonoit türevi bileşikler .....	19
Şekil 2-8. <i>Crataegus</i> türlerinde yaygın olarak bulunan kateşin ve türevi prosiyanidin bileşikleri .....	24
Şekil 4-1. Standart karışımına ait LC spektrum (336 nm) .....	62
Şekil 4-2. Standart karışımına ait LC spektrum (366 nm) .....	63
Şekil 4-3. Klorojenik asit UV kromatogramı .....	65
Şekil 4-4. Klorojenik asit standartına ait ölçü eğrisi .....	66
Şekil 4-5. Kafeik asit standartına ait UV kromatogramı .....	67
Şekil 4-6. Kafeik asit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	68
Şekil 4-7. Vitexsin-4"-O-glikozit standartına ait UV kromatogramı .....	69
Şekil 4-8. Vitexsin-4"-O-glikozit standartına ait ölçü eğrisi .....	70
Şekil 4-9. Vitexsin-2"-O-ramnozid standartına ait UV kromatogramı .....	71
Şekil 4-10. Vitexsin-2"-O-ramnozid standartına ait ölçü eğrisi .....	72
Şekil 4-11. Vitexsin standartına ait UV kromatogramı .....	73
Şekil 4-12. Vitexsin standartına ait ölçü eğrisi .....	74
Şekil 4-13. Rutin standartına ait UV kromatogramı .....	75
Şekil 4-14. Rutin standartına ait ölçü eğrisi .....	76
Şekil 4-15. Hiperozit standartına ait UV kromatogramı .....	77
Şekil 4-16. Hiperozit standartına ait ölçü eğrisi .....	78
Şekil 4-17. İzokersetin standartına ait UV kromatogramı .....	79
Şekil 4-18. İzokersetin standartına ait ölçü eğrisi .....	80
Şekil 4-19. Kempferol 3-glikozit standartına ait UV kromatogramı .....	81
Şekil 4-20. Kempferol 3- glikozit standartına ait ölçü eğrisi .....	82
Şekil 4-21. Kersitrin standartına ait UV kromatogramı .....	83

Şekil 4-22. Kersitrin standartına ait ölçü eğrisi .....	84
Şekil 4-23. Apigenin 7 glikozit standartına ait UV kromatogramı .....	85
Şekil 4-24. Apigenin 7-glikozit standartına ait ölçü eğrisi .....	86
Şekil 4-25. Spireozit standartına ait UV kromatogramı.....	87
Şekil 4-26. Spireozit standartına ait ölçü eğrisi .....	88
Şekil 4-27. Luteolin standartına ait UV kromatogramı .....	89
Şekil 4-28. Luteolin standartına ait ölçü eğrisi .....	90
Şekil 4-29. Kersetin standartına ait UV kromatogramı .....	91
Şekil 4-30. Kersetin standartına ait ölçü eğrisiŞekil 4-21: .....	92
Şekil 4-31. Apigenin standartına ait UV kromatogramı .....	93
Şekil 4-32. Apigenin standartına ait ölçü eğrisi.....	94
Şekil 4-33. Kempferol standartına ait UV kromatogramı.....	95
Şekil 4-34. Kempferol standartına ait ölçü eğrisi .....	96
Şekil 4-35. <i>C. petrodavisii</i> yaprak ekstresinin 336 nm'deki spektrumu.....	98
Şekil 4-36. <i>C. petrodavisii</i> yaprak ekstresinin 366 nm'deki spektrumu .....	98
Şekil 4-37. <i>C. petrodavisii</i> meyve ekstresinin 336 nm'deki spektrumu.....	100
Şekil 4-38. <i>C. petrodavisii</i> meyve ekstresinin 366 nm'deki spektrumu.....	100
Şekil 4-39. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin 336 nm'deki spektrumu .....	102
Şekil 4-40. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin 366 nm'deki spektrumu .....	102
Şekil 4-41. <i>C. peshmenii</i> meyve ekstresinin 336 nm'deki spektrumu .....	104
Şekil 4-42. <i>C. peshmenii</i> meyve ekstresinin 366 nm'deki spektrumu .....	104
Şekil 4-43. <i>C. christensenii</i> yaprak ekstresinin 336 nm'deki spektrumu .....	106
Şekil 4-44. <i>C. christensenii</i> yaprak ekstresinin 366 nm'deki spektrumu .....	106
Şekil 4-45. <i>C. christensenii</i> meyve ekstresinin 336 nm'deki spektrumu .....	108
Şekil 4-46. <i>C. christensenii</i> meyve ekstresinin 366 nm'deki spektrumu .....	108
Şekil 4-47. <i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> yaprak ekstresinin 336 nm'deki spektrumu	110
Şekil 4-48. <i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> yaprak ekstresinin 366 nm'deki spektrumu .	110
Şekil 4-49. <i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> meyve ekstresinin 336 'nmdeki spektrumu	112
Şekil 4-50. <i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> meyve ekstresinin 366 nm'deki spektrumu	112
Şekil 4-51. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin MDA düzeyine etkisi .....	115
Şekil 4-52. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin MPO düzeyi üzerine etkisi .....	117
Şekil 4-53. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin TNF $\alpha$ salınımı üzerine etkisi.....	119
Şekil 4-54. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresinin IL-1 $\beta$ salınımı üzerine etkisi .....	121

Şekil 5-1. Ekstrelerin total flavonoit miktar tayini sonuçları.....	123
Şekil 5-2. <i>C. petrodavisii</i> yaprak ekstresinin fenolik bileşiklerinin içeriği .....	127
Şekil 5-3. <i>C. petrodavisii</i> meyve ekstresinin fenolik bileşiklerinin miktarları .....	127
Şekil 5-4. <i>C. peshmenii</i> yaprak ekstresindeki fenolik bileşiklerin miktarları .....	128
Şekil 5-5 . <i>C. peshmenii</i> meyve ekstresinin fenolik bileşiklerinin miktarları.....	128
Şekil 5-6 . <i>C. christensenii</i> yaprak ekstresinin fenolik bileşiklerinin miktarları .....	129
Şekil 5-7 . <i>C. christensenii</i> meyve ekstresinin fenolik bileşiklerinin içeriği .....	129
Şekil 5-8. <i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> yaprak ekstresinin fenolik bileşiklerinin miktarları.....	130
Şekil 5-9. <i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> meyve ekstresinin fenolik bileşiklerinin miktarları.....	131
Şekil 5-10. <i>Crataegus</i> ekstrelerinde HPLC ile saptanan fenolik bileşiklerin miktarları	133



**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

HPLC: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography)

NYHA: New York Heart Association

ELISA : Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

LPS: Lipopolisakkarit ( *Escherichia coli*)

PSA: Antibiyotik Antimikotik Solüsyon (Penisilin, Streptomisin, Amfoterisin)

TNF- $\alpha$  : Tümör nükleozis faktör-alfa

MPO: Myeloperoksidaz

MDA: Malondialdehit

IL-1  $\beta$ : İnterlökin 1-beta

KlAs : Klorojenik asit

KfAs : Kafeik asit

Vit4OG : Viteksin-4"-O-glikozit

Vit2OR : Viteksin-2"-O-ramnozid

VİT : Viteksin

RUT : Rutin

HİP : Hiperozit

İZOQ : İzokersetin

Kemp3G : Kempferol 3-glikozit

KRSTRN : Kersitrin

APG7G : Apigenin 7-glikozit

SP : Siperozit

LUT : Luteolin

KER : Kersetin

APG : Apigenin

KEMP : Kempferol

## ÖZET

ANIL,S. (2016). *Crataegus petrodavisii* Dönmez., *Crataegus peshmenii* Dönmez. ve *Crataegus christensenii* Dönmez. Türleri Üzerinde Farmakognozok Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Kardiyovasküler sistem rahatsızlıklarında kullanılan ve “alıç ve yemişen” adı ile bilinen *Crataegus* cinsinin, ülkemizde yetişen türleri en son yapılan revizyonlarla beraber 30 takson, 26 tür altında toplanmış olup, bu taksonlardan 10’u endemik olarak kabul edilmiştir. Çeşitli monograflarda tıbbi tür olarak kabul edilen türlerden; *Crataegus monogyna* Jacq., *C. laevigata* (Poir.)DC. *C. pentagyna* Waldst&Willd *C. nigra* Waldst&Kit. türlerinin çiçekleri, yaprakları, çiçekli yaprakları ve olgunlaşmamış meyveleri drog olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Kimyasal içerik açısından değerlendirildiğinde; fenolik bileşiklerce zengin olan *Crataegus* türlerinin yapılmış farmakolojik çalışmalarında; hafif ve kronik kalp yetmezliklerinde , ateroskleroz ve anjina pectoris tedavisinde miyokard yetmezliğinde , antianjiöz durumlarda ve hafif bradikardiler ve hipertansiyonda etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca antimikrobiyal, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral etkilere sahip olduğu bir çok çalışma ile ortaya konmuştur.

Bu çalışma ile endemik türlerden *Crataegus peshmenii* Dönmez, *Crataegus petrodavisii* Dönmez ve *Crataegus christensenii* Dönmez türlerinin flavonoit miktar tayinleri yapılmış, yaprak ve olgunlaşmamış meyvelerinin kimyasal içeriği HPLC ile belirlenmiş ve tıbbi tür olan *Crataegus monogyna* Jacq. subsp. *monogyna* türünün yaprak ve olgunlaşmamış meyve ekstraktlarının kimyasal içeriği ile karşılaştırmaları yapılmıştır. Alınan sonuçlar değerlendirilmiş, total flavonoit miktarı en yüksek olduğu tespit edilen *C. peshmenii* türünün yaprak ekstresinin, izole sıçan aortası üzerinde, *in vitro* antiinflamatuvar ve antioksidan etkisi araştırılmıştır. Bu etki bize çalışılan *C. peshmenii* türünün olumlu kardiyovasküler aktivitesi olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler : *Crataegus*, Farmakognozi, HPLC, Antioksidan aktivite, Antiinflamatuvar aktivite

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39214

## ABSTRACT

Anıl, S. (2016). Pharmacognostical Studies on *Crataegus petrodavisii* Dönmez *Crataegus peshmenii* Dönmez and *Crataegus christensenii* Dönmez .

Istanbul University , Institute of Health Science Department of Pharmacognosy PhD Thesis. Istanbul.

*Crataegus* species which used in diseases of the cardiovascular system, are known as “alıç , yemişen” and according to last revision about to *Crataegus* species in growing Turkey, including 10 endemic, 26 species are represented in Turkey. *Crataegus monogyna* which medicinal type, leaves, flowers and immature fruits are used extensively as a drug in phytotherapy. There are a lot of chemical study on *Crataegus* species. In pharmacological studies carried out *Crataegus* species, in mild or chronic heart failure, atherosclerosis, angina pectoris treating myocardial dysfunction, mild bradyarrhythmias and hypertension has been observed to be effective. In addition, numerous studies conducted on the antimicrobial, antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, antiviral, etc.. were found to have effects.

In our study, *Crataegus petrodavisii* Dönmez *Crataegus peshmenii* Dönmez and *Crataegus christensenii* Dönmez which species are endemic in Turkey, were studied. Extracts of leaves and immature fruits of species of chemical content was illuminated using with high performance liquid chromatography (HPLC) compared with reference molecules and chemical content of *Crataegus monogyna* Jacq. subsp. *monogyna* which is accepted medical type of *Crataegus*. Result from study of HPLC and total flavonoid content was evaluated and leaves extract of *C. peshmenii* was determined as chemical richest extract . Leaves extract of *C. peshmenii* was worked *in vitro* with rats which isolated aorta for investigation of antiinflammatory and antioxidant activity of this *Crataegus* extract. This effect of *Crataegus* species was provide preliminary information about cardiovascular activity.

Key Words: *Crataegus* (L.), Pharmacognosy, HPLC, Antioxidant activity, Antiinflammatory activity

The present work was supported by the Research Found of Istanbul University. Project No. 39214

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalp ve damar hastalıklarının, küresel ölçekte başta gelen ölüm sebebi olup, uzun bir süre daha bir numaralı ölüm sebebi olmaya devam edeceği tahmin edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2005 yılında 17,5 milyon insanın kalp ve damar hastalıkları sebebiyle öldüğü ve bu sayının küresel ölümlerin %30'unu teşkil ettiği bilinmektedir. Türkiye'de 2004 yılındaki verilere göre ulusal düzeyde ölüm nedenleri arasında ilk sırayı 205.457 ölümlle kardiyovasküler hastalıklar (tüm ölüm nedenlerinin %47,73'ü) almaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar grubunda iskemik kalp hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar, romatizmal kalp hastalıkları, inflamatuvar ve hipertansif kalp hastalıkları yer almaktadır [1].

Günümüzde kalp hastalıklarından korunma ve bu hastalıkların tedavisinde öncelikle *Crataegus* ekstreleri içeren fitoterapötik ilaçlardan destek alınmaktadır.

Ondokuzuncu yy.'dan itibaren tüm dünyada halk arasında kardiyovasküler sistem rahatsızlıklarında tedavi amacıyla kullanılan *Crataegus* türleri ülkemizde de geniş bir yayılış göstermektedir ve bu türler genel olarak, alıç, yemişen isimleri ile bilinirler. Türkiye florasına göre 7'si endemik olmak üzere 21 tür ile temsil edilen *Crataegus* türlerinin üzerine yapılan son revizyonlarda bu sayı 10 endemik olmak üzere 26 türe çıkmıştır [2, 3]. *Crataegus* türlerinin çiçekleri, yaprakları, çiçekli yaprakları ve olgunlaşmamış meyveleri drog olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır [4, 5]. Ülkemizde tıbbi olarak kullanımı hala mevcut değilse de dünyada, yaygın olarak kullanımı olan ve tıbbi tür olarak kabul edilmiş türlerden *Crataegus monogyna*, *Crataegus laevigata*, *Crataegus pinnatifida* türlerinden hazırlanmış, bir çok preperat bulunmaktadır. Bu preperatlara ek olarak bu türlere ait droglar kardiyovasküler sistem rahatsızlıklarının tedavisine yardımcı olması maksadıyla tıbbi çay formülasyonlarına da girmektedir [5]. Kimyasal içerik açısından çok zengin olan *Crataegus* türlerinde genel olarak flavonoit bileşikler, oligomer prosiyanidinler, kardiyotonik aminler, fenolik asitler vb. bileşikler yer almaktadır [6–9]. Yapılan farmakolojik çalışmalarda, bu türlerin pozitif inotropik ve negatif kronotropik etki gösterdiği, koroner kan akımını arttırdığı, miyokardiyal dolaşıma pozitif yönde etki gösterdiği, periferik vazodilatasyon ve diüretik etki sonucu hipotansif etkinlik gösterdiği, negatif batmotropik (Kas ve sinir uyarılabilirliğini azaltıcı etki, antiaritmik) ve hipolipidemik etki gösterdiği, iskemi

reperfüzyon indüklü hasardan koruduğu, antiinflamatuvar ve antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır [4, 10–12]. Tespit edilen bu etkiler doğrultusunda *Crataegus* türlerinin, hafif ve kronik kalp yetmezliklerinde (NYHA I ve II), ateroskleroz ve anjina pectoris tedavisinde, kimyasal kalp ilaçlarına karşıt hem miyokard yetmezliğinde hem de antianjiöz durumlarda ve hafif bradiaritmiler ve hipertansiyonda kullanıldığı kayıtlıdır [4,13]. Kardiyovasküler etkileri dışında *Crataegus* türlerinin antimikrobiyal, antibakteriyal, antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral gibi birçok etkiye sahip olduğu çeşitli çalışmalar ile ortaya konmuştur [12].

Tez çalışması kapsamında yapacağımız çalışmada ülkemizde Hakkari ve çevresinde yayılım gösteren daha önce üzerlerinde benzer çalışmalar yapılmamış ikisi endemik üç *Crataegus* türü; *C. peshmenii*, *C. petrodavisii* ve *C. christensenii* türlerinin yaprak ve olgunlaşmamış meyvelerinin kimyasal içeriği çeşitli referans maddeler ile yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi yardımıyla incelenecek, tıbbi tür olan *C. monogyna* subsp. *monogyna* türünün kimyasal içeriği ile de karşılaştırması yapılacaktır [14]. Araştırma sonucu elde ettiğimiz sonuçlar değerlendirilerek kimyasal içerik açısından en zengin olduğu tespit edilen ekstre örneği ile, sakrifiye edilerek torasik aortaları alınan sıçanlarda yapılacak *in vitro* çalışma kapsamında, ekstrenin antiinflamatuvar ve antioksidan etkisi ortaya konacaktır [15–17].

Amacımız ülkemizde ve tüm dünyada yaygın olarak kardiyovasküler etkisi nedeniyle kullanılan *Crataegus* türlerinden, daha önce üzerinde çalışma yapılmamış türler olan *C. peshmenii*, *C. petrodavisii* ve *C. christensenii* türlerinin kimyasal içeriğinin ortaya konulması ve farmakolojik değerlerinin saptanmasıdır. Öncelikle toplanan türlerin literatürlerde de yer aldığı gibi drog olarak kullanılması gereken kısımlarından olan yaprak ve olgunlaşmamış meyvelerden elde edilen ekstrelerinin, HPLC çalışması ile kimyasal içerikleri aydınlatılacak ve flavonoit miktarı açısından en zengin türe ait ekstrenin *in vitro* damar yüzeyindeki antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitelerine bakılarak kardiyovasküler değeri ortaya konulacaktır.

Gerçekleştirilecek olan bu ortak ve sıralı farmakognozok ve farmakolojik çalışmalar ile kapsamlı olarak daha önce üzerinde çalışma yapılmamış bu türlerin ülkemiz için öneminin ortaya konulması hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Crataegus* Türleri

#### 2.1.1. Botanik Bölüm

##### 2.1.1.1. Rosaceae Familyası

Bazen dikenli, otsu veya odunlu bitkilerdir. Yapraklar alternan, genellikle stipulalı, basit veya parçalı, genellikle dişli kenarlıdır. Çiçek durumu çok çeşitli şekillerde; ağaç ve çalıların dallarındaki kısa sürgünler üzerinde yer alır. Çiçekler erdişi veya tek eşeyli, aktinomorf, perigin veya epigin. Sepaller 4-5, serbest; epikaliks mevcut veya eksik. Petaller 4-5, serbest, mevcut veya eksiktir. Stamenler tek veya çok adette olabilir. Ovaryum tek veya çok karpelli; üst durumludan alt durumluya kadar değişen şekillerde olabilir. Meyve etli bir reseptakulum tarafından korunmuş ve ona kaynaşmış, 1-5 karpelli bazen sinkarp ovaryumlu bir yalancı meyve veya drupa, aken, nuks ya da folikül şeklindedir. Çoğunlukla agregat meyvedir. Tohumlarda endosperma yoktur, besin maddeleri kotiledonlarda toplanmıştır [3].

Rosaceae çok geniş bir familya olduğundan 4 alt familyaya ayrılarak incelenir [3,18].

Ginekeum apokarp **1.Spiraeoideae:** Karpel sayısı 5; meyva folikül

**2.Rosoideae:** Karpel sayısı az ya da çok; meyva nuks veya drupa

Ginekeum sinkarp **3. Pomoideae:** Ovaryum 2-5 karpelden meydana gelir, reseptakulum içine gömülü, reseptakulum etlenmiş, meyve elmamsı

-Pomoideae; *Crataegus* cinsinin yer aldığı alt familyadır.

**4. Prunoideae:** Ovaryum 1 tane, tek karpelli; reseptakulumun tabanında serbest. Reseptakulum yassı veya çukur; meyve drupa

##### 2.1.1.2. *Crataegus* L. Cinsi

Türkiye’de alıç, yemişen, geyik dikenli, kuş yemişi gibi isimler ile tanınan, kışın yaprağını döken ağaç ya da çalılarıdır. Genellikle dikenli bitkilerdir.

Yaprakları alternan, basit ya da pennatilobattan pennata kadar değişen şekillerde, yaprak kenarları tam veya serrattır. Çiçekler dallardaki kısa sürgünler üzerinde korimbuslar halindedir. Hipantiyum karpellerle birleşmiştir. Petaller beyaz veya pembemsi renkte olup genellikle kalıcı olan sepallerden daha uzundur. Stamenler 5’den

25'e kadar değişen sayıdadır. Karpel sayısı 1 ile 5 arası değişen sayıdadır. Karpeller en azından tabanda iç kenarlar boyunca birleşmiştir. Meyve sarı, kırmızı, koyu mor ya da siyah renkte, unumsu tanecikli görünümde bir drupadır. 1 ile 5 arasında değişen adette çok sert endokarp içerir [3].

*Crataegus* cinsinin yeryüzünde 200 kadar türü olduğu bilinmektedir. Bu türler Kuzey Yarımküre'nin ılıman bölgelerinde yayılış göstermektedir.

Ülkemizde *Crataegus* türleri Türkiye Florası'na göre, 21 takson 17 tür altında toplanmış olup bu taksonlardan 7 si endemik olarak kabul edilmiştir.[3] Yapılan en son revizyonlarda bu sayı 30 takson, 26 tür altında toplanmış olup, bu taksonlardan 9'u endemik olarak kabul edilmiştir. Tablo 2-1'de son yapılan çalışmalarla ülkemizde yetişen tüm *Crataegus* türlerinin son hali yer almaktadır [2,19,20].

**Tablo 2-1. Ülkemizde yetişen *Crataegus* türleri [2,19,20]**

Takson Adı	Tükçe adı	Endemizm
<i>Crataegus ambigua</i>		
<i>Crataegus azarolus</i>		
<i>C. azarolus</i> var. <i>azarolus</i>		
<i>C. azarolus</i> var. <i>pontica</i>		
<i>Crataegus caucasica</i>		
<i>Crataegus christensenii</i>		Endemik
<i>Crataegus heterophylloides</i>		Endemik
<i>Crataegus laevigata</i>		
<i>Crataegus longipes</i>		
<i>Crataegus meyeri</i>		
<i>Crataegus microphylla</i>		
<i>C. microphylla</i> subsp. <i>microphylla</i>		
<i>Crataegus monogyna</i>	yemişen	
<i>C. monogyna</i> var. <i>lasiocarpa</i>		
<i>C. monogyna</i> var. <i>monogyna</i>		

<i>Crataegus orientalis</i>	alıç	
<i>C. orientalis</i> subsp. <i>orientalis</i>	alıç	
<i>C. orientalis</i> subsp. <i>szovitsii</i>	koyun alıcı	
<i>Crataegus pentagyna</i>		
<i>Crataegus petrodavisii</i>		Endemik
<i>Crataegus peshmenii</i>	Peşmen alıcı	Endemik
<i>Crataegus pseudoazarolus</i>		
<i>Crataegus pseudoheterophylla</i>		
<i>C. pseudoheterophylla</i> subsp. <i>turcomanica</i>	öküzgötü	
<i>Crataegus rhipidophylla</i>		
<i>C. rhipidophylla</i> var. <i>kütahyensis</i>		Endemik
<i>C. rhipidophylla</i> var. <i>rhipidophylla</i>		
<i>C. tanacetifolia</i>	kotan alıcı	Endemik
<i>C. turcicus</i>	türk alıcı	Endemik
<i>C. x bornmuelleri</i>		Endemik
<i>C. x browicziana</i>		Endemik
<i>C. x lavellei</i>		
<i>C. x rubrinervis</i>		
<i>C. x sinaica</i>		
<i>C. x subsphaerica</i>		
<i>C. yaltirikii</i>		Endemik

### 2.1.1.3. *Crataegus monogyna* Jacq. subsp. *monogyna*

#### *Crataegus monogyna* Jacq.

10 m'ye kadar uzayabilen, çalimsı ya da küçük ağaçlar olup; dikenli, dikenleri 0.7-2 cm uzunluğundadır. Yapraklar ovat veya dış kısımlarına doğru obavattır, 5x4 cm



boyutunda olup, temel yapraklar kuneat veya subtrunkat. Yaprakların alt kısmı koyu yeşil, üst kısmı yeşil renkte olup, çıplak ya da hafif tüylü. Yaprakların bir çoğu lobludur, loblar 3-5(-7), derin parçalı, akut veya obtus, tam veya nadiren dentat, meyveli dalların alt yaprakları, az derin loblar taşıyabilir veya kaba dentat şeklindedir, petioller 3 cm'ye kadar ulaşabilir. Çiçek durumu gevşek, 10-18 çiçek taşır; çiçekler beyaz veya açık pembe, 8-15 mm çapında; sepaler üçgenimsi, meyveye dönerken dışa doğru kıvrılır. Meyveler kırmızı veya kahverengi kırmızı renkte olabilir, küremsi veya oval, 6-10 mm çapında, çıplak [3].

-Dallar, yapraklar ve çiçek tablası tüysüz veya seyrek tüylü

subsp. *monogyna*

-Dallar, yapraklar veya çiçek tablasının kısa yumuşak tüylü

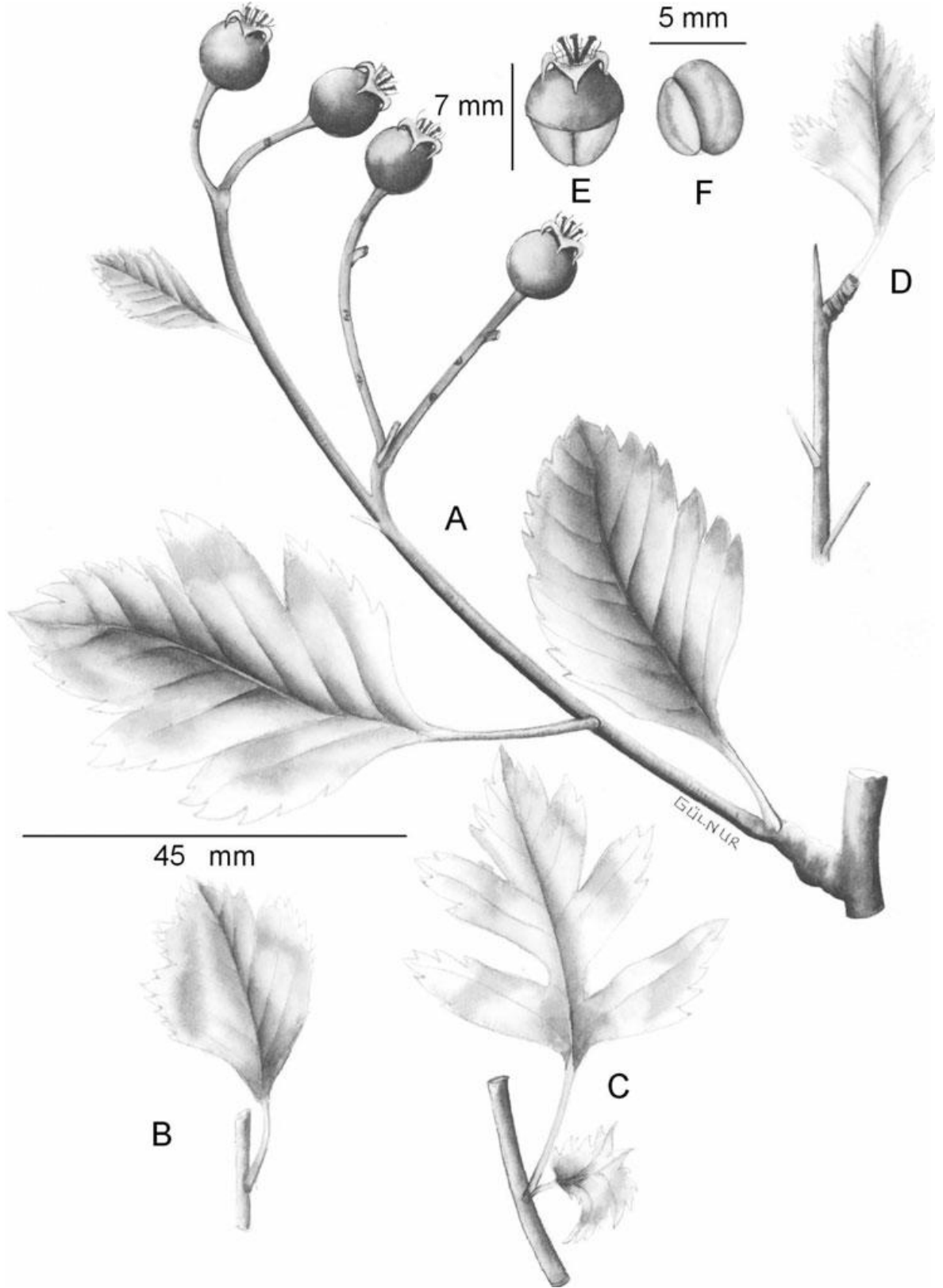
subsp. *lasiocarpa*

#### **2.1.1.4. *Crataegus peshmenii* Dönmez**

Boyu 5 m'ye kadar çıkabilen, dikensiz nadiren dikenli olabilen küçük ağaçlardır. Dallar tüylüden seyrek tüylüye kadar değişebilir. Tomucuklar 1.5-2 mm çapındadır. Yaprakların üst kısmı kısmen derimsi kısmen parlak, tüylüdür, kenarları kısmen uzun parçalıdır. Petiol tabana doğru kuneattan geniş kuneata doğru, basit ya da 2-3 loblu. Çiçekli filizlerde yer alan yapraklar belli belirsiz 2-3 loblu, basit yaprakların kenarları tepeye doğru 2-3 loblu, basal yapraklar 7-10 loblu, serrat veya biserrat dişlidir. Çiçek durumları 10-15 çiçekli korimboz olup, gevşek yapıda, tüylüdür, pediseller (3-)5-7(-10) mm. Çiçekler 15-18 mm çapında, hipantiyum 3-4 x 4-5 mm. Sepaller, alt kısmına doğru geniş üçgenimsi, tepesi kısa sivri. Petaller 6-7 mm çapında. Stamenler 18-20. Stilluslar (2-) 3-4 (-5) adet. Meyveler 6-8 mm çapında, küre şeklinde, soluk turuncudan açık kırmızıya çalan renkte, pirenler 5-6 x 4-5 mm, (2-) 3-4(-5) adet [20].



Şekil 2-1. *Crataegus peshmenii* Dönmez (AAD 18774)



Şekil 2-2. *Crataegus peshmenii* Dönmez [20]

### **2.1.1.5. *Crataegus petrodavisii* Dönmez**

Boyu 7 m'ye ulaşabilen ağaç ya da çalimsı bitkilerdir. Nadiren dikenli, dikenleri yaklaşık 40 mm uzunluğunda olup, kısa dallarda yer almaktadır. Genç filizler tüylü olup, meyveye döndüklerinde tüyler dökülür. Tomurcuklar 1.5-2.5 mm uzunluğunda, 1.5-2.5 mm çapında. Yaprakların üst kısmı tüylü, mat ya da parlak yeşil, alt kısmı derimsidir. Yaprak tabanı kuneat, nadiren trunkat, loblar obtus, nadiren akut, bazı durumlarda kenarlar serrat olabilmektedir. Çiçekli dallarda yer alan orta yapraklar, loblar 2-3 parçalı, esas lob yaprağın ortasından biraz daha alt kısmında yer alır ve diğer loblara nazaran daha büyüktür, her lobda ortalama 4-5 diş yer alır, petiolleri 20-25 mm, stipulalar kadar tam veya düzensiz serrat yapıda. Kısa dallarda yer alan orta büyüklükteki yapraklar, loblar 2-3 parçalı, ana lob yaprağın yarısının altından başlar, diğer loblara nazaran 1- 1.5 kat daha büyüktür. Her lobda ortalama 6-10 diş yer alır, petiol 18- 30 mm , stipulalar tamdır. Uzun dallarda yer alan yapraklar, loblar 2-3 parçalı, esas lob diğerlerine nazaran 1.5 -2 kat daha büyük olur, her lobda 8-12 diş yer alır., petiol 25-35 mm, stipulalar 5-10 diş taşır. Çiçek durumları yoğun korimboz olup (10-) 25-35 çiçek taşır, villoz olup meyveye doğru seyrekleşir, pedisel 7-12 mm, brakteler, düşüçüdür, linear veya lanseolattır, tam olabildiği gibi 1-4 diş taşıyabilir. Çiçekler 14-17 mm çapında, sepaller 1,5-2 mm çapında, oblong ya da geniş üçgen şeklinde olabilmektedir. Petaller 6-7 mm çapında, stamenler 20-26, anterler pembe, stiluslar (2-) 3-5 adet, tepesi seyrek tüylü. Meyveler 8-12 mm uzunluğunda, 9-13 mm genişliğindedir, koyu mor, siyaha yakın veya koyu kırmızı, suludur. Sepaller dik, pirenler (2-) 3-5 adet [19].



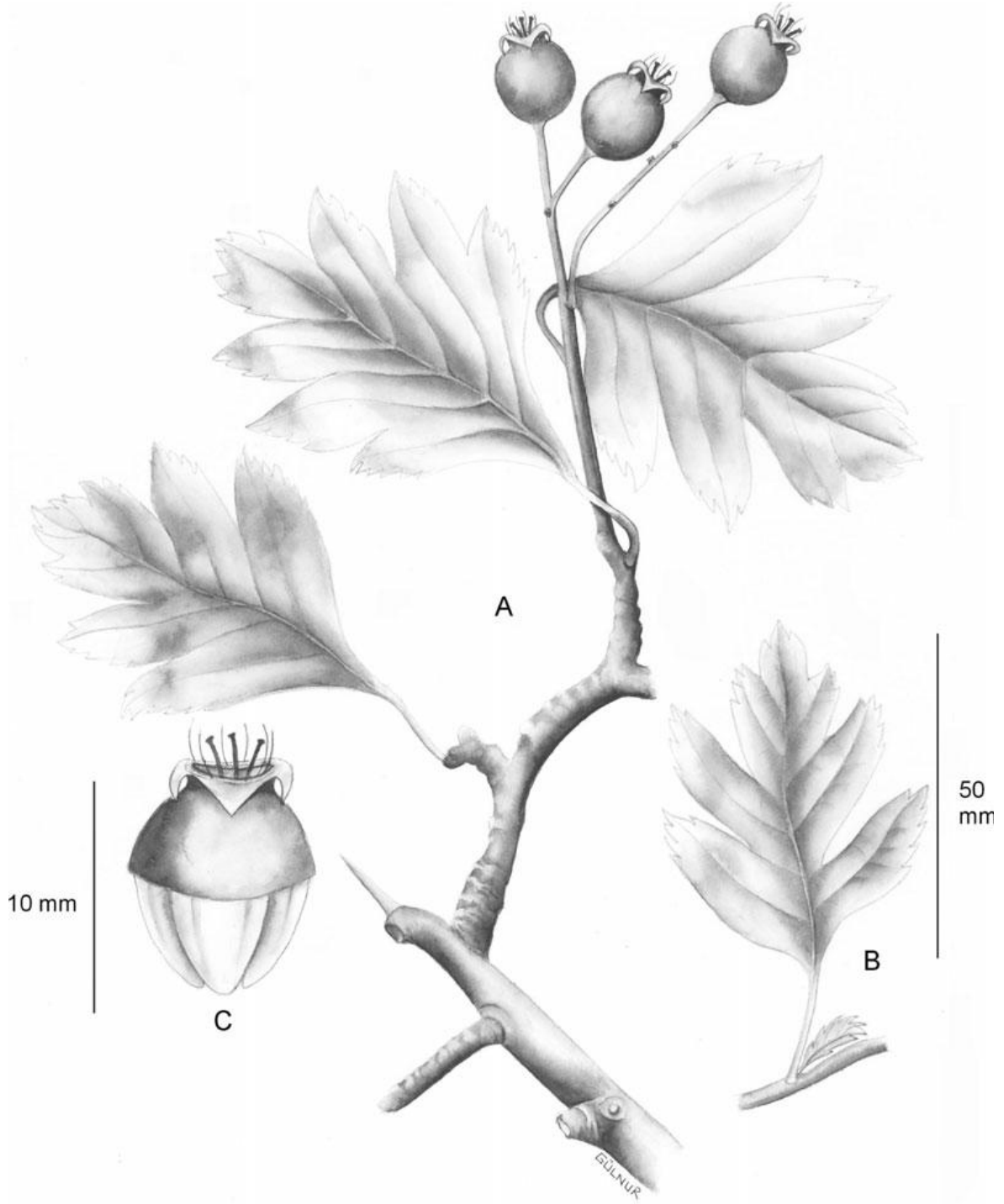
Şekil 2-3. *Crataegus petrodavisii* Dönmez (AAD 18791)

#### 2.1.1.6. *Crataegus christensenii* Dönmez

Boyları 7 m'ye kadar ulaşabilen ağaçlardır. Dallar az çok tüylüdür. Dikenli veya nadiren dikenlidir. Yapraklar hafif derimsi, üst kısım koyu yeşil, alt kısmı grimsi yeşildir, üst kısım parlak, alt kısım hafifçe tüylüdür. Yapraklar geniş cuneat olup, tepeye doğru küçük loblara ayrılır. Çiçekli dallarda yer alan yapraklar, 2-3 loblu, temel lob yaprağın yarısına kadar olup oblongdan kısa ovata doğru 6-10 diş taşır, diğer loblarda 6-10 serrat diş yer alır, ana lob yaprağa yaklaşık 45 ° lik açıyla yer alır. Petiol 15-22 mm. Stipula "D" şeklinde, tam veya 2-3 dişlidir. Yaşlı dallarda yer alan yapraklar, 2-3 (-4) loblu, bazen pinnatisekt, olup ana loblar genellikle dışa doğru, petiol 15-25 mm, stipula, "D" şeklinde, 8-10 dentat dişli. Çiçek durumları 30-40 mm çapında, yoğun korimboz, (10) 15-20 çiçekli, az çok tüylü, pediseller 2-4 mm; çiçekler 12-16 mm çapında, brakteler, tam veya 3-5 dişli ve düşüçüdür, sepaller geniş üçgen şeklinde, akut ve tam, petaller 5-7 mm çapında, stamenler 17-20, stiluslar 2-3, stigma geniş. Meyve 10-11 mm çapında, küremsi nadiren obovat, koyu kırmızı, çıplak, içi turuncu, sulu, sepaller meyve olgunlaştığında dışa doğru kıvrılır, pirenler 2-3 tane, geniş sulkat [20].



Şekil 2-4 *Crataegus christensenii* Dönmez (AAD 18766)



Şekil 2-5. *Crataegus christensenii* Dönmez [20]

## 2.1.2. Kimyasal Bölüm

### 2.1.2.1. Şeker ve şeker alkolleri

Şekerler bitkilerde yapraklarda üretilip, vakuollere ve meyvelere depolanmak üzere transfer edilir. *Crataegus* türlerinin meyvelerinde ise çoğunlukla fruktoz olmak üzere fruktoz, glukoz, sukroz ve ksiloz şeker türevidir. Sorbitol ve myo-inositol türevidir şeker alkolleri olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 2-2. *Crataegus* türlerinde bulunan şeker ve şeker alkolleri**

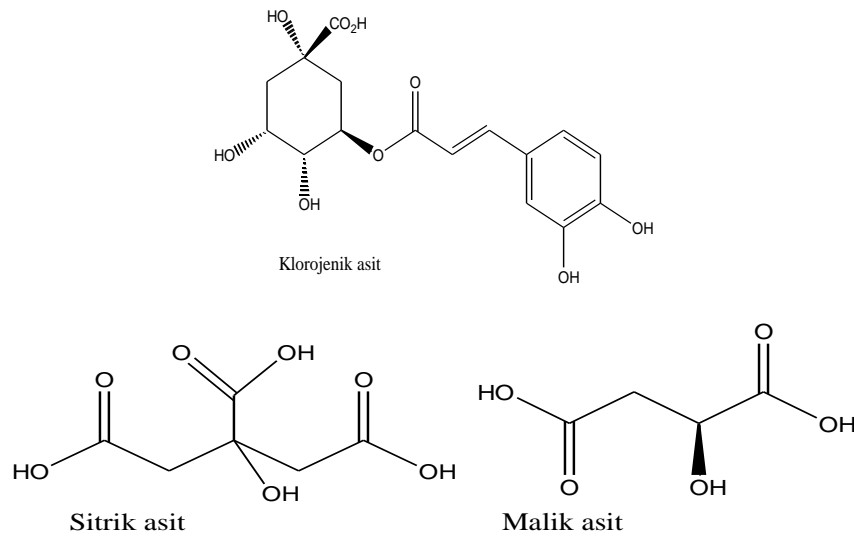
Bileşik	Türler	Referanslar
Fruktoz	<i>C. aestivalis</i>	[21]
	<i>C. azarolus</i>	[22]
	<i>C. bretschnideri</i>	[23]
	<i>C. germanica</i>	[24, 25]
	<i>C. opaca</i>	[21]
	<i>C. pinnatifida</i>	[23]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[23]
	<i>C. rufula</i>	[21]
	<i>C. scabrifolia</i>	[23]
Glukoz	<i>C. aestivalis</i>	[21]
	<i>C. azarolus</i>	[22]
	<i>C. bretschnideri</i>	[23]
	<i>C. germanica</i>	[24, 25]
	<i>C. opaca</i>	[21]
	<i>C. pinnatifida</i>	[23]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[23]
	<i>C. rufula</i>	[21]
	<i>C. scabrifolia</i>	[23]
Sukroz	<i>C. aestivalis</i>	[21]
	<i>C. azarolus</i>	[22]
	<i>C. germanica</i>	[24,25]
	<i>C. opaca</i>	[21]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[23]
	<i>C. rufula</i>	[21]
	<i>C. scabrifolia</i>	[23]
Sorbitol	<i>C. aestivalis</i>	[21]
	<i>C. azarolus</i>	[22]
	<i>C. bretschnideri</i>	[23]
	<i>C. opaca</i>	[21]
	<i>C. pinnatifida</i>	[23]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[23]
	<i>C. rufula</i>	[21]



	<i>C. scabrifolia</i>	[23]
Myo-inositol	<i>C. aestivalis</i>	[21]
	<i>C. bretschnneideri</i>	[23]
	<i>C. opaca</i>	[21]
	<i>C. pinnatifida</i>	[23]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[23]
	<i>C. rufula</i>	[21]
	<i>C. scabrifolia</i>	[23]
Ksiloz	<i>C. aestivalis</i>	[21]
	<i>C. opaca</i>	[21]
	<i>C. rufula</i>	[21]

### 2.1.2.2. Organik ve fenolik asitler

Malik, sitrik, süksinik, askorbik, tartarik, kinik, protokateşik, 3- ve 4-hidroksi benzoik, salisilik ve şiringik asit (Tablo 2-3) gibi organik asitler ile birlikte yağ asitleri *Crataegus* türlerinde yapılan çalışmalarda elde edilmiştir. Başta sitrik asit olmakla birlikte, malik ve kinik asit *Crataegus* türlerinde en sık rastlanılan organik asitler olmuştur. Malik ve sitrik asit bileşiklerinin bitkilerde primer metabolizması üzerinde etkili olduğu ve fosfor alımının mekanizmasında rol aldığı görülmüştür. Askorbik asit , klorojenik asit, tartarik asit ve protokateşik asit bileşiklerinin ise antioksidan olarak rol aldığı , bitkileri oksijen radikallerine karşı koruduğu görülmüştür. Organik asitlerin güçlü antioksidan etkilerinden dolayı oksidatif stresin neden olduğu kanser ve kardiovasküler rahatsızlıklar gibi hastalıkların önlenmesinde büyük önem taşıdığı yapılan çalışmalarda görülmüştür[10].



Şekil 2-6. *Crataegus* türlerinde yaygın bulunan asitler

### 2.1.2.3. Terpenler

Terpenik bileşikler bitkiler aleminde yer alan doğal bileşikler arasında en geniş sınıfa sahiptir. *Crataegus* türlerinde yapılan kimyasal çalışmalarda; *C. pinnatifida* ve *C. scabrifolia* türlerinde terpenik bileşiklerden oleanolik asit ve ursolik asit bileşikleri tespit edilmiştir. Bu tip triterpenik bileşiklerin hücre membranının stabilizasyonunda büyük önem taşıdığı görülmüştür [26]. Ayrıca ursolik asit ve oleanolik asit bileşiklerinin insanlar üzerinde gastropotektif, antiinflamatuvar ve hypoglisemik etkiye sahip olduğu görülmüştür [27]. Bunun dışında *Crataegus* türlerinden euscapik, korosolik asit ve kuneataol [9] gibi triterpenik bileşikler izole edilmiştir. Ayrıca Gao ve arkadaşlarının 2010 yılında yapmış olduğu çalışmada bir tanesi yeni olan 7 monoterpen glikozid bileşiği izole edilmiştir *C. pinnatifida*'nın yapraklarında yapmış oldukları bu çalışmada linarionosit A and B, 3b-glukopiranozilloksi-b-iyonon, ikarisit B6, pisumionozit, (3S,5R,6R,7E,9R)-3,6-epoksi-7-megastigmen-5,9-diol-9-O-b-D-glukopiranozit (6S,7E,9R)- roseozit (6S,7E,9R-vomifoliol-9-O-b-D-glukopiranozit), (6R,9R)-3-okso-9-O-b-D-glukopiranozit bileşiklerini izole etmişlerdir [28]. Song ve arkadaşlarının aynı tür üzerinde yapmış oldukları çalışmanın devamında (2011) (5Z)-6-[5-(2-hidroksipropan-2-il)- 2-methyltetrahidrofuran-2-il]-3-metiksilhekza-1, 5-dien-3-ol (35), (5Z)-6-[5-(2-O-b-D-glukopiranozil-propan-2-il)-2-metil tetrahidrofuran-2-il]-3-metilhekza-1,5-dien-3-ol, 5-etenil-2-[2-O-b-D-glukopiranozil-(1"→6')-b-D-glikopiranozil-propan-2-il]-5- metiltetrahidrofuran-2-ol, 4-[4b-O-b-D-ksilopiranozil-(1"→6')-b-D-glukopiranozil-2,6,6-trimetil-1-,siklohekzen-1-il]- butan-2-on, (Z)-3-hekzenil O-b-D-glukopiranozil- (1"→6')-b-D-glukopiranozit , (Z)-3-hekzenil O-b-D-ksilopiranozil- (1"→6') -b-D-glukopiranozit, (Z)-3-hekzenil O-b-Dramnopiranozil-(1"→6')-b-D-glukopiranozit, (3R,5S, 6S,7E,9S)-megastiman-7-en-3,5,6,9-tetrol, (3R,5S,6S,7E, 9S)-megastigman-7-en-3,5,6,9-tetrol 9-O-b-D-glukopiranozit, (6S,7E,9R)-6,9-dihidroksi-4,7-megastigmadien-3-on 9-O-[b-D-ksilopiranozil-(1"→6')-b-D-glukopiranozit], linarionozit C, ve (3S,9R)-3,9-dihidroksi-megastigman- 5-en 3-O-primeverozit monoterpen bileşikleri izole edilmiştir [29].

**Tablo 2-3. *Crataegus* türlerinde bulunan organik asit, fenolik asit ve terpenik bileşikler**

Bileşik	Tür	Referans
Süksinik asit	<i>C. azarolus</i>	[30,31]
	<i>C. azarolus</i> var. <i>aronia</i>	[30]
	<i>C. azarolus</i> var. <i>azarolus</i>	[30]
	<i>C. monogyna</i>	[30]
	<i>C. pinnatifida</i>	[32]
Sinapik asit	<i>C. monogyna</i>	[33]
Ferulik asit	<i>C. azarolus</i> var. <i>aronia</i>	[30]
	<i>C. azarolus</i> var. <i>azarolus</i>	[30]
	<i>C. bretschnideri</i>	[34]
	<i>C. cuneata</i>	[35]
	<i>C. laevigata</i>	[36]
	<i>C. monogyna</i>	[33, 35, 37,38]
	<i>C. pinnatifida</i>	[34,39,40]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[34,35,41]
	<i>C. scabrifolia</i>	[34, 35]
Sitrik asit	<i>C. aestivalis</i>	[21]
	<i>C. azarolus</i>	[22]
	<i>C. bretschnideri</i>	[23]
	<i>C. cuneata</i>	[42]
	<i>C. hupehensis</i>	[42]
	<i>C. kansuensis</i>	[42]
	<i>C. maximowiczii</i>	[42]
	<i>C. opaca</i>	[21]
	<i>C. pinnatifida</i>	[23, 42]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[21,23,42]
	<i>C. rufula</i>	[42]
	<i>C. sanguinea</i>	[23,42]
		<i>C. scabrifolia</i>
Verbaskozit	<i>C. pinnatifida</i>	[28]
Malik asit	<i>C. aestivalis</i>	[21]
	<i>C. azarolus</i>	[22]
	<i>C. bretschnideri</i>	[23]
	<i>C. cuneata</i>	[42]
	<i>C. hupehensis</i>	[42]
	<i>C. kansuensis</i>	[42]
	<i>C. maximowiczii</i>	[42]
	<i>C. opaca</i>	[21]
	<i>C. pinnatifida</i>	[23,42]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[23,42]
	<i>C. rufula</i>	[21]
	<i>C. sanguinea</i>	[42]
	<i>C. scabrifolia</i>	[23, 42]

---

Protokateşik asit	<i>C.pinnatifida</i>	[39]
Kinik asit	<i>C. aestivalis</i>	[21]
	<i>C. azorolus</i>	[22]
	<i>C. bretttschneideri</i>	[23]
	<i>C. opaca</i>	[21]
	<i>C. pinnatifida</i>	[23]
	<i>C. pinnatifida var. major</i>	[23]
	<i>C. rufula</i>	[21]
	<i>C. scabrifolia</i>	[23]
Klorojenik asit	<i>C. pinnatifida</i>	[43]
	<i>C. pinnatifida var. major</i>	[14,44,45]
	<i>C. monogyna</i>	[46]
	<i>C. atrosanguinea,</i>	[47]
	<i>C. pentagyna,</i>	
	<i>C. meyeri,</i>	
	<i>C. pseudoheterophylla</i>	
Askorbik asit	<i>C. cuneata</i>	[42]
	<i>C. hupehensis</i>	[42]
	<i>C. kansuensis</i>	[42]
	<i>C. maximowiczii</i>	[42]
	<i>C. pinnatifida</i>	[42]
	<i>C. pinnatifida var. major</i>	[42]
	<i>C. sanguinea</i>	[42]
	<i>C. scabrifolia</i>	[42]
	Tartarik asit	<i>C. cuneata</i>
<i>C. hupehensis</i>		[42]
<i>C. kansuensis</i>		[42]
<i>C. maximowiczii</i>		[42]
<i>C. pinnatifida</i>		[42]
<i>C. pinnatifida var. major</i>		[42]
<i>C. sanguinea</i>		[42]
<i>C. scabrifolia</i>		[42]
Ursolik asit	<i>C. pinnatifida var major</i>	[41]
	<i>C. scabrifolia</i>	[48]
Oleanolik asit	<i>C. pinnatifida var. major</i>	[41]

---

#### 2.1.2.4. Uçucu yağ

Koveleva ve arkadaşlarının üç *Crataegus* türü olan *C. jackii*, *C. flabellata* ve *C. robesoniana* türü çiçeklerinden elde edilen uçucu yağlarında GC-MS kullanarak yapmış oldukları analizde içerisinde monoterpenoid, seskiterpenoid, norterpenoid ve

triterpenlerin bulunduğu 46 bileşik tespit edilmiş, bunun 19'unun her üç türde de bulunduğu görülmüştür [49].

### 2.1.2.5. Polifenolikler

#### Hidrosinamik asitler

Hidrosinamik asitler; sinamik asit türevi bileşiklerdir. Hidrosinamik asitlerin bitkiler alemindeki yaygınlığı düşünüldüğünde, sadece birkaç hidrosinamik asit türevi *Crataegus* türlerinde yer alır. Bunlardan kumarik asit, kafeik asit, sinapik asit, klorojenik asit, ve ferulik asit'in *Crataegus* türlerinde varlığı yapılan çalışmalarda görülmüştür. Bu bileşiklerin özellikle bitkide serbest radikal oluşumunu engellediği bilinmektedir [10].

#### Lignanlar

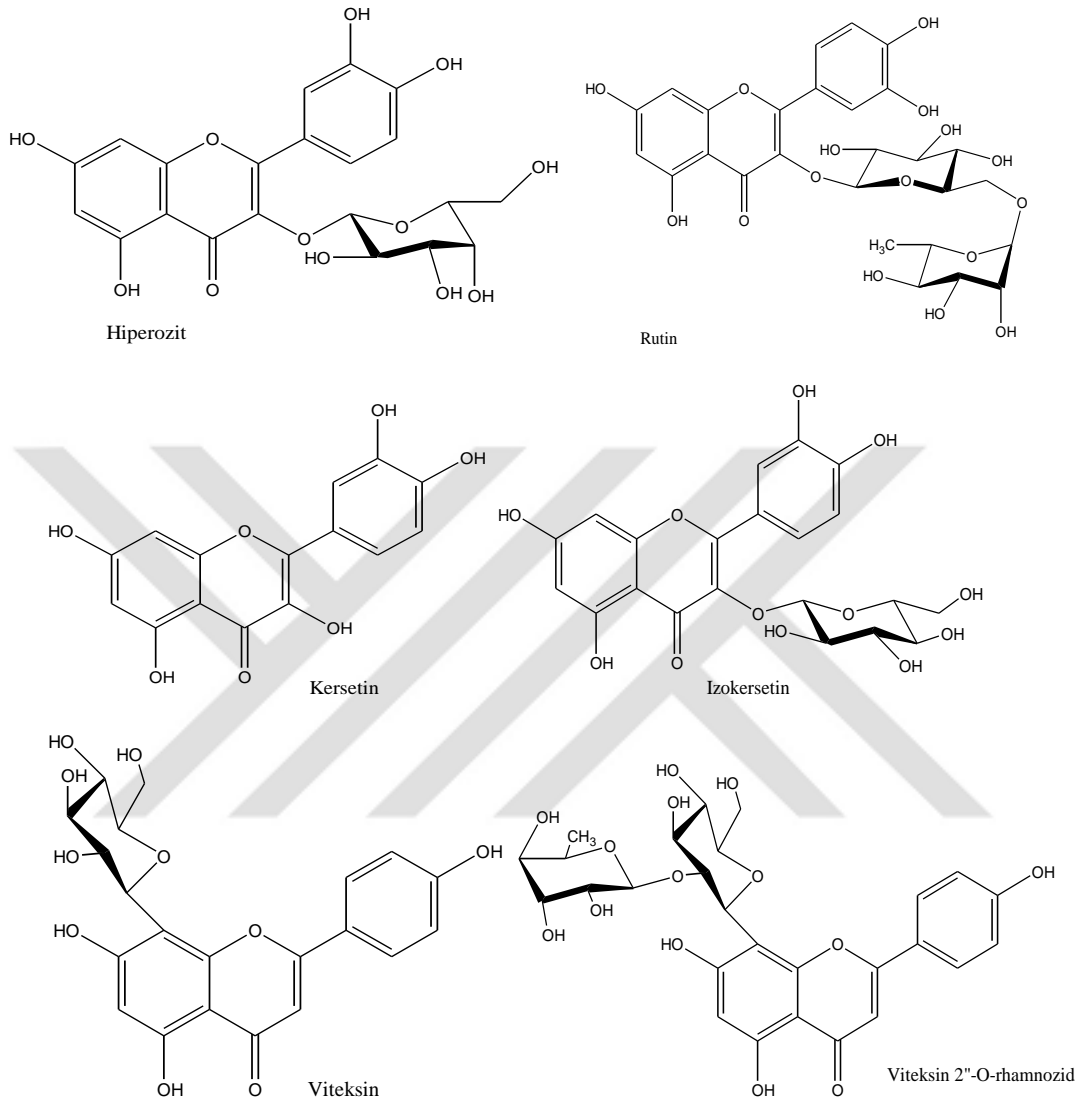
Lignan türevi bileşikler; zayıf östrojenik aktivite gösteren fitoöstrojenik bileşikler olarak tanımlanırlar. Bu nedenle, kardiyovasküler rahatsızlıklara, osteoporoza ve hormon bağımlı kanserlere karşı koruyucu etkiye sahip olduğu çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur [50–54]. *Crataegus* cinsinde bulunabilecek lignan bileşikleri üzerine yapılmış çalışmalara bakıldığında Gao ve arkadaşlarının (2010) *C. pinnatifida* türünün yapraklarında yaptığı çalışmada yedi lignan glikoziti; verbaskozit, ((-)-2 $\alpha$ -O-( $\beta$ -D-glukopiranozil)-lioniresinol, tortozit A, eritro-1-(4-O- $\beta$ -D-glukopiranozil)-3-metoksifenil)-2-[4-(3-hidroksipropil)-2,6-dimetoksi fenoksil]-1,3-propanediol, (7S,8R)-urolignozit, (7S,8R)-5metoksidihidrodehidrodikoniferil alkol-4-O- $\beta$ -D-glukopiranozit ve asernikol-4"-O- $\beta$ -D-glukopiranozit izole edilmiştir [28].

### 2.1.2.6. Flavonoidler

Bitkiler aleminde yaygın bir şekilde bulunan flavonoidler, antimikrobiyal, antikor üretiminin stimülasyonu, hipotansif etki, antiinflamatuvar ve güçlü antioksidan etkiye bağlı antikanser gibi etkilerde rol oynamaktadırlar.

*Crataegus* türleri flavonoidlerce oldukça zengin türlerdir. Özellikle flavonol-O glikozitlerinden Kersetin-3-O-galaktozit (Hiperozit), Flavon-C-glikozitlerinden Viteksin ve türevi bileşikler *Crataegus* türlerinde en sık rastlanılan flavonoid bileşiklerdir. *Crataegus* türlerinde flavonoidlerin tayini ve izolasyonu üzerinde çok sayıda fitokimyasal

çalışma yapılmıştır. Yapılan kimyasal çalışmalarda bulunan flavonoit bileşikleri Tablo 2.4, 2.5 ve 2.6 da tablolar halinde verilmiştir.



Şekil 2-7. *Crataegus* türlerinde yaygın olarak bulunan flavonoit türevi bileşikler

Tablo 2-4. *Crataegus* türlerinde yer alan Apigenin ve türevi flavonoidler

Bileşik	Tür	Referans
Apigenin	<i>C. stevenii</i>	[7]
	<i>C. orientalis</i>	[6]
	<i>C. microphylla</i>	[8]
	<i>C. tanacetifolia</i>	[55]
Apigenin 7 glikozit	<i>C. stevenii</i>	[7]
	<i>C. orientalis</i>	[6]
	<i>C. tanacetifolia</i>	[55]
Naringenin	<i>C. microphylla</i>	[8]
Viteksin	<i>C. stevenii</i>	[7]
	<i>C. orientalis</i>	[6]
	<i>C. cuneata</i>	[35]
	<i>C. hupehensis</i>	[42]
	<i>C. kasusuensis</i>	[42]
	<i>C. laevigata</i>	[56]
	<i>C. maximowiczii</i>	[42]
	<i>C. microphylla</i>	[8]
	<i>C. monogyna</i>	[35,57–59]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
	<i>C. pinnatifida</i>	[40,42,60]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[35, 42, 48]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>psilosa</i>	[42]
	<i>C. rhipidophylla</i> var. <i>rhipidophylla</i>	[61,62]
	<i>C. sanguinea</i>	[42]
	<i>C. scabrifolia</i>	[35, 42, 48]
	<i>C. macrocarpa</i>	[61]
<i>C. tanacetifolia</i>	[55]	
Viteksin 2"O-ramnozid	<i>C. tanacetifolia</i>	[55]
	<i>C. microphylla</i>	[8]
	<i>C. stevenii</i>	[7]
	<i>C. aronia</i> var. <i>aronia</i>	[62]
	<i>C. cuneata</i>	[35]
	<i>C. laevigata</i>	[56],[61]
	<i>C. monogyna</i>	[35, 38, 57–59, 63]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
	<i>C. pinnatifida</i>	[40], [63]–[65]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[35, 45]
	<i>C. pseudoheterophylla</i>	[62]
	<i>C. rhipidophylla</i> var. <i>rhipidophylla</i>	[61]
	<i>C. scabrifolia</i>	[35]
	<i>C. macrocarpa</i>	[61]
<i>C. petrodavisii</i>	[9]	

Viteksin-4"O ramnozit	<i>C. pinnatifida</i>	[64]
	<i>C. orientalis</i>	[6]
	<i>C. stevenii</i>	[7]
	<i>C. tanacetifolia</i>	[55]
	<i>C. petrodavisii</i>	[9]
Asetylviteksin-2"O ramnozit	<i>C. laevigata</i>	[56]
	<i>C. monogyna</i>	[57, 58]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
Viteksin 2"O-glikozit	<i>C. pinnatifida</i>	[64]
	<i>C. stevenii</i>	[7]
Viteksin -4"O-glikozit	<i>C. cuneata</i>	[35]
	<i>C. monogyna</i>	[35]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[45,35]
	<i>C. scabrifolia</i>	[35]
İzoviteksin	<i>C. laevigata</i>	[61]
	<i>C. monogyna</i>	[57]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
	<i>C. rhipidophylla</i> var. <i>rhipidophylla</i>	[61]
	<i>C. macrocarpa</i>	[61]
İzoviteksin ramnozit	<i>C. monogyna</i>	[57]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]

**Tablo 2-5. *Crataegus* türlerinde yer alan Kersetin türevi bileşikler**

<b>Bileşik</b>	<b>Tür</b>	<b>Referans</b>
Kersetin	<i>C. tanacetifolia</i>	[55]
	<i>C. orientalis</i>	[6]
	<i>C. stevenii</i>	[7]
	<i>C. davisii</i>	[9]
	<i>C. azarolus</i> var. <i>aronia</i>	[30]
	<i>C. azarolus</i> var. <i>azarolus</i>	[30]
	<i>C. cuneata</i>	[35]
	<i>C. microphylla</i>	[8]
	<i>C. monogyna</i>	[35, 38]
	<i>C. pinnatifida</i>	[39]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[35]
	<i>C. scabrifolia</i>	[35]



---

İzokersetin (İzokersitrin)	<i>C. azarolus</i> var. <i>aronia</i>	[30]
	<i>C. azarolus</i> var. <i>azarolus</i>	[30]
	<i>C. brettschneideri</i>	[66]
	<i>C. laevigata</i>	[57,62]
	<i>C. monogyna</i>	[57, 62]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
	<i>C. pinnatifida</i>	[39], [66]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[34, 41]
	<i>C. rhipidophylla</i> var. <i>rhipidophylla</i>	[61]
	<i>C. scabrifolia</i>	[66]
<i>C. macrocarpa</i>	[61]	
Hiperozit	<i>C. aronia</i> var. <i>aronia</i>	[62]
	<i>C. azarolus</i> var. <i>aronia</i>	[30]
	<i>C. azarolus</i> var. <i>azarolus</i>	[30]
	<i>C. brettschneideri</i>	[66]
	<i>C. cuneata</i>	[35, 42]
	<i>C. hupehensis</i>	[42]
	<i>C. kansuensis</i>	[42]
	<i>C. laevigata</i>	[57, 62]
	<i>C. maximowiczii</i>	[42]
	<i>C. microphylla</i>	[8]
	<i>C. monogyna</i>	[33,35,37,38,57–59,63]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
	<i>C. pinnatifida</i>	[35,40,42, 64,65,68,69]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[35,41,42,45,68]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>psilosa</i>	[42]
	<i>C. pseudoheterophylla</i>	[38]
	<i>C. rhipidophylla</i> var. <i>rhipidophylla</i>	[61]
	<i>C. sanguinea</i>	[42]
	<i>C. scabrifolia</i>	[35,42,48,68]
	<i>C. macrocarpa</i>	[61]
<i>C. tanacetifolia</i>	[55]	
<i>C. orientalis</i>	[6]	
<i>C. stevenii</i>	[7]	
<i>C. davisii</i>	[9]	
Rutin	<i>C. azarolus</i> var. <i>aronia</i>	[30]
	<i>C. azarolus</i> var. <i>azarolus</i>	[30]
	<i>C. cuneata</i>	[35,42]
	<i>C. hupehensis</i>	[42]
	<i>C. kansuensis</i>	[42]
	<i>C. laevigata</i>	[57,62]
	<i>C. maximowiczii</i>	[42]
	<i>C. monogyna</i>	[35,38,57,58]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
	<i>C. pinnatifida</i>	[14,40,42,65, 66,69]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[35,42]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>psilosa</i>	[42]

---

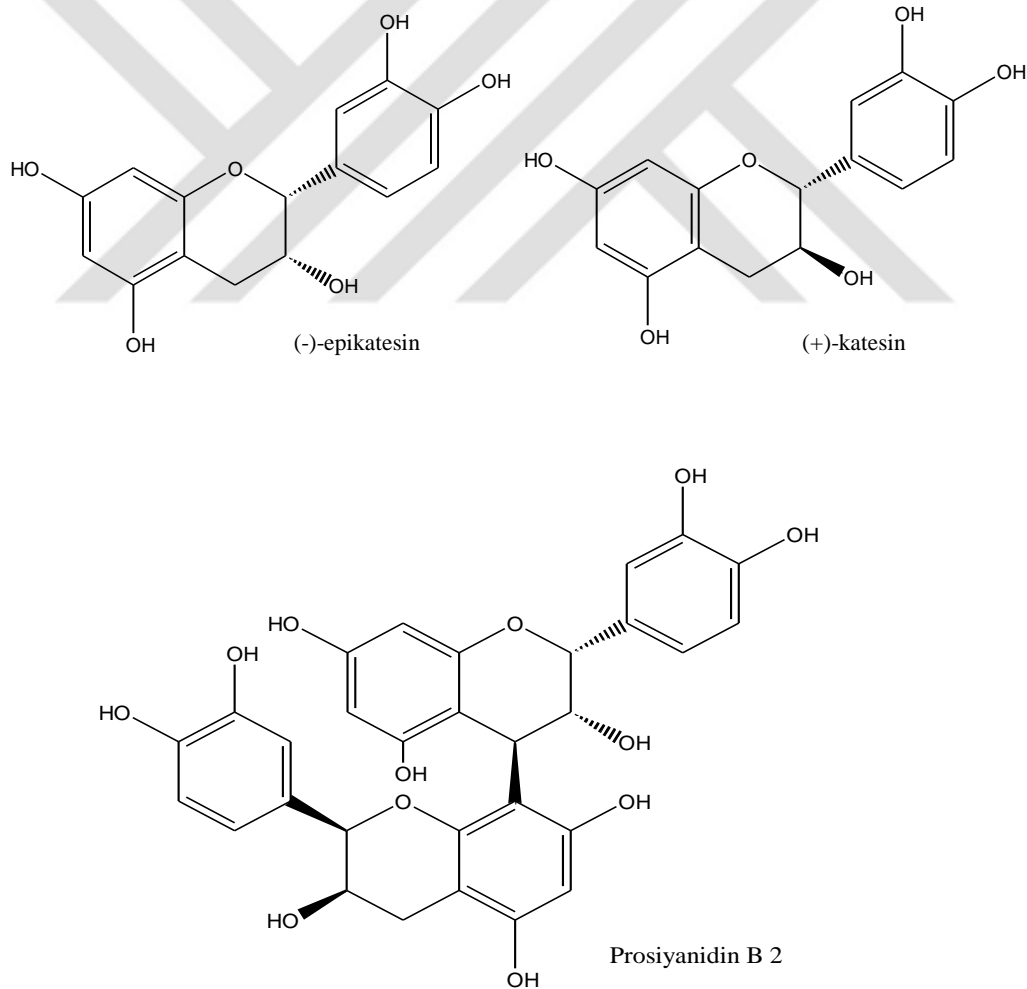
	<i>C. rhipidophylla</i> var. <i>rhipidophylla</i>	[61]
	<i>C. sanguinea</i>	[42]
	<i>C. scabrifolia</i>	[35, 42, 48]
	<i>C. tanacetifolia</i>	[55]
	<i>C. orientalis</i>	[6]
	<i>C. stevenii</i>	[7]
	<i>C. petrodavisii</i>	[9]
	<i>C. x macrocarpa</i>	[61]
Rutin-4"-O- ramnosit	<i>C. cuneata</i>	[35]
	<i>C. monogyna</i>	[35]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[35]
	<i>C. scabrifolia</i>	[35]
Spireozit	<i>C. azarolus</i> var. <i>azarolus</i>	[30]
	<i>C. azarolus</i> var. <i>aronia</i>	[30]
	<i>C. laevigata</i>	[56]
	<i>C. monogyna</i>	[56]
İdeain	<i>C. brettschneideri</i>	[34]
	<i>C. pinnatifida</i>	[34]
	<i>C. pinnatifida</i> var. <i>major</i>	[34]
	<i>C. scabrifolia</i>	[34]

**Tablo 2-6. *Crataegus* türlerinde yer alan Eriodiktiyol ve Kempferol türevi bileşikler**

Bileşik	Türler	Referans
Eriodiktiyol	<i>C. microphylla</i>	[8]
Hesperetin	<i>C. microphylla</i>	[8]
Luteolin	<i>C. microphylla</i>	[8]
Luteolin 7 glikozit	<i>C. microphylla</i>	[8]
Kempferol	<i>C. tanacetifolia</i>	[55]
Kempferol 3 galaktozit	<i>C. tanacetifolia</i>	[55]
Orientin	<i>C. monogyna</i>	[57]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
Orientin 2"O ramnozid	<i>C. monogyna</i>	[57]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
İzoorientin	<i>C. monogyna</i>	[57]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
İzoorientin 2"ramnozid	<i>C. monogyna</i>	[57]
	<i>C. pentagyna</i>	[57]
7 hidroksi aurenetin	<i>C. tanacetifolia</i>	[55]

*Crataegus* türlerinin çiçekleri özellikle flavanol glikozitlerince zengin, yapraklar flavonlarca (Viteksin ve türevleri) ve (-)-Epikateşin - (+)-Kateşin polimerlerince zengindir. Meyvelerde ise çiçeklerde bulunandan fazla olmak üzere hiperozit ve yapraklardan daha az viteksin ve türevlerine rastlanmaktadır.

Kondanse prosiyanidinler *Crataegus* türlerinin etkiden sorumlu aktif bileşenleri olarak büyük önem taşımaktadır. Prosiyanidinler; flavan-3-ol yapısında olan (-) epikateşin ve (+) kateşin'in polimer ve oligomer olarak kondensasyonundan oluşan bileşiklerdir. *Crataegus* türlerinde yaygın olarak bulunan prosiyanidinlerden özellikle B2, B4 ve B5 dimerleri, C1 trimeri, D1 tetrameri ve E1 pentameri karşımıza çıkmaktadır. Bununla birlikte yapılan fitokimyasal çalışmalarda bu tip prosiyanidinlere ek olarak daha bir çok prosiyanidin *Crataegus* türlerinden izole edilmiştir.



Şekil 2-8. *Crataegus* türlerinde yaygın olarak bulunan kateşin ve türevi prosiyanidin bileşikleri

**Tablo 2-7. *Crataegus* türlerinde bulunan kateşin ve türevi prosiyanidin bileşikleri**

Bileşik	Tür	Referans
(-) Epikateşin	<i>C. monogyna</i>	[38]
(+) Kateşin	<i>C. azarolus var aronia</i>	[30]
	<i>C. azarolus var. azarolus</i>	[30]
	<i>C. brettschneideri</i>	[34]
	<i>C. laevigata</i>	[68]
	<i>C. monogyna</i>	[33,37,38]
	<i>C. pinnatifida</i>	[34,40]
	<i>C. pinnatifida var. major</i>	[34,41]
	<i>C. scabrifolia</i>	[34]
	Prosiyanidin B2 dimer	<i>C. azarolus var aronia</i>
<i>C. azarolus var. azarolus</i>		[30]
<i>C. brettschneideri</i>		[34]
<i>C. laevigata</i>		[36]
<i>C. monogyna</i>		[37,38]
<i>C. pinnatifida</i>		[34]
<i>C. pinnatifida var. major</i>		[34,41,45]
<i>C. scabrifolia</i>		[34]
Prosiyanidin B4 dimer	<i>C. laevigata</i>	[36]
Prosiyanidin B5 dimer	<i>C. laevigata</i>	[36]
	<i>C. pinnatifida var. major</i>	[41,45]
Prosiyanidin C1 trimer	<i>C. laevigata</i>	[36]
	<i>C. pinnatifida var. major</i>	[41,45]
E(4 $\beta$ →6)-E(4 $\beta$ →8)	<i>C. laevigata</i>	[36]
E(4 $\beta$ →8)-E(4 $\beta$ →6)	<i>C. laevigata</i>	[36]
Prosiyanidin D1 tetramer	<i>C. laevigata</i>	[36]
Prosiyanidin E1 pentamer	<i>C. laevigata</i>	[36]

### 2.1.3. *Crataegus* Türlerinin Farmakolojik Etkileri

*Crataegus* türlerinin tedavide kullanılışları Ortaçağ döneminde başlamış ve bitki M.S.1300 yılında Petrus'da Crescentiis tarafından damla hastalığına karşı tavsiye edilmiştir. Fransa Kralı IV. Henry'e, doktorları tarafından yaşlılığa karşı *Crataegus* meyvelerinden hazırlanan bir şurup verildiği kayıtlıdır. 16. yüzyılın sonlarından ve 17. yüzyılın başlarına doğru sadece meyvelerinin astrenjan özelliği üzerinde durulmuş, olgun meyvelerin ve tohumların böbrek taşlarına iyi geldiği düşünülmüştür. 1800'lerin sonlarına geldiğimizde Avrupalı doktorlar, *Crataegus* türlerinin yaprak ve çiçeklerini

kalp hastalıkları ve diğer kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde klinik olarak denemeye başlamıştır. İlk olarak da İrlanda'lı Dr.Green tarafından 19.yüzyıl sonlarında *Crataegus* türleri çeşitli kalp rahatsızlıklarının tedavisinde ve dolaşımı düzenlemek için kalp toniği olarak başarıyla kullanılmıştır [69]

Günümüze geldiğimizde ülkemizde ve tüm dünyada *Crataegus* türlerinin *Crataegi flos* (Çiçekleri), *Crataegi folium* (Yaprakları), *Crataegi folium cum flores* (Çiçekli yaprakları), *Crataegi fructus* (Olgunlaşmamış meyveleri) drogları ve bu droglardan elde edilen bitkisel preparatların, cAMP-fosfodiesteraz aktivitesinin inhibisyonu, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPaz aktivitesinin inhibisyonu, tromboksan (TXA<sub>2</sub>) sentezinin inhibisyonu, prostaglandin sentezinin stimülasyonu, antioksidan aktiviteler, İnsan nötrofil elastazının inhibisyonu gibi etki mekanizmalarını kullanarak;

- Pozitif inotropik ve negatif kronotropik etki gösterir.
- Koroner kan akımını artırır.
- Miyokardiyal dolaşıma pozitif yönde etki eder.
- Periferik vazodilatasyon ve diüretik etki sonucu hipotansif etkinlik gösterir.
- Negatif batmotropik (Kas ve sinir uyarılabilirliğini azaltıcı etki, antiaritmik) ve Hipolipidemik etki gösterir.
- İskemi reperfüzyon indüklü hasardan korur.
- Antiinflamatuvar ve antioksidan aktivite gösterir.

Bunlara ek bazı türlerin antiagregan ve ACE inhibitörü aktivitesine sahip olduğu kayıtlıdır [4,72].

*Crataegus* türlerinin drogları sahip olduğu bu etkileri sayesinde

- Hafif ve kronik kalp yetmezliklerinde (NYHA I ve II)
- Ateroskleroz ve anjina pektoris tedavisinde,
- Kimyasal kalp ilaçlarına karşıt hem miyokard yetmezliğinde hem de antianjiöz durumlarda,
- Hafif bradiaritmiler ve hipertansiyonda kullanılır.

Bu kullanılışlarına ek olarak hafif sedatif etkisinden dolayı soğuk algınlığının tedavisinde kullanılan tıbbi çay karışımlarının terkibine girer. Ayrıca *Digitalis* türleri ile yapılan tedaviye ara verildiğinde rahatlıkla kullanılabilirdiği gibi *Digitalis* preparatları ile beraber de kullanılabilir. Haricen kullanımı yoktur [4,72].

*Crataegus* türlerinin çok çeşitli farmakolojik etkileri bulunmakta ve bu etkiler yapılan araştırmalar ile aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Farmakolojik etkileri ve yapılan çalışmalaradan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

#### **2.1.4. *Crataegus* Türleri ile Yapılmış Aktivite Çalışmaları**

##### **2.1.4.1. Kalp Kasılmasının Artışı Üzerine Etkisi (Pozitif İnotropik Etki)**

İzole perfüzyon kalp preparatı (Langendorff sistemi), izole edilmiş papiller kaslar ve izole edilmiş miyokardiyal hücreler kullanılarak, ekstrelerin, maseratların, flavonoit fraksiyonlarının, prosiyanidin fraksiyonlarının ve tek bileşenlerin [viteksin 2''-ramnozid, viteksin, monoasetilviteksin- ramnozid, luteolin 7-glukozit, epikateşin, krataegolik asit, hiperozit, rutin ve biyojen aminler ] pozitif inotropik etkisi gösterilmiştir. Sabit basınçta kanlanan izole perfüzyon kalp preparatında (Langendorff sistemi ), flavonit içeriği standardize edilmiş ekstrenin 3µg/ml'si kasılmayı %9.5 arttırmıştır. Sabit hacimde kanlanan izole perfüzyon kalp preparatında standardize edilmemiş ekstrenin 50-500 µg/ml'si kasılmayı doza bağlı olarak %38.3-142.4 arttırmıştır. Bir flavonoit fraksiyonu (50-500 µg/ml) doza bağlı olarak kasılmada %73.4 -259.2 artma ve oligomerik prosiyanidin fraksiyonu (50 ng/ml-500µg/ml )doza bağlı olarak kasılmada %35.8-231.7 artma sağlamıştır. Flavonoit içeriği standardize edilmiş bir ekstre, 30-129 µg/ml aralığında, kasılma genişliğini 120 µg/ml'den sonra sabit değere erdştirerek, izole edilmiş miyokardiyal hücrelerin kasılmasını kontrol değerinin %153'üne kadar arttırmıştır [4].

New York Heart Association (NYHA) sınıf IV kalp rahatsızlığı nedeniyle kalp nakli geçirmiş hastaların izole edilmiş, elektrikle uyarılmış sol ventrikül miyokard kas şeritlerinde, oligomerik prosiyanidin miktarı standardize edilmiş ekstre 10 µg/ml'den yüksek konsantrasyonlarda kasılma gücünü arttırmış, 100µg/ml konsantrasyonda güç-frekans ilişkisini geliştirmiş ve <sup>3</sup> H-ouabainin Na<sup>+</sup> / K<sup>+</sup> -ATPaz'a a (EC<sub>50</sub> =90 µg/ml) spesifik bağlanmasını kompetitif olarak inhibe etmiştir. Prosiyanidin içeriği standardize edilmiş bir ekstre, aort-koroner bypass geçirmiş hastaların izole edilmiş, elektrikle

uyarılmış arteriyel kas hücrelerinde ve ölümcül kalp rahatsızlığı olan sol ventrikül kas hücrelerinde, 0.1 ng/ml konsantrasyonda, kasılma gücünü sırasıyla %4.4-10.2 ve %3.7-7.7 arttırmıştır [4,73].

Anestezi altındaki köpeklerde, oligomerik prosiyanidin içeriği standardize edilmiş ekstre (7.5-30 mg/kg dozda iv olarak uygulanmış) sol ventrikül maksimum kasılma hızını % 16.8 -31.1 oranında arttırmıştır [4].

*Crataegus oxycantha* ekstresi bilinen kardiyoaktif ilaçlar olan ouabain, epinefrin, milrinon ve propranolol ile karşılaştırmalı olarak antiaritmik etkisine bakılmıştır. Konvansiyonel kardiyak ilaçlarla karşılaştırıldığında ekstrenin önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Ekstre hareketsiz kalp kası hücrelerinde ritmin indüklenmesine neden olarak, antiaritmik aktivite göstermiştir. *Crataegus* preparatlarının da benzer etkiye neden olduğu aynı çalışmada gözlemlenmiştir. Ekstre ayrıca  $\beta$ -adrenerjik reseptörleri bloke etmeksizin negatif kronotrop etkiye neden olmuştur [72].

*Crataegus* ekstrelerinde yer alan fenetilamin, *O*-metoksifenetilamin ve tiramin benzeri kardiyak aminlerin pozitif inotrop etkide önemli bir yere sahip olduğu görülmüştür. Bu tip aminlerin gine domuzları üzerinde yapılmış *in vitro* çalışmalarda bu tip bir etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur[4]. Başka bir çalışmada bu bileşenlerin inotropik etkide önemli bir yere sahip olan; intraselüler kalsiyum geçiş potansiyelinin artmasına neden olduğu görülmüştür [73].

#### **2.1.4.2. Kas ve Sinir Uyarılabilirliğini Azaltıcı Etki (Negatif Batmotropik Etki)**

İzole perfüzyon kalp preparatında (Langendorff Sistemi) maseratlar, özellikle gliserol/etanol maseratı; akonitin, kalsiyum klorit veya kloroform/adreneralinin neden olduğu aritmeye ve iskemik reperfüzyonla oluşan aritmeye karşı koruyucu etkiler göstermiştir. Flavonoit içeriği standardize edilmiş ekstrenin 0.5  $\mu\text{g/ml}$ 'si ventriküler miyokardın etkin refrakter zamanını %3.8 oranında arttırmış, bu artış doza bağlı olarak 10  $\mu\text{g/ml}$ 'de %9.9 olmuştur. Ekstre, etkin refrakter zamanını kısaltan adrenalin, amrinon, milrinon ve digoksin gibi pozitif inotrop etkili diğer maddelerden belirgin bir fark göstermiştir. İzole miyokard hücrelerinde, 90  $\mu\text{g/ml}$  ve üzerindeki konsantrasyonlardaki ekstre, kontrollü şartlar altında, refrakter zamanını doza bağlı olarak 144 ms'den 420 ms ve üzerine çıkarmıştır; 180  $\mu\text{g/ml}$  olan maksimum konsantrasyonda refrakter zamanı 1000 ms olarak ölçülmüş, daha yüksek konsantrasyonlarda refrakter zamanı

ölçülemediği. İzole kobay ventrikül kas hücrelerinde flavonoit içeriği standardize edilmiş ekstre, 0.01 mg/ml konsantrasyonda, gecikmeli ve içe yönelik doğrultucu potasyum akımını, sırasıyla %25 ve %15 bloke etmiştir [74].

İzole edilmiş kobay kap papiller kaslarında flavonoit içeriği standardize edilmiş ekstrenin 0.01 mg/ml'si aksiyon potansiyeli süresini %20 repolarizasyonda yaklaşık 10 ms ve %50 ve %90 repolarizasyonda yaklaşık 12 ms arttırmıştır. Bunun dışında, aksiyon potansiyelindeki maksimum fırlamanın geri dönüşüm zamanı 8.80 ms'den 22.6 ms'ye uzatılmıştır [75].

Normal tansiyonlu farelerde, oral uygulamayı takiben, maseratlar ve sıvı ekstraller kalp atışında azalmaya neden olmuştur; gliserol /etanol maseratı (kuru drogun 12.5 mg/kg'ı), uygulamadan 2 saat sonra, kalp atışını 504 vuruş/dakika'dan 450 vuruş/dakikaya indirmiştir. 25 mg/kg dozda oral uygulanan preparatlar, akonitin, kalsiyum klorit ve kloroform/adrenalinin neden olduğu aritmiye karşı koruyucu etki göstermiştir. Oligomerik prosiyanidin içeriği standardize edilmiş ekstre ve flavonoit içeriği standardize edilmiş ekstre, fareleri, iskemi reperfüzyon nedenli ventriküler fibrilasyon ve taşikardiden korumuştur [4].

#### **2.1.4.3. İskemi-Reperfüzyon Nedenli Zarardan Koruma**

İskemik ve reperfüze çalışan izole kalpte, suda çözünen ekstre (% 0.05'lik çözelti), reperfüzyon sırasındaki mekanik kardiyak fonksiyonu geliştirmiş, enerji metabolizmasının iyileşmesini hızlandırmış ve iskemi esnasındaki laktat seviyesini azaltmıştır. Farelerde flavonoit içeriği standardize edilmiş ekstreyle ön uygulamayı takiben, iskemik ve reperfüze izole perfüzyon kalp preparatında (Langendorff sistemi), laktat dehidrojenaz seviyesindeki artış belirgin olarak düşük (1777.3 mU/dak karşısında kontrol 3795.3 mU/dak) olmuştur. Gliserol/etanol maseratı ve krataegolik ve ursolik asitlerin reperfüzyon nedenli taşikardiye karşı koruyucu etkileri vardır. Luteolin 7-glikozit ve asetil viteksin-ramnozid'in ( $5 \times 10^{-5}$  M) ikisi de iskemik alanı azaltmıştır [76].

Oligomerik prosiyanidin içeriği standardize edilmiş ekstre (5 mg/kg, iv yolla, oklüzyondan 5 dakika önce verilmiş), farelerde, reperfüzyon nedenli, ventriküler fibrilasyonların sıklığını ve süresini azaltmıştır. Bu ekstrenin farelere 100 mg/kg dozda oral olarak 6 gün boyunca uygulanması, fareleri ölümcül ventriküler fibrilasyonlardan (%0, kontrol %100 )ve hipotansif krizlerden korumuş ve ventriküler taşikadinin sıklığını



(%62, kontrol %100) ve süresini (20 s, kontrol 47.1 s) azaltmıştır. Farelere bu ekstrenin oligomerik prosiyanidin bakımından zengin fraksiyonunun 20 mg/kg/gün dozda oral yolla verilmesi, iskemi-reperfüzyon nedenli zarara karşı benzer koruma sağlamıştır. Flavonoit içeriği standardize edilmiş ekstrenin (ekstrenin %2'si standart diyetle karıştırılmış) 3 ay boyunca farelere oral yoldan uygulanması, öldürücü aritmilerin ortalama sıklığını azaltmıştır. (kanlanmanın durması 20 dak. %51, kontrol %89; kanlanmanın durması 18 dakika %8, kontrol %48) [77].

*Crataegus oxychant*a meyvelerinden hazırlanan tentürü sıçanlarda deneysel yolla yapılmış miyokard enfarktüsündeki koruyucu etkisi araştırılmıştır. Oral yolla 30 gün boyunca, günde 0.5 ml/100 g olacak şekilde verilerek *Crataegus* tentürü ile yapılan ön tedavi, lipid peroksidasyonundaki artışı ve isoproterenol verilmiş farelerdeki enzimlerin aktivitesini engellemiştir. *Crataegus* tentürünün, kalpteki isoproterenol kaynaklı antioksidan enzim azalmasını engellemiş ve ADP uyarımlı oksijen alımını ve solunum katlama oranını arttırmıştır. Tentür, sıçan kalbini isoproterenol nedenli patolojik değişimlere karşı korumuştur [78].

#### **2.1.4.4. Vazorelaksasyon, Periferik Damar Direncinin Azalması**

İzole perfüzyon kalp preparatında (Langendorff sistemi), oligomerik prosiyanidin içeriği standardize edilmiş ekstre (1-10 µg/ml), nitrikoksit (NO) inhibitörüyle tamamen kasılmış koroner damarlarda gevşemeye neden olmuş ve NO donörü olan nitroprustin gevşetici etkisini arttırmıştır. İzole aort şeritleriyle 6 sulu –alkollü ekstre norepinefrin kaynaklı kasılmayı (4.16 mg/lt'den 80 mg/lt'ye EC<sub>50</sub> değerleriyle) azaltmıştır. Sulu ekstre (22.39 mg/lt EC<sub>50</sub> değeriyle) daha az etkili bulunmuştur [4].

Langendorff kalp preparatında drogun prosiyanidinleri üzerinden standardize edilmiş ekstresi nitrik oksit (NO) sentaz inhibitörü ile tamamen geri çevrilebilen ve NO donörü nitropurusit ile arttırılabilen gevşeme cevabına neden olmuştur. Her ml'sinde 0.03 mg prosiyanidin taşıyan ekstre, izole kurbağa kalbinde norepinefrinle indüklenen taşikardiyi inhibe etmiş ve β-blokör aktivite göstermiştir. Drogun metanol ekstresi ve bu ekstreten hazırlanan etilasetat ekstresinin poliamit kolon kromatografisine uygulanması sonucu ayrılan 3 ayrı fraksiyonun ACE (anjyotensin dönüştürücü enzim) inhibitör aktivitesi araştırılmıştır. Drogun metanol 0.33 mg/ml konsantrasyonda ACE'yi %33±2

inhibe etmiştir. Etilasetat ekstresinin poliamit üzerinde kolon kromatografisine tabi tutulması sonucu elde edilen fenolik asit ve flavonoit fraksiyonları %3-27, flavan-3-ol fraksiyonu %15-30 ve oligomerik prosiyanidin fraksiyonu %92 oranında inhibisyon göstermiştir [79].

*Crataegus* yaprak ve çiçeğinin sıvı ekstreleri ve maseratlarının tek doz veya kronik oral yoldan verilmesini takiben normal tansiyonlu ve dezoksikortikosteroasetat (DOCA) ile hipertansif duruma getirilmiş sıçanlarda arteriyel kan basıncı düşmüştür. Normal tansiyonlu sıçanlarda, gliserol/etanol maseratı (tek doz, 12.5 mg/kg kurutulmuş bitki dokusu) kan basıncını 144 mmHg'ye ve DOCA-hipertansif sıçanlarda 176 mmHg'den 154 mmHg'ye düşürmüştür. 30 günlük oral veriliş periyodunun ardından, flavonoit içeriği standadize edilmiş ekstre (300 mg/kg/gün) kan basıncında 132 mmHg'den 123 mmHg'ye düşüş sağlamıştır [4].

Anestezi yapılmış sıçanlarda (30 mg/kg, iv yoldan uygulanmış)ve köpeklerde (15 mg/kg, iv yoldan uygulanmış) oligomerik prosiyanidin içeriği standardize edilmiş ekstre her iki türde de total periferik dirençte düşüş sağlamış ve buna ek olarak köpeklerde arteriyel kan basıncını da düşürmüştür. Anestezi yapılmış köpeklerde, hiperozit (1mg/kg iv yoldan verilmiş, takiben 30 dak. boyunca 1 mg/kg/dak infüzyon verilmiş), kan basıncında ilk olarak 72 mm Hg, ardından 30. dakikaya kadar 25 mmHg düşüş sağlamış ve buna paralel olarak sistemik arteriyel direnci düşürmüştür. Anestezi yapılmış kedilerde, oligomerik prosiyanidinler (3 mg/kg, iv yoldan uygulanmış) uygulamadan 90-120 dak. sonra kan basıncını 145.2 mmHg'den 118 mmHg'ye düşürmüştür [80].

*Crataegus tanacetifolia* ekstresinin organizmadaki bazı iyonların konsantrasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir ve bitkinin gösterdiği hipotansif etkide bu artışın rolü olabileceği düşünülmüştür. Devam eden çalışmada *C. tanacetifolia* ve hiperozid flavonoitince zengin fraksiyonunun N-nitro-L-arginin ester (L-NAME) ile Nitrik oksit (NO) sentezinin kronik inhibisyonu üzerine etkisine bakılmıştır. *C. tanacetifolia* yaprak ekstresinin kan basıncı, kandaki lipid düzeyleri üzerine etkisi ve koroner kalp rahatsızlıkları üzerine etkisi L-NAME indüklenmiş hipertansif sıçanlarda ortaya konulmuştur. Buna göre oral yolla *C. tanacetifolia* sulu ekstresi L-NAME indüklenmiş hipertansif sıçanlara 4 hafta boyunca her gün (100 mg/kg) gavaj yoluyla verilmiştir. Özellikle hiperozit flavonoitinin eNOS aktivitesini arttırmak suretiyle hipertansiyonlu sıçanlarda görülen yüksek kan basıncını azalttığı ayrıca hiperlipidemiyi,

arter duvarının kalınlaşmasını, damar lümeninin daralmasını belirgin düzeyde önlediği ortaya koyulmuştur [73].

#### 2.1.4.5. Antioksidan etkileri

Alıç meyveleri ile ilgili yapılan farmakolojik çalışmalar, alıç türlerinin daha çok kardiyovasküler sistemi koruyucu, hipotansif ve kolesterol düşürücü etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır [81,82]. Ancak bu yararlı etkilerin mekanizmaları halen araştırılmaktadır. Perhiz yemekleriyle alınan antioksidanlar serbest radikallerin oluşumunu ve yayılmasını önleyebilir, bu nedenle serbest radikallerden kaynaklanan kalp dokusu ve kardiyovasküler damar hasarları en aza indirilebilir. Son zamanlarda, insan LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) oksidasyonunun kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde risk faktörlerinden biri olduğu kabul edilmiştir [83, 84].Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar alıç meyvelerinin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu desteklemektedir [67].

*Crataegus monogyna* çiçek tomurcuklarının %70 metanollü ekstresi ile yapılan *in vitro* bir çalışmada, sıçan karaciğer mikrozomlarında lipit peroksidasyonunun inhibe edildiği gözlenmiştir [37,85]. Droğun etilasetatlı ekstresinin  $Cu^{+2}$  ile indüklenen LDL oksidasyonunu inhibe edici etkisinin toplam polifenol içeriği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [86]. *In vitro* olarak yüksek antioksidan etkili olan *C. monogyna* çiçeklerinin antioksidan etkinliği içeriğindeki polifenol miktarı arttıkça artmaktadır [85].

*Crataegus aronia* (*C. azarolus*) sulu ekstresi ile yapılan bir *in vitro* çalışmada bu türün sıçan karaciğer homojenatlarında,  $\beta$ -karoten oksidasyonunu, 2,2"-azobis (2-amidino-propan) dihidroklorür (AAPH) ile indüklenen plazma oksidasyonunu ve  $Fe^{+2}$  ile indüklenen lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Buna ek olarak,  $O^2-$  radikalini süpürücü etkinliği olduğu belirtilmiştir [87].

Çinli araştırmacıların Çin alıcı (*C. pinnatifida*) ile farelerde yaptığı bir araştırmada da alıcın sulu ekstresinin oral dozları kullanılmış ve süperoksit dismutaz aktivitesi kırmızı kan hücrelerinde ölçülmüştür. Sonuçlara göre, alıcın SOD aktivitesini başlatmada güçlü bir etkisi olduğu gösterilmiştir [90, 91].

*Crataegus aronia* meyve ve yapraklarının sulu ekstreleri antioksidan potansiyellerinin araştırıldığı çalışmada anlamlı düzeyde etkili oldukları görülmüştür [90].

#### 2.1.4.6. Antiinflamatuvar etkileri

Flavonoitlerin terapötik uygulamada kullanıldığı başka bir alan da inflamasyondur. Çeşitli flavonoitlerin trombosit ve peritoneal lökositlerde AA metabolizmasını düzenlediği bildirilmiştir. Bu etkilerin altında yatan hücresel mekanizma hala çok net olmasa da flavonoitlerin antioksidan etkinlikleriyle ilişkilendirilmektedir [15]. Bu nedenle, flavonoitlerce zengin olan bitkilerin antiinflamatuvar etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir [12].

*C.monogyna* heksan ekstresinden elde edilen sikloartenol ana bileşenli triterpen fraksiyonunun *in vitro* olarak fosfolipaz A<sub>2</sub>'yi inhibe ettiği gösterilmiştir. Farelerle yapılan *in vivo* çalışmada, aynı fraksiyonun 40 mg/kg dozda oral olarak verilmesiyle, karragenin ile indüklenen pençe ödemi testinde 3 saat içinde %61,5 ve 5 saat içinde de %52,5 oranında inhibisyon gerçekleştiği belirtilmiştir [91]. *C. monogyna*'nın sulu/alkollü ekstresi ile antiinflamatuvar etkisini göstermek üzere yapılan başka bir *in vitro* çalışmada, tromboksan A ve prostaglandin I'nin oluşumlarının inhibe edildiği gösterilmiştir [92]. *C. pinnatifida* ile yapılan bir çalışmada ise, bu bitkinin kurutulmuş meyvelerinden elde edilen flavonoitlerin lipopolisakkaritlerle indüklenen inflamasyon cevaplarını *in vivo* ve *in vitro* deneylerde inhibe ettiği gösterilmiştir [15].

#### 2.1.4.7. Analjezik etkileri

Alıcın antinosiseptif etkinliğinin değerlendirilmesiyle ilgili yapılan çok fazla çalışma olmasa da, bu etkinin varlığını destekleyebilecek başka çalışmalar mevcuttur. Erdemoğlu ve arkadaşları tarafından *Arctium minus*'un sulu ve etanol ekstreleriyle yapılan çalışmada, bu bitkinin analjezik etkileri olduğu bildirilmiştir. Antinosiseptif aktiviteyi ölçmek için farelerde, *p*-benzokinin ile indüklenen abdominal kasılma testi uygulanmıştır. Bitkinin etanol ekstresinde analjezik etki görülürken, sulu ekstresinde bu etkiye rastlanmamıştır. Gözlemlenen antinosiseptif etkiden flavonoitlerin sorumlu olabileceği düşünülmektedir çünkü kersetin ve kempferol gibi flavonoitlerin güçlü antinosiseptif etkileri olduğu bildirilmiştir [93].

*Sideritis brevibracteata*'nın farklı ekstreleri ile yapılan diğer bir çalışmada da, yine *p*-Benzokinin ile indüklenen abdominal kasılma testi kullanılarak antinosiseptif etkiye bakılmış ve *n*-butanol (BuOH) ekstresinin diğerlerine göre (metanol ve kloroform ekstresi) daha yüksek analjezik etkisi olduğu gözlenmiştir. *n*-butanol fraksiyonunun

başlıca bileşenleri flavonoidler olduğundan antinosiseptif etkinliğin flavonoidlerden ileri geldiği düşünülmüştür [94]. Farklı bitkilerle yapılan bu çalışmalardan yola çıkarak ve flavonoid içeriğinden, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklerinden dolayı *Crataegus* türlerinin de analjezik etkiye sahip olabileceği düşünülmüştür [12].

#### 2.1.4.8. Antihiperlipidemik Aktivite

Çin tıbbında *Crataegus pinnatifida* türünün meyveleri, plazma lipid düzeyini düşürmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bunu araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada drogdan hazırlanan toz ekstrenin AcylCoA: kolesterol Acyltransferaz (ACAT) aktivitesini CaCO<sub>2</sub> hücrelerinde inhibe ettiği ortaya konmuştur. Ekstre de yer alan triterpenik asitlerden oleanolic acid ve ursolic asidin kolesterol seviyesini düşürmekte etkili olduğu, aynı çalışmada bitkideki sterol esterlerinin triterpenik asitlerle beraber additif etki gösterdiği görülmüştür [95]. Başka bir çalışmada *Crataegus aronica* meyvelerinin sulu ekstresinin, atherojenik diyet uygulanmış tavşanlarda, hipolipidemik potansiyeli araştırılmıştır. Alıç verilen tavşanlarda AcylCoA: kolesterol Acyltransferaz inhibiyonu görülmüş, hipolipidemik potansiyeli olduğu ortaya konulmuştur [96].

*Crataegus oxycantha* meyvelerinden hazırlanmış tentürün sıçanlardaki hipolipidemik aktivitesinin araştırıldığı çalışmada, 6 hafta boyunca atherojenik diyetle beslenilerek hiperlipidemi oluşturulan sıçanlarda, plazma, karaciğer ve aortta lipit bileşenlerinde belirgin bir artış oluşturulmuş, *Crataegus* tentürünün verilmesiyle, karaciğer ve aortta lipit birikmesinin engellendiği gibi plazma lipitlerindeki yükselişide engellenmiştir. Hiperlipidemik sıçanlardaki kolesterol, trigliserit ve fosfolipit konsantrasyonlarında görülen şiddetli artış, *Crataegus* tentürü alımıyla etkin bir biçimde engellenmiştir. Yapılan bu çalışma *Crataegus*'un antihiperlipidemik etkisi ortaya konmuş, hiperlipidemik olarak beslenen sıçanlarda iyi bir hipokolestolemik ajan olduğuda gösterilmiştir [60].

#### 2.1.4.9. Antikatarakt Potansiyeli

Katarakt özellikle serbest radikallerin neden olduğu oksidatif streten kaynaklanan multifaktöriyel bir rahatsızlıktır. *Crataegus pinnatifida* yaprak ekstresi ile yapılmış invitro ve invivo çalışmalarda ekstrenin antikatarakt potansiyeline bakılmıştır. İnvitro antioksidan çalışmalarda türün yaprak ekstresinin NO (Nitrikoksit) üretimini inhibe ettiği, aldoz redüktaz ensimini inhibe ettiği, ve O<sub>2</sub> radikallerinin uzaklaştırma aktivitesini arttırdığı görülmüş, bu çalışmayla antioksidan potansiyeli ortaya

konulmuştur. İnvivo olarak yapılan çalışmada *C. pinnatifida* yaprak ekstresinin antikatarakt potansiyeli araştırmak amacıyla, göz damlası şeklinde % 0.1 hidroksi propil metil selüloz çözeltisine ilave edilerek, hazırlanmıştır. Oksidatif stressi indüklenmiş sıçan gözbebeklerine ekstrenin yer aldığı gözdamlası günde 3 defa olarak uygulanmıştır. Kontrol grubuyla kıyaslandığında, ekstrenin uygulandığı grupta, serum süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivitesinin arttığı, malondialdehit (MDA) eğilimde azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Gözdeki mercekte antioksidan enzimler olan SOD, CAT ve GSH (Glutathion) aktivitesinde önemli bir artışa neden olduğu, bununda ekstrenin antikatarakt etkisini ortaya koyduğunu göstermiştir [97].

#### 2.1.4.10. Antiviral Aktivite

*Crataegus* türlerinden *C. aronia* var. *aronia*, *C. monagyna* ve *C. pseudoheterophylla* türlerini yaprak ve meyvelerinin total prosiyanidin ve flavonoid konsantrasyonunun ortaya konulduğu çalışmadaki ekstrelerin *Herpes simplex* virüsü üzerinde güçlü antiviral etkiye sahip olduğu görülmüştür [62].

*Crataegus sinaica* türünün flavonoidleri ve trimerik prosiyanidinlerinin izole edildiği çalışmada HIV virüsü üzerine olan antiviral etkisi de araştırılmıştır. Hiperozid, viteksin, 2"-*O*-ramnozilviteksin, (4"-*O*-asetil)-2"-*O*-ramnozilviteksin, epikateşin, (+)-taksifolin, 3-*O*- $\beta$ -ksilopiranozil-(+)-taksifolin bileşikleri izole edilmiş, bileşiklerin antiviral etkileri ortaya konulmuştur [98].

#### 2.1.4.11. Üreme Sistemi üzerine etkisi

*Crataegus cuneata* türünün köklerinden hazırlanan ekstreler asthenospermi hastalarına verildiğinde sperm motilitesini arttırdığı gözlemlenmiştir. Ekstrelerin verildiği 16 asthenospermi hastasından alınan sperm örnekleri bilgisayar ortamında *in vitro* olarak incelenmiştir. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında *Crataegus* verilen hastalarda sperm hareketlerinin 5-15 dakika uzadığı görülmüş, ekstrelerin anlamlı düzeyde sperm motilitesini arttırdığı görülmüştür [12].

#### 2.1.4.12. İmmünostimulan Etki

*Crataegus pinnatifida* türünün suda çözünebilir polisakkaritlerinin immunostimulan etkisinin araştırıldığı çalışmada *Crataegus pinnatifida* türünden elde edilen polisakkarit fraksiyonlarının peritoneal makrofajların fagositik oranları ve

indeksini indüklediği görülmüştür. Bu çalışma *Crataegus*'ların immünoestimulan potansiyelleri olabileceğini gösteren bir çalışma olmuştur [63].

#### **2.1.4.13. Anksiyete ve Depresyon Üzerine Etkisi**

Diğer bir çalışmada, fitoterapötik olarak hazırlanan CPV (*Crataegus oxyacantha*, *Passiflora incarnata* ve *Valeriana officinalis* kuru ekstrelerinden hazırlanan karışım) hayvan modelleri ile çalışılarak merkezi sinir sistemi üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Buna göre CPV'nin sıçanlarda doza bağımlı olarak anksiyolitik etki gösterdiği görülmüştür, diazepamla kıyaslandığında daha hafif bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir [99].

#### **2.1.4.14. Hepatoprotektif Etkisi**

*Crataegus pinnatifida* türünün hepatoprotektif potansiyelinin araştırıldığı çalışmada türün güçlü hepatoprotektif etkide rol oynayan güçlü antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu görülmüştür [15].

#### **2.1.4.15. Sitotoksik Aktivite**

*Crataegus pinnatifida* türünden sititoksik ursan tipte triterpenler olan, uvaol, ursolik asit, 3-oxo-ursolik asit izole edilmiştir. Bu bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri, invitro olarak fare (L1210) ve insan kanser hücrelerinde (A549, SK-OV-3, SK-Mel-2, XF498, HCT15) çalışılmıştır. Uvaol ve ursolik asidin L1210 üzerinde güçlü sitotoksik aktivite gösterirken, bununla birlikte insan kanser hücrelerinde zayıf aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. 3-okso-ursolik asidin ise hem fare hem de insan kanser hücrelerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu görülmüştür [100]. Diğer bir çalışmada *C. pinnatifida* meyvelerinden hazırlanmış sıcak su ekstresinden elde edilen polifenol fraksiyonunun deri tümör hücrelerine karşı kanser kemoprotektif ajan rolü oynadığı görülmüştür [101].

#### **2.1.4.16. Hipoglisemik Aktivite**

Meksika'da *Crataegus* içeren ekstreler Diabetes Mellitus tedavisinde kullanılmaktadır. Bu amaçla *Crataegus mexicana*, *C. pubescens* ve *C. presl* kökleri üzerinde yapılmış çalışmalarda özellikle tanen ve flavonoidlerin antidiyabetik etkide rol oynayabileceği görülmüştür. Başka bir çalışmada *Crataegus aronia* türünün yaprak ve ham meyvalarından dekoksasyon yoluyla elde edilen ekstreler streptozotosin-indüke diyabetik sıçanlara verilmiş, plazma ve dokulardaki oksidatif stres endeksleri ve kan şekeri seviyeleri ölçülmüştür. Çalışma dekoksasyonun plazma lipid peroksid seviyesini

normalleştirdiğini ve kan şekeri seviyesini düşürdüğünü göstermiştir [90]. *Crataegus microphylla* ekstresi ile yapılan çalışmada, antihiperglisemik etkinliği olmaksızın, diyabete bağlı gelişen endotel disfonksiyonun bir göstergesi olan endotel bağımlı gevşeme yanıtlarını düzeltebildiğini tespit etmiştir [17]. Antiobezite ve anti hiperglisemik etkilerin araştırıldığı başka bir çalışmada *C. aronia* türünün toprak üstü kısımları ve meyvaları ayrıca bitkiden izole edilmiş rutin ve kersetinin, obezite tedavisinde önemli bir parametre olan pankreatik lipaz inhibisyonunun artırılmasında etkili olan pankreatik triasilgliserol antilipaz aktivitesi incelenmiştir. Rutin ve kersetinin etkisinin *Crataegus* ekstrelerine kıyasla fazla olmasıyla birlikte doza bağlı olmakla beraber etkili olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada toprak üstü kısım ve meyvelerin enzimatik nişasta sindirimine olan etkisi araştırıldığında, kontrol grubuna kıyasla doza bağımlı olarak etkilerinin arttığını gözlemlemişlerdir. Antihiperglisemik etkinin araştırıldığı kısımda da *C. aronia* ekstresinin (400 mg/kg doz ) metformin ve glipizid ile kıyasla az da olsa etkili olduğu görülmüştür [102].

#### 2.1.4.17. KLİNİK ÇALIŞMALAR

Klinik çalışmalar, yaprak ve çiçeklerin standardize edilmiş ekstresinin miyokardiyal performansı arttırdığı, antiaritmik etkili olduğunu; egzersize karşı toleransı ve sol ventriküler enjeksiyon fraksiyonunu arttırdığını ve kalp yetmezliğine bağlı semptomları iyileştirdiğini göstermektedir [103].

NYHA sınıf II kalp rahatsızlığı bulunan 80 hasta üzerinde yapılmış randomize, plasebo kontrollü çift körlü klinik çalışmada 180 mg *Crataegus* ekstresi 6 hafta boyunca verilmiştir. Bisiklet ergometri testi ile değerlendirilen hastalarda, iyi oluş hali ,kardiyak fonksiyonlarda, dispne ve palpasyonda anlamlı düzeyde gelişme olduğu görülmüş, kan basıncının düşüşünde önemli gelişme gözlemlenmiştir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında ECG değerlerinde önemli bir farklılık görülmemiştir [104].

Sınıf II kronik konjestif kalp yetmezliği bulunan 78 hasta üzerinde plasebo kontrollü, çift körlü bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, hastalara günlük oral olarak 8 hafta boyunca 600 mg ekstre verilmiştir. Ekstre verilen hasta grubunda egzersiz toleransı (28 W) plasebo grubuyla karşılaştırıldığında (5W) artmıştır [105].



Çift körlü karşılaştırmalı bir çalışmada, sınıf II konjestif kalp yetmezliği bulunan 132 hastaya 900 mg ekstre veya Captopril (ACE inhibitörü) verilmiştir. Her iki grupta da egzersize karşı torleansta istatistiksel olarak belirgin bir artış gözlenmiştir. Ekstre verilen grupta egzersize karşı tolerans 83 W'tan 97 W'a, Captopril verilen grupta 83 W'tan 99 W'a çıkmıştır. Her iki grupta da semptomlarda ve semptomların sıklığında yaklaşık %50 azalma gözlenmiştir [4].

Sınıf I ve sınıf II kronik konjestif kalp yetmezliği bulunan 1476 hastaya günlük 900 mg ekstre verilmiş, 4 ve 8 hafta sonunda kronik konjestif kalp yetmezliği semptomlarında meydana gelen değişiklikler kan basıncı ve kalp atımı ölçülerek saptanmıştır. Süre sonunda semptomlarda %66.6 oranında azalma meydana gelmiştir. Sınıf I kronik konjestif kalp yetmezliği bulunan hastalarda neredeyse bütün semptomlar ortadan kalkmıştır. Sempatoadrenerejik sistemi stimüle edilen alt gruptaki hastalarda kan basıncı 160/89 mmHg'den 150/85 mmHg'ye kalp atımı dakikada 89'dan 79'a düşmüş ve aritmi oranı azalmıştır [4].

*Crataegus* ekstresinin orta şiddetli, esansiyel hipertansiyonda etkisini araştıran, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada, hastalar 10 haftalık tedavi süresi için 4 gruba bölünmüştür. Birinci gruba plasebo, ikinci gruba magnezyum (Günde 600 mg Mg sağlayan, Mg- amino asit kelatı), üçüncü gruba en az %1.8 viteksin 2"-ramnozid içeren kurutulmuş, sulu alkollü *Crataegus* yaprak ve çiçek ekstresi (500 mg/gün), dördüncü gruba da ikinci ve üçüncü grubun kombinasyonu verilmiştir. Mg yalnız veya *Crataegus* ekstresiyle beraber verildikten sonra, dinlenmedeki sistolik ve diastolik kan basınçları ve kalp performansı yönünden belirgin değişiklik olmamıştır. *Crataegus* ekstresinin yalnız veya Mg ile verilmesinden sonra kan basıncındaki istatistiksel açıdan belirgin bir değişiklik olmamıştır. Fakat analizler, *Crataegus* ekstresi alan 19 hastada 10 hafta sonra diastolik kan basıncında düşme eğilimi olduğunu göstermiştir [106]. Başka bir çalışmada *Crataegus curvisepala* türünün yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan hidroalkolik ekstrenin antihipertansif etkisi, çift-körlü, plasebo kontrollü olarak yapılan klinik çalışmada araştırılmıştır. Bu çalışmada yaşları 40-60 arasında değişen 92 orta şiddette tansiyon hastası iki gruba ayrılmış, 4 aydan fazla bir sürede günde üç kez *C. curvisepala* hidroalkolik ekstresi ve plasebo verilmiştir. Her ay düzenli olarak kan basınçlarının kontrol edildiği çalışmada, üçüncü ayda sistolik ve diastolik basınçta anlamlı düzeyde

düşüş gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). Bu çalışma bu türün zamana bağlı olarak, antihipertansif etkili olduğunu göstermiştir [107].

Randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir klinik çalışmada, taze *Crataegus* meyveleri (*Crataegisan*®), NYHA sınıf II kalp yetmezliği olan hastaların tedavisinde denenmiştir. Çalışmaya 143 hasta katılmış ve tedavi grubundakiler 8 hafta boyunca günde 3 kez 30 damla *Crataegus* ekstresi almıştır. Etkinliğin değerlendirilmesindeki birincil değişken, bisiklet egzersizi testiyle ölçülen egzersiz toleransındaki değişim olmuştur. İkincil değişkenler kan basıncı-kalp atım hızı çarpımı ve öznel kardiyak semptomlardır. Etkinliğin genel değerlendirmesi son kontrolde hasta ve uygulayıcı hekim tarafından yapılmıştır. Bisiklet ergometrisindeki belirgin gelişme, NYHA II hastalarının, *Crataegus* meyve ekstresiyle uzun süreli tedaviden yarar sağlayabileceği sonucunu ortaya çıkarmaktadır [108].

Hafif anksiyete bozukluğu olan 264 hasta üzerinde geniş kapsamlı olarak yapılmış çift körlü, randomize, plasebo kontrollü çalışmada iki bitki ekstresi (*Crataegus oxyacantha*, *Eschscholzia californica*) ve magnezyum içeren bir preperat (*Sympanthyl*®) 3 ay boyunca günde iki kez verilmiştir. Çalışmadaki amaç, hafif ve orta şiddetli anksiyete tedavisinde benzodiazepinler ve oluşacak yan etkilerinden dolayı alternatif bir tedavi yöntemi önermektedir. Çalışma sonunda çalışılan ilacın, plaseboya nazaran anksiyete üzerinde farkedilir düzeyde etkili olduğu görülmüştür [109].

Bitkisel kaynaklı, potansiyel ACE inhibitörleri araştırılan çalışmada, *Crataegus* (*Crataegus oxyacantha/C. monagyna*) ekstresi kaptoprille karşılaştırılınca kalp yetmezliği olan hastalarda aktif bulunmuştur. *Crataegus*'ların toprak üstü kısmının ekstreleri, 0.33 mg/ml konsantrasyonda %33-42 arasında orta derecede aktivite göstermiştir. Flavon ve prosiyanidinler yapılarına bağlı olarak inhibitör aktivite göstermişlerdir. Flavonoidlerden C-glikozitleri, O-glikozitlerden daha aktif bulunmuştur. Prosiyanidin içeriğinin ACE inhibitör aktiviteden sorumlu olduğu düşünülmüş, bu aktivitenin polimerizasyon derecesine bağlı olarak da arttığı tespit edilmiştir [79].

Diğer bir klinik çalışma, orta şiddetli kalp yetmezliğinde homeopatik bir *Crataegus* preperatı ile normal tedaviyi karşılaştırmıştır. Çalışma NYHA sınıf II kardiyak yetmezlikte, orta kardiyak yetmezlikte kullanılan *Cralonin*® homeopatif preperatının etkinliğini değerlendirmek için yapılmıştır. Preperat, *Crataegus* ve *Spigelia anthelmia* ekstreleri içerir. Çalışma Almanya'da 27 merkezde toplam 216 hasta ile yapılmıştır.

Hastalar günde 3 kez Cralonin damla veya ACE inh./ diüretik tedavisi almışlardır. Her hasta 8 hafta boyunca takip edilmiş, veriler başlangıçta, 4 . haftada ve çalışma sonunda toplanmıştır. Tedavinin etkinliği nabız, kan basıncı, DP (bisiklet ergometri testi, nabızxkanbasıncı/100) , semptomlar (yorgunluk, neşesizlik, zorlama sonucu dispne, tibia önünde ödem, ani yorgunluk), gece idrara çıkma sıklığı ve egzersiz toleransı (yorulmadan yürünen mesafe veya çıkılan merdiven sayısı) dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Her iki tedavinin de çalışılan değişkenlerin çoğu üzerinde yararlı etkileri olmuştur. Her iki tedaviyle de egzersiz sonrası DP’de belirgin gelişmeler görülmüştür. Yürüyüş ve merdiven testlerinde alınan sonuçlar Cralonin grubu lehinedir. Ortalama gece idrara çıkma sayısı her iki grupta da aynı ölçüde azalmıştır. Her iki tedavi de yorgunluk, neşesizlik ve zorlama sonucu dispneyi azaltmıştır. Tedavi sonuçlarının genel değerlendirmesi Cralonin lehine olmuştur [110].

WS 1442 olarak adlandırılan *Crataegus* ekstresi bitkinin yaprak ve çiçeklerinden %45 etanol çözücü sistemiyle hazırlanmış, oligomer prosiyanidinleri açısından %18.75 olarak standardize edilmiş kuru ekstredir. Bu ekstrenin kalp hastalarının tedavisi açısından büyük öneme sahip olduğu yapılan birçok çalışma sonucunda ortaya konmuştur. Bu çalışmalardan birinde *Crataegus*’un digoksin ile birlikte verildiğinde digoksinin farmakokinetik parametreleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 8 sağlıklı birey kullanılmıştır. Bireyler iki gruba bölünmüş, bir gruba 10 gün boyunca 0.25 mg/gün digoksin verilmiş, ikinci gruba ise 21 gün boyunca günde 0.35 mg digoksin ve günde iki kez *Crataegus* ekstresi WS 1442 verilmiştir. Her tedavi periyodundan sonra 21 günlük temizleme periyodu yapılmış, süre sonunda gönüllüler grup değiştirmiştir. Bu çalışma 3 hafta boyunca *Crataegus* ekstresi ile birlikte verilince digoksinin farmakokinetik ve farmakodinamik parametrelerinde belirgin istatistiksel bir fark olmadığını göstermiştir. Bu da çalışılan dozlarda, her iki ilacın da güvenle kullanılabilceğini göstermiştir [111].

Placebo kontrollü, çift körlü, sınıf II konjestif kalp yetmezliği bulunan 136 ve 30 hasta üzerinde günde 160 mg *Crataegus* WS 1442 ekstresi veya plasebo verilerek 8 haftalık iki çalışma yapılmıştır. Dozlamanın öncesinde ve sonrasında 50 W yükleme ve dinlenme sırasındaki basınç hız değişiklikleri saptanmıştır. Ekstre verilen deneklerde, plasebo verilen deneklere göre egzersize toleransta artma gözlemlenmiştir [112]

WS 1442 ile yapılmış bir diğer çalışmada, 209 NYHA III hastası üç gruba ayrılarak, randomize olarak 1800 mg WS 1442, 900 mg WS 1442 ve plasebo, 16 hafta boyunca verilmiş. Değerlendirilme, bisiklet egzersizi testiyle ölçülen egzersiz toleransına bakılarak yapılmıştır. 16 haftanın sonunda, 1800 mg WS 1442 alan hastaların, 900 mg WS 1442 ve plasebo alanlarla kıyaslandığında bisiklet egzersizi sırasında maksimum tolerans gösterdiği tespit edilmiş, bununla birlikte WS 1442 alan her iki grup hastalarda, kalp rahatsızlığında görülen semptomlarda büyük oranda azalma görülmüştür. Hastalardan ve alınan sonuçlardan, etkinlik ve tolerans açısından en iyi sonuçların 1800 mg WS 1442 alan hastalarda görüldüğü tespit edilmiştir. Bununla birlikte baş dönmesi ve vertigo gibi görülen yan etkiler, 1800 mg WS 1442 alan hastalarda en aza indirgenmiştir [113]

*Crataegus* WS 1442 ekstresinin klinik olarak etkinliği ve güvenilirliğini araştırmak için yapılmış, randomize, plasebo kontrollü, çift körlü klinik çalışmada, NYHA II sınıfı kalp hastalığı bulunan 40 bayan ve erkek hastaya, 12 hafta boyunca günde 3 kapsül WS 1442 veya plasebo verilmiştir. Etkinliğin değerlendirilmesindeki birincil değişken, bisiklet egzersizi testiyle ölçülen egzersiz toleransındaki değişim olurken, ikincil değişkenler kan basıncı-kalp atım hızı çarpımı ve öznel kardiyak semptomlardır. Buna göre egzersize olan toleransta; WS 1442 alan grupta ortalama 66.3 W x dak (%10.8) artış gözlenirken, plasebo alan grupta 105.3 W x dak (%16.9) azalma görülmüştür. Bu fark iki grup arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark oluşturmuştur. Bununla birlikte 3 aylık tedavi sonunda kan basıncı-kalp atım hızı çarpımı WS 1442 alan grupta  $14.4 \text{ mmHg s}^{-1}$  (26.8%) azalma görülürken, plasebo alan grupta  $1.3 \text{ mmHg s}^{-1}$  gibi bir azalış görülmüştür. Alınan laboratuvar sonuçlarına ve yan etkilere bakıldığında WS 1442 ekstresinin güvenli olduğu ve iyi tolere edildiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda *Crataegus* WS 1442 ekstresinin NYHA II sınıfındaki kalp hastaları için etkili bir preperat olduğu ortaya konulmuştur [114].

Zick ve arkadaşlarının 2008 yılında yapmış oldukları çalışmada NYHA II-IV sınıflarından 120 kalp hastası üzerinde randomize-çift körlü, plasebo kontrollü klinik çalışmada, *Crataegus* WS 1442 ekstresinin kalp hastalıkları semptomları üzerindeki etkisine bakılmıştır. Çalışmada 2 gruba ayrılan hastalara *Crataegus* WS 1442 ekstresi ve plasebo 6 hafta verilmiş, yürüme egzersizine tabi tutulmuşlardır. Alınan sonuçlar değerlendirildiğinde, *Crataegus* WS 1442 ekstresinin kalp hastalıkları semptomların

redüklediği, erken risk faktörü olduğunu gösteren kalp hastalıkları semptomlarını düşürdüğünü göstermiştir [115]. Aynı grubun 2009 yılında yaptıkları çalışmada, kronik kalp hastası (NYHA II-III) olup ayakta tedavi gören 120 hasta üzerinde randomize çift körlü plasebo kontrollü klinik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada hastalar konvasiyonel tedavinin yanında ikiye ayrılan grubun birine *Crataegus* 1442 ekstresi (450 mg) ve plasebo günde iki kez 24 hafta verilmiştir. Yapılan egzersiz testleri sonucunda görülmüştür ki standart medikal tedavi olan hastalarda, ekstre anlamlı düzeyde etkinlik gösterememiştir [116].

#### **2.1.4.18. Farmakokinetik Özellikleri**

Fare başına 0.87 mg total oligomerik prosiyanidinler ya da 1.03 mg trimerik prosiyanidinler ya da 1.03 mg daha büyük prosiyanidinler verildikten sonra, oral olarak uygulanan 14C işaretli prosiyanidinler, 1-7 saat içerisinde total oligomerik prosiyanidin fraksiyonu için yaklaşık %20-30, trimerik prosiyanidinler için %40-81 ve daha büyük yapıli prosiyanidinler için %16-42 değerlerinde bir absorpsiyon hızı göstermektedir. Absorbe edilmiş olan radyoaktivitenin 7 saat sonra solunum ve idrar ile eliminasyonu, sırasıyla total oligomerik prosiyanidin fraksiyonu için % 0.6 ve % 6.4, trimerik prosiyanidinler için % 47.5 ve %1.8 ve daha büyük prosiyanidinler için %12.9 ve %1.8 olarak bulunmuştur. 7 gün boyunca günde 0.12 mg (=145 nCi) total oligomerik prosiyanidin fraksiyonunun oral uygulanması, meddenin tek doz uygulanması sonrası organlar üzerinde oluşandan yaklaşık 2-3 kat daha fazla oranda radyoaktivite birikmesine neden olmuştur. Bu nedenle örneğin, hayvan başına alınmış olan günlük doz %100 olarak alındığında, total oligomerik prosiyanidin fraksiyonunun miyokard/kalp kasındaki bağıl konsantrasyonu 15 saat sonra %9 ve 7 gün sonra %28 olarak bulunmuştur [4].

#### **2.1.4.19. Preklinik Güvenlik Sınırları**

##### **Akut Toksikite**

Drogun oligomerik prosiyanidinleri (%18.75 oligomerik prosiyanidin içeren) üzerinden standardize edilmiş ekstresinin oral LD50 değeri saptanmıştır. Ancak ekstre 1000 mg/kg herhangi bir toksik belirti veya ölüm olmadan farelere ve sıçanlara verilebilmektedir. İntraperitoneal LD50 değeri farelerde 1170 mg/kg , sıçanlarda ise 750

mg/kg olarak saptanmıştır. Ancak bu dozlarda sedayoni piloereksiyon, dispne ve tremor gibi etkiler görülebilir [4].

### **Tekrarlanan doz toksisitesi**

Drogun oligomerik prosiyanidinleri (%18.75 oligomerik prosiyanidin içeren) üzerinden standardize edilmiş ekstresi sıçanlara ve köpeklere 26 hafta boyunca 30, 90 ve 300 mg/kg dozda oral olarak verildiğinde herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir [117].

### **Mutajenite**

Drogun oligomerik prosiyanidinleri (%18.75 oligomerik prosiyanidin içeren) üzerinden standardize edilmiş ekstresi Ames testi, fare lenfoma testi, kültürdeki insan lenfositleri üzerindeki sitojenik analiz ve fare mikronükleus testi sonucunda mutajenik ve karsinojenik değildir. Salmonella/mikrozom ekstre orta düzeyde mutajenik olmuştur. Bu etki, ekstrenin kersetin içeriğinden kaynaklanmaktadır. Ancak diyetle kersetin alımıyla karşılaştırıldığında drogun içerdiği kersetin miktarı çok düşük olduğundan, risk göz ardı edilebilir [118].

#### **2.1.4.20. Yan etkiler**

*Crataegus* türlerinde en sık rastlanan yan etkilerin titreme ve vertigo olduğu belirtilmiştir [119].

#### **2.1.4.21. İlaç ilaç Etkileşimleri**

Yapılan çalışmalarda *Crataegus* türlerinde yer alan falavonoidlerin P-glikoproteininin fonksiyonlarını inhibe ettiğini göstermiş, bu etkisinden dolayı, P-glikoproteini ile etkileşen digoksin gibi ilaçların etkinliğini azaltabileceği düşünülmüştür. Fakat bunu araştırmak amacıyla yapılan randomize çiftkörlü klinik çalışmada, sağlıklı gönüllülere 0.25 mg/gün digoksin ile beraber *Crataegus* içeren WS 1442 ekstresi 10 gün boyunca verilmiş, *Crataegus* ekstresinin; digoksininin farmakokinetiği üzerinde herhangi bir etkiye rastlanmamıştır [115,121].

## **2.2. Antiinflamatuvar Etki**

İnflamasyon fiziksel, kimyasal veya diğer nedenlerden kaynaklanabilen doku hasarına karşı hücrel ve humoral düzeyde organizmanın oluşturduğu bir cevap olup, buna neden olan etkeni yok etmek veya oluştuğu yerde sınırlandırmak, zarar gören dokuların tamirini ve yenilenmesini sağlamak amacıyla oluşur. İnflamasyonun

oluşmasında, inflamasyonun olduğu bölgede yer alan belli hücrelerden salınan bazı kimyasal mediyatörlerdir. Sitokinler olarak bilinen bu polipeptit yapıdaki mediyatörler inflamasyonun oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Tümör nükleozis Faktör  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ), İnterlökinler (IL-1, IL-2,)L-6 vb, interferonlar (IFN $\gamma$ , IFN $\alpha$ ), Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) vb. bilinen sitokinler, monositler, makrofajlar, lenfositler ve endotel hücrelerden sentezlenirler. İnflamasyon durumunda salınan sitokinlerin ortamdaki düzeyleri inflamasyonun derecesini belirlemede rol oynar. Bununla birlikte nötrofiller ve monositlerde lokalize olan myeloperoksidaz enzimi de inflamasyon oluşmasında önemli bir rol oynar. Bu gibi etkenlerin düzeylerindeki düşüş de antiinflamatuvar etkinin araştırılmasında önemli bir parametredir [120].

### **2.2.1. Tümör Nükleozis Faktör Alfa (TNF $\alpha$ )**

TNF  $\alpha$ ; enfeksiyonların belirli bir bölgede sınırlı tutulmasında ve lokal inflamasyonlarda rol oynayan en önemli kimyasal mediyatörlerdendir. Gram(-) bakterilerin ve diğer mikroorganizmaların, tümöral hücrelerin membran ekstrelerinden açığa çıkan lipopolisakkaritler (endotoksin), makrofajlar (lenfosit ve mastosit) tarafından TNF salgılanmasını uyarmaktadır. TNF  $\alpha$  bu gibi özelliklerinden dolayı, antitümöral etki, proinflamatuvar etki, pirojen etki ve serbest radikallerin oluşumu üzerine önemli etkilere sahiptir. Bununla birlikte, insülin etkisine karşı direnç oluşmasına, inflamasyon proteinlerinin karaciğer tarafından salgılanmasına, septik şoka (IL-1 ve IL-6 ile birlikte) neden olabilmektedir [122,123].

### **2.2.2. İnterlökin 1-beta (IL-1 $\beta$ )**

Aynı zamanda lökosit aktive edici faktör olarak da bilinen İnterlökin 1 (IL-1), makrofajlar, B lenfositler ve endotel hücreler gibi hücrelerden salgılanırlar. Çok sayıda mikroorganizma, değişik maddeler, sitokinler ve mediyatörler IL-1 salgılanmasında önemli rol oynar. Etkileri açısından TNF  $\alpha$  ile benzerlik gösteren IL-1  $\beta$ , ateş oluşumunda, karaciğer tarafından salınan inflamasyon proteinleri (serum amiloid A proteini, C-reaktif protein) salınımda rol oynamaktadır. IL-1 $\beta$  ve TNF  $\alpha$  birlikte sinerjistik etki gösterirler, septik şokun meydana gelmesine ve kanser hastalarında sık rastlanan protein katobolizmasını arttırıcı etkinin artmasına neden olurlar. Prostaglandinler de IL-1'in bir çok etkisinde önemli rol oynar. Özellikler ateş, kas ağrısı ve halsizlik bunların başında gelmektedir [122,123].

### 2.2.3. Myeloperoksidaz (MPO)

Myeloperoksidaz enzimi; nötrofil ve monositlerde lokalize olmuş nötrofillerdeki proteinlerin büyük bir kısmını oluşturan, glikozile proteinden oluşmuş bir peroksidaz enzimidir.

Fagositoz, serbest radikal oluşumunun sorumlu olduğu oksidatif mekanizmalar ve çoğu lökosit granüllerinden salınan bakterisid etkili sitokinlerin rol aldığı oksidatif olmayan mekanizmaların birlikte çalıştığı bir biyokimyasal süreçtir. Lökosit aktivasyonu, çeşitli hücre dışı uyarılar aracılığıyla meydana gelir. Sonuçta fagozom membranında lokalize olan NADPH oksidaz aracılığıyla solunum patlaması (respiratory burst) adı verilen, oksijen tüketiminin hızla arttığı ve süperoksit radikalinin oluştuğu bir süreç gerçekleşir. Solunum patlaması sırasında oluşan süperoksit moleküllerinden, spontan dismutasyon reaksiyonu sonucu hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşur. Nötrofil lökositlerin primer granüllerinden degranülasyon ile fagozom içine bırakılan myeloperoksidaz (MPO) enzimi,  $H_2O_2$  ve Cl kullanarak hipokloröz asit (HOCl) oluşturur. HOCl, lökositlerde üretilen ve mikrobisid etkiye sahip en önemli oksidandır. MPO doku harabiyeti, inflamasyon ve kanser, ateroskleroz, kalp ve damar hastalıkları Alzheimer gibi durumlarda organizmada artış göstererek, inflamatuvara neden olan etkenlerin ortadan kaldırılmasında rol oynar [124,125].

### 2.3. Antioksidan Etki

Organizmada serbest radikallerin oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için bir çok antioksidan mekanizması vardır. Antioksidanlar bu mekanizmalar üzerinden, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek hücrelerin hasar görmesine karşı organizmayı korurlar.

#### 2.3.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Lipidler üzerine Etkileri ve Malondialdehit (MDA)

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu inflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek Parsiyel Oksijen Basıncı ( $pO_2$ ), Ozon ( $O_3$ ) ve  $NO_2$ , kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisiyle artar. Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Süperoksit radikali ve  $OH\cdot$  sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Serbest oksijen radikallerinin hücre membranlarına zarar



vermesi sonucu bir reaksiyonlar zinciri oluşur. Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Bu şekilde meydana gelen lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan peroksi radikali, membranda yer alan yağ asidi moleküllerini okside edebilmekte, radikallerin ve aldehitlerin ortaya çıkmasına neden olan hidroperoksitlerin meydana gelmesini sağlayabilmektedir. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur.

Lipid peroksidasyonun en belirgin ürünü olan malondialdehit (MDA) uzun ömürlü olduğundan hücre hasarının yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. [126, 127].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Bitkisel Materyal

*Crataegus petrodavisii* Dönmez (Sinonim: *C. davisii* Browicz) C10 Hakkari: Şemdinli, Şapatan Köyü'nden, Şapatan Geçidi'ne 2. km, 37°20',100K, 44°33'024D, 1685 m. 14.08.2014 (AAD 19169).

*Crataegus peshmenii* Dönmez C10 Hakkari: Şemdinli, Günyazı Köyü aşağısı, 37°16'504K, 44°36'216D, 1460 m.14.08.2014 (AAD 19171).

*Crataegus christensenii* Dönmez C10 Hakkari: Şemdinli, Günyazı Köyü aşağısı, 37°16'504K, 44°36'216D, 1460 m.14.08.2014 (AAD 19170).

*Crataegus monogyna* Jacq. subsp. *monogyna* A1-E Tekirdağ: Banarlı-Karacakılavuz arası, Karacakılavuza 1 km kala, yol kenarı.19.05.2013 (ISTE 109080).

*Crataegus peshmenii* Dönmez, *C. petrodavisii* Dönmez ve *C. christensenii* Dönmez türleri Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden Prof. Dr. Ali Dönmez tarafından toplanmıştır. Herbaryum örnekleri Hacettepe Üniversitesi Herbaryumunda (HUB) *C. monogyna* Jacq. subsp. *monogyna* alt türü de İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik A.B.D.'dan Doç. Dr. Şükran KÜLTÜR tarafından toplanmıştır. Herbaryum örnekleri İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda (ISTE) saklanmaktadır.

#### 3.2. Genel Metodlar

##### 3.2.1. Fitokimyasal Ön Denemeler

5 g toz edilmiş materyal üzerine 100 ml sıcak su konulur ve karışım 30 dakika sıcak su banyosu üzerinde bekletilmiş, sıcakken pamuktan süzülüp ve bu infüzyonda antrasen glikozitleri, flavon glikozitleri, saponinler, tanenler ve alkaloidler aranmıştır.

##### 3.2.1.1. Flavon Türevlerinin Aranması

5 ml infüzyon üzerinde 5 ml klorhidrik asitli etanol (Shibata belirteci: 1k derişik klorhidrik asit, 1k su, 1k etanol) ve biraz magnezyum talaşı ilave edilmiştir. Pembe, turuncu veya mor bir rengin meydana gelip gelmediği gözlenmiştir. (Shibata reaksiyonu).

### 3.2.1.2. Antrasen Türevlerinin Aranması

10 ml infüzyon üzerine 5 damla derişik sülfürik asit konulmuştur. Karışım 15 dakika sıcak su banyosunda tutularak glikozitler hidroliz edilmiştir. Karışım soğuduktan sonra dikkatle 4 ml toluen ile çalkalanmıştır. Toluenli kısım bir pipet yardımıyla başka bir tüpe aktarılmış ve üzerine 3 ml %10'luk amonyak çözeltisi ilave edilir. Kırmızı bir rengin meydana gelip gelmediği gözlenmiştir.(Borntraeger Reaksiyonu)

### 3.2.1.3. Saponin Aranması

10 ml infüzyon bir deney tüpüne konulmuştur. Tüp baş parmak ile sıkıca kapatıldıktan sonra yatay olarak 30 saniye kuvvetle çalkalanmış ve dinlenmeye bırakılmıştır. 15 dakika sonra tüpte en az 15 cm yükseklikte kalıcı bir köpüğün oluşup oluşmadığı gözlenmiştir .

### 3.2.1.4. Tanen Bileşiklerinin Aranması

5 ml infüzyon üzerine 2 ml tuzlu jelatin çözeltisi (sodyum klorür ile doyurulmuş %1" lik jelatin çözeltisi) ilave edilmiştir. Krem renkli bir çökeleğin oluşup oluşmadığı gözlenmiştir.

**Gallik ve Kateşik Tanenin Aranması:** 5 ml infüzyon üzerine 3 damla %5' lik  $FeCl_3$  çözeltisi ilave edilmiştir. Mavi siyah (gallik tanen) veya esmer zeytin yeşili (kateşik tanen) renk veya çökeleğin oluşup oluşmadığı gözlenmiştir.

**Gallik ve Kateşik Tanenlerin Birlikte Buldukları Durumlarda Ayrılması:** 10 ml infüzyon üzerine 5 ml klorhidrik asitli formol (Stiasny Belirteci) (%30 formol 100ml + derişik klorhidrik asit 50 ml) konulmuş ve karışım 80 °C civarında ısıtılmış su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Parçalar halinde bir çökelek (kateşik tanen) oluşup oluşmadığı gözlenmiştir. Karışım tamamen soğuduktan sonra berrak olarak süzölmüştür. Süzöntüden 3 ml alınıp sodyum asetat ilavesiyle doyurulmuştur. Doymuş çözelti üzerine 3 damla seyreltik  $FeCl_3$  çözeltisi ilave edilip mavi-siyah bir renk veya çökeltinin (gallik tanen) oluşup oluşmadığı gözlenmiştir.

### 3.2.1.5. Alkaloit Aranması

5 ml infüzyon üzerine 3 ml %3'lük  $H_2SO_4$  ve 3 damla Mayer reaktifi konulur. Süt rengi bir çökelek oluşup oluşmadığı gözlenmiştir.

### 3.2.2. Miktar Tayini Yöntemleri

#### 3.2.2.1. Su Miktar Tayini

Etüvde ısıtılarak sabit vevne getirilmiş bir cam tartı kabı içine 1 g kaba toz halde drog konulup tam olarak tartılmıştır. 2 saat 100-105 °C' lik etüvde kurutulmuştur. Bir desikatörde soğutulduktan sonra tartılmıştır.

#### 3.2.2.2. Kül Miktar Tayini

Sabit ağırlığa getirilmiş porselen bir krözede 1g drog tam olarak tartılmıştır. Önce 200 °C' de yarım saat, daha sonra 500 °C' de 2 saat yakılmıştır. Bir desikatörde soğutulduktan sonra tartılmıştır.

#### 3.2.2.3. Total Flavonoit Miktar Tayini

Total flavonoti miktar tayini Alman Farmakopesi (DAB 10)'ne göre hiperozit üzerinden yapılmıştır. 0,3 g toz drog 100 ml rotovapor balonona alınır üzerine; 0,5 ml - %0,5 lik methenamin çözeltisi, 10 ml aseton 1 ml % 25 lik HCl ilave edilir. 30 dakika geri çeviren soğutucu altında kaynatılmıştır. Karışım henüz sıcakken az miktarda pamuktan 50 ml'lik balon jojeye süzölmüştür. Drog bakiyesi ve pamuk iki kez 10 ml aseton ile 10 dak. geri çeviren soğutucu altında kaynatılmıştır. Çözeltiler henüz sıcakken pamuktan süzölerek balon jojeye alınmıştır. Soğutulduktan sonra balon joje asetonla 50 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltinin 10 ml si bir ayırma hunisine alınmış, üzerine 10 ml su ilave edilmiştir. 1 kere 10 ml, 3 kere 5 ml estil asetat ile tüketilmiştir. Etil asetatlı kısımlar alınarak birleştirilmiş, karışım tekrar ayırma hunisinde 2 defa 25'er ml su ile yıkanmıştır.

Bu karışım 25 ml lik balon jojeye alınarak etil asetat ile 25 ml'ye tamamlanmıştır. Bu karışımın 5 ml si üzerine → 0.5 ml aliminyum klorür reaktifi ilave edilmiş % 5 lik asetik asitli metanollü çözelti ile 12,5 ml'ye tamamlanmıştır. İncelenek çözelti Aynı şekilde 5 ml çözeltiye % 5'lik asetik asitli metanollü çözelti ilave edilmiş 12,5 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti karışımı şahit çözelti olarak kullanılmıştır. Bu iki çözelti, 30 dak. sonra, incelenecek çözeltideki absorpsiyon 425 nm de şahite karşı okunmuştur [70].

**Aliminyum klorür çözeltisi:** 5 g. AlCl<sub>3</sub>, 100 ml metanoldeki çözeltisi

**Metanol glasiyal asetik asit çözeltisi:** 5 ml glasiyal asetik asit alınmış, metanolle 100 ml'ye tamamlanır.

**Hesaplama:** % hiperozit =  $2 \times E/T$

E: Analiz Çözeltisinin Ekstinksiyonu

T: g olarak tartım

### 3.3. Ekstrelerin Hazırlanması

0,2 g kuru drug bir erlene alınarak, metanol/su (50/50) karışımı ile ultrasonik banyoda 30 dakika tüketilmiştir. (Konsantrasyonu 10 mg/ml olan ekstreler elde edilmiştir). Bu şekilde elde edilen ekstre 0.45 µm membran filtreden geçirilerek, taze şekilde HPLC sistemine (10µl) verilmiştir [14]. Kalan ekstreler liyofilizatör yardımıyla liyofilize edilmiş, aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere saklanmıştır.

#### 3.3.1. Kullanılan aletler:

Geriçeviren soğutucu:

Su banyosu

Alçak basınç ile yoğunlaştırma (Rotavapor): BUCHİ (Vakum kontrol Ünitesi V-850, Vakum Pompası V-700, Rotasyon Ünitesi R-210, Su Banyosu B-491)

Ultrasonik banyo

Liyofilizasyon İşlemi: Labconco (Freeze Dry System LYPH-LOCK6) liyofilizatörü ile yapıldı

### 3.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile kimyasal içeriğin aydınlatılması

Çalışmanın bu kısmında *Crataegus peshmenii*, *C. petrodavisii* ve *C. christensenii* türlerinin yaprak ve olgunlaşmamış meyve kısımlarından belirtildiği şekilde hazırlanmış ekstrelerinin içerdiği fenolik asitlerden, klorojenik asit ve kafeik asit, flavonoidlerden viteksin, viteksin 4"-O-glukozit, viteksin 2"-O-glukozit, rutin, hiperozit, izokersetin, kempferol-3-glikozit, kersitrin, apigenin-7-glikozit, spireozit, luteolin, kersetin, apigenin ve kempferol bileşiklerinin varlıkları ve miktarları HPLC yöntemi ile karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir.

*Crataegus* türlerinde HPLC ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, en uygun çözücülerin metanol, orto-fosforik asit, asetonytril, su ve tetrahidrofuran olduğu belirlenmiştir.

Literatür çalışmaları yapılmış, farklı metotlar denenmiş ve en uygun sonuçları veren HPLC çalışması için metot geliştirilmiştir. Bu amaçla standart maddelerin metanoldeki farklı konsantrasyonları ACE C18 analitik kolonuna (250 × 4.6 mm, i.d., 5-µm) uygulanarak bu maddelerin kolondaki alıkonma zamanları belirlenmiş ve konsantrasyon aralıkları oluşturulmuştur. Hazırlanan ekstrelerin metanoldeki farklı konsantrasyonları kolona uygulanarak ön değerlendirmeler yapılmış ve her standart madde için ölçü eğrisi aralıkları ile her ekstre için ölçü eğrisinin orta noktasına denk gelecek şekilde en uygun konsantrasyonlar belirlenmiş, bu şekilde sonuçların doğruya en yakın olması sağlanmıştır. Standart maddelerin her konsantrasyonu ve her ekstrenin uygun konsantrasyonlarından 3'er deneme yapılarak ortalama değerler ve standart sapma değerleri saptanmıştır. Bu değerler matematiksel olarak doğruya en yakın olana kadar denemeler tekrarlanmıştır.

#### **3.4.1. HPLC Cihazının Özellikleri:**

HPLC yönteminde SCL-10A Shimadzu aletinden yararlanılmıştır. Kullanılan aletin çalışma koşulları ve özellikleri aşağıda belirtildiği şekildedir.

Pompa: LC-10 AD

Enjektör (Otomatik): SIL- 10 AD

Dedektör: SPD-m10A

Kolon: ACE 5 µm C18 (250 x 4,6 mm)

Kolon Fırını

#### **3.4.2. Fenolik Bileşikler için Çalışma Koşulları**

**Çözücü:** Metanol ( Standart Maddeler ve ekstrelerin hazırlanmasında kullanılmıştır )

**Mobil Faz:** Mobil Faz A: Orto fosforik asit/ Su (1/100 V/V)

Mobil Faz B: Tetrahidrofuran /Asetonytril (5/95 V/V)

**Kolon:** ACE 5 µm silika jel C18 (250 x 4,6 mm) (ACT: Advanced Chromatography Technologies)

**Dedektör Dalga Boyu:** Fenolik bileşikler için en uygun dalga boylarından 336 nm/360 nm

**Akış Hızı:** 1.2 ml /dak

**Kolon sıcaklığı:** 33 °C

**Enjeksiyon Hacmi:** 10µl

**Kullanılan Çözücüler:** Metanol (Merck 1.06007.2500), Asetonitril (1.00030.2500), Tetrahidrofuran (Sigma-Fluka 34865), orto-Fosforik asit (%85) (Fluka 79606), ultra saf su (Milli-Q). Kullanılan tüm çözücüler HPLC için uygun saflıktadır.

**Standart Maddeler :** Klorojenik asit (Sigma C3878)

Kafeik asit (Sigma C0625)

Viteksin 4"-O-glukozit (Sigma 43907)

Viteksin 2"-O-ramnozid (Sigma 55608)

Viteksin (Sigma 49513)

Rutin (Sigma R5143)

Hiperozit (Kersetin 3-D-galaktozit) (Sigma 83388)

İzokersetin (Kersetin 3β-D-glukozit) (Sigma 17793)

Kempferol 3-glikozit (Sigma 68437)

Kersitrin (Sigma 00740580)

Apigenin 7-glikozit (Sigma 44692)

Spireozit (Sigma 91802)

Luteolin (Sigma L9283)

Kersetin (Sigma Q4951)

Apigenin (Sigma 10798 )

Kempferol (Sigma 60010)

**Metot:** Tablo 3.1’de ayrıntıları verilen gradient sistem ile çalışılmıştır.

**Tablo 3-1. *Crataegus* türleri için HPLC’de kullanılan gradient yöntem**

Zaman (Dakika)	Mobil Faz A (% v/v)	Mobil Faz B (% v/v)
0-11	13	87
11-25	18	82
25-30	19	81
30-35	20	80
35-40	22	78
40-45	25	75
45-50	28	72
50-55	30	70
55-65	32	68
65-70	100	0
70	13	87

### 3.4.3. Ekstrelerin ve Örnek Çözeltilerin Hazırlanması

#### 3.4.3.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Standart maddeler metanol ile çözülüp, uygun konsantrasyonlara seyreltilmiş ve 0.45 µm’lik filtrelerden süzülerek viallere alınmıştır. Standart çözeltiler enjeksiyon öncesi taze ve 3 örnek olarak hazırlanmıştır.

#### 3.4.3.2. Ölçü Eğrisi Hazırlanması

Bölüm 3.4.3.1’de belirtildiği gibi hazırlanan standart çözeltilerin uygun dalga boyunda (336 nm veya 366 nm) saptanan piklerinin alanları hesaplanmıştır. Her çözelti 3 kez çalışılıp ve bu değerlerin ortalaması alınarak, ortalama pik alanlarına karşılık gelen konsantrasyon değerlerinden geçen ölçü eğrisi hazırlanmıştır.



### 3.5. Antiinflamatuvar ve Antioksidan aktivitenin *İn vitro* incelenmesi

#### 3.5.1. Araç ve Gereçler

- Mikropipet
- İnkübatör
- %95 O<sub>2</sub> + %5 CO<sub>2</sub> gaz karışım tüpü
- (-80) buzdolabı
- ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay )(DNM) Mikroplak okuyucu
- GraphPad Prism 4 istatistik programı

#### 3.5.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları

**Lipopolisakkarit (*Escherichia coli*):** Toz halde olan *Echerichia coli* bakterisinin lipopolisakkaritlerini içerir.

**RPMI 1640 Medium:** Sıvı halde olan, L-Glutamine, HEPES, Phenol Red içermeli ve hücre kültürüne uygun olmalıdır.

**Antibiyotik Antimikotik Solüsyon (PSA):** Ml'sinde 10,000 ünite penisilin, 10 mg streptomisin ve 25 µg amfoterisin B içeren ve hücre kültürüne uygun olan, sarı enkte ve süspansiyon halinde olmalıdır.

**Tümör nükleozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) ELISA kit:** 96 Testlik, %100 sıçan uyumlu.

**İnterlökin 1-beta (IL-1  $\beta$ ) ELISA kit:** 96 testlik, %100 sıçan uyumludur.

**Malondialdehit (MDA) ELISA kit:** 96 testlik, %100 sıçan uyumludur.

**Myeloperoksidaz (MPO) ELISA kit:** 96 testlik, %100 sıçan uyumludur.

#### 3.5.3. Kullanılan Kitler:

Çalışmada Rat TNF  $\alpha$  (eBioscience<sup>®</sup>), Rat IL-1 $\beta$  (eBioscience<sup>®</sup>), Rat MPO (SunRedBio<sup>®</sup>) ve Rat MDA (SunRedBio<sup>®</sup>) ELISA kitleri kullanılmıştır.

#### 3.5.4. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri :

Deneylede ağırlıkları 200-250 g arasında değişen erkek Wistar sıçanlar kullanılmıştır. Hafif ketamine ksilazin anestezisi bir kerelik uygulanarak ve bunu takiben

giyotinle öldürülen sıçanların torasik aortaları hızla ve özenle izole edilmiştir. Deneylede kullanılan sıçanlar İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Üretim Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Deneyle İ.Ü. Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu tarafından 29.07.2013 tarihli, 91 nolu etik krurul kararına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.5.5. Örneklerin Hazırlanması

ELISA ölçümlerinde kullanılmak üzere izole edilen sıçan torasik aortaları 24 saat 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> koşullarında inkübe edilmiştir. İnkübasyonda 70 mg/ml oranında RPMI besiyeri 100 ng/ml oranında PSA (Penisilin, Streptomisin, Amfoterisin) kullanılmıştır. Öncelikle izole sıçan aortaları 4 eşit parçaya bölünerek interlökin-1β (IL-1β, 10 ng/mL) ve lipopolisakkarid (LPS; 100 µg/mL) varlığında ve yokluğunda çalışılarak kontrol ve inflamasyon koşulları sağlanmıştır. *Crataegus* ekstresinin etkisi, inflamasyon oluşturulmuş grupta çalışılmıştır. *Crataegus* ekstresinin 2 farklı dozuyla (10µg/ml ve 50µg/ml) dokular inkübe edilmiştir. 24 saat inkübasyonun sonunda inkübasyon çözeltileri ve doku örnekleri -80°C'de depolanarak saklanmıştır. Çalışmada kullanılan doku, RPMI, PSA, LPS, IL-1β ve ekstre miktarları Tablo 3-2'de verilmiştir.

**Tablo 3-2. Çalışmada kullanılan doku, RPMI, PSA, LPS, IL-1β ve *Crataegus* ekstre miktarları**

	Doku	mg	RPMI	PSA	LPS	IL-1β	<i>Crataegus</i> Ekstre Miktarı
<b>Doku 1</b>	Kontrol	18	247	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	17,53	227	2	2	2	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	13,80	190	2	2	2	2 (10µg/ml)
<b>Doku 2</b>	Kontrol	13,66	187	2	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	19	261	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	18,6	255	3	3	3	3 (10µg/ml)
<b>Doku 3</b>	Kontrol	20	274	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	24,4	335	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	23,3	320	3	3	3	3 (10µg/ml)
<b>Doku 4</b>	Kontrol	20,06	275	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	23,8	326	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	24,4	335	3	3	3	3 (10µg/ml)

<b>Doku 5</b>	Kontrol	25	343	4	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	23	315	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	23	315	3	3	3	3 (10µg/ml)
<b>Doku 6</b>	Kontrol	18,5	254	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	23	315	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	23,8	326	3	3	3	3 (10µg/ml)
<b>Doku 7</b>	Kontrol	23,45	322	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	23,8	326	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	23,45	322	3	3	3	3 (10µg/ml)
<b>Doku 8</b>	Kontrol	20,56	282	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	20,7	284	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	22,25	305	3	3	3	3(10µg/ml)
<b>Doku 9</b>	Kontrol	27,63	379	4	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	20,53	278	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	20,38	279	3	3	3	3(10µg/ml)
<b>Doku 10</b>	Kontrol	56	768	8	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	15,1	207	2	2	2	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	20,6	283	3	3	3	3 (10µg/ml)
<b>Doku 11</b>	Kontrol	19,1	262	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	29,8	409	4	4	4	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	35,88	492	5	5	4	5(10µg/ml)
<b>Doku 12</b>	Kontrol	20,4	280	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	30,16	414	4	4	4	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	26,61	365	4	4	4	4(10µg/ml)
<b>Doku 13</b>	Kontrol	22,7	311	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	22,8	313	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	28,12	386	4	4	4	4 (10µg/ml)
<b>Doku 14</b>	Kontrol	17,4	239	2	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	22,6	310	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	39,08	544	6	6	8	4(10µg/ml)
<b>Doku 15</b>	Kontrol	18,68	257	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	22	305	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	26,23	345	4	4	4	19 (50µg/ml)
<b>Doku 16</b>	Kontrol	16,1	228	2	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	21,4	297	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	19	250	3	3	3	14(50 µg/ml)
<b>Doku 17</b>	Kontrol	18,2	257	3	-	-	-

	Kontrol+Inflamatuar	22,1	306	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	20,1	264	3	3	3	14 (50µg/ml)
<b>Doku 18</b>	Kontrol	16,13	212	2	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	12,2	169	2	2	2	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	17,64	232	3	3	3	13 (50µg/ml)
<b>Doku 19</b>	Kontrol	18,1	256	3	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	21,5	299	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	20,15	265	3	3	3	14 (50µg/ml)
<b>Doku 20</b>	Kontrol	26,2	371	4	-	-	-
	Kontrol+Inflamatuar	23,41	324	3	3	3	-
	<i>Crataegus</i> Ekstresi+ Inflamatuar	28,85	379	4	4	4	21 (50µg/ml)

İnkübasyon çözeltisine salıverilen Tümör Nekroz Faktör  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), İnterlökin 1-beta (IL-1 $\beta$ ), Malondialdehit (MDA) ve Myeloperoksidaz (MPO) düzeyleri spesifik ELISA kitleri aracılığıyla ELISA okuyucusu ile analiz edilmiştir.

İstatistiksel analizler için Graph Pad istatistik programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların [Ortalama (X), Standart hata (SEM)] yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Tek yönlü ANOVA ve post hoc TUKEY testi kullanılmıştır. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirilmiştir.

### 3.5.6. Standartların hazırlanması:

Tüm kit standartları (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MDA, MPO) etiketinde verilen miktarlarla eşit miktarda olacak şekilde distile su ilave edilerek seyreltilmiştir. Seyreltilen her standart 10-30 dakika dinlendirilmiştir. Karışımın ve çözünürlüğün homojen olabilmesi için dikkatli bir şekilde karıştırılmıştır.

Standartların başlangıç konsantrasyonları:

Rat TNF- $\alpha$  : 5000 pg /ml

Rat IL-1 $\beta$  : 4000 pg/ml

Rat MDA: 80 nmol/ml

Rat MPO : 64 ng/ml

Standartların seyreltmeleri direkt olarak mikrokuyucuklarda yapılmıştır.

### **Solüsyonların Hazırlanması:**

Bütün solüsyonların konsantre halleri oda ısısına getirilip, hazırlanma aşamasına getirilmiştir.

- **Yıkama Tamponu**

Konsantre haldeki tampondan 50 ml, 1000 ml'lik mezüre alınıp, distile su ilave edilerek 100 ml'ye tamamlanmıştır.

- **Test Tamponu**

Konsantre haldeki tampondan 5 ml alınarak 100'lük mezüre alınıp, distile su ilave edilerek 100 ml'ye tamamlanmıştır.

- **Biotin-Konjugat**

Kitte yer alan Biotin-Konjugatı, 1:100 oranında, önceden hazırlanmış test tampon yardımıyla seyreltilmiştir. Buna göre 0.03 ml Biotin-Konjugatından alınmış, 2.97 ml Test tamponundan alınmıştır. Seyreltme işlemi yapıldıktan 30 dak. sonra kullanılmıştır.

- **Streptavidin –HRP**

Streptavidin –HRP solüsyonu için yine test tampon ile seyreltme yapılmaktadır İşlem 1:100 oranında seyreltme yapılmıştır (IL-1 $\beta$  1:200) . Buna göre 0.06 Streptavidin-HRP için 5.95 ml test tampon kullanılmıştır (IL-1 $\beta$  için 0.03ml Streptavidin-HRP, 5.97 ml test tampon). Seyreltme işlemi yapıldıktan 30 dak. sonra kullanılmıştır.

### **3.5.7. Test Protokolü:**

Örnekler, kör ve standartları çalışılabilme için gerekli olan kuyucuk sayısına göre kullanılacak mikrokuyucuk striplerinin sayısı hesaplanılmıştır. Her örnek, standart, kör ve opsiyonel kontrol örneği iki kez test edilmiştir. Ekstra mikrokuyucuk stripleri tutucudan çıkartılarak 2-8 °C'de folyo içerisinde saklanmıştır.

Mikrokuyucuk stripleri her kuyuya, yaklaşık 400  $\mu$ l yıkama tamponu ile 2 kez yıkanmış, son yıkanma işleminden sonra kuyucuklar boşaltılmıştır.

Standart seyreltme: Tüm standart kuyucuklarına 100  $\mu$ l seyreltici eklenmiştir. Hazırlanan standarttan da 100  $\mu$ l A1 ve A2 kuyucuklarına ilave edilmiştir..A1 ve A2 kuyucuklardaki içerikler havalandırıp-püskürtme usulüyle tekrar karıştırılmıştır. Bunlardan alınan 100 $\mu$ l B1 ve B2 kuyucuklarına alınmıştır. İşlem bu şekilde 5 kez tekrar edilerek seyreltme işlemi tamamlanmıştır. Buna göre en sonda elde edilen G1-G2

kuyucuklarından alına 100 µl dışarı atılmıştır. Oluşan bu 6 örneğe ek, bir de boş kuyucuk kullanılmıştır.

Daha sonra örnek seyreltiden boş kuyucuklara 100 µl, örnek kuyucuklara 50 µl ilave edilmiştir. Her örnekten örnek kuyucuklara 50 µl daha ilave edilmiştir. 50 µl biotin konjugatından ilave edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan, kuyucukların üzerleri yapışkan bir film ile kapatılarak oda sıcaklığında 2 saat boyunca, mümkünse çalkalayıcıda (400 rpm) inkübe edilmiştir. Ardından film kaldırılarak kuyucuklar boşaltılmış, mikrokuyucuk stripleri tampon çözeltiyle yıkanmış bir sonraki aşamaya geçilmiştir. Bütün kuyucuklara hazırlanan Streptavidin-HRP 'den 50 µl eklenmiş, üzeri tekrar yapışkan film ile kaplanarak bu kez oda sıcaklığında 1 saat, mümkünse çalkalayıcıda (400 rpm) inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda film kaldırılarak, kuyucuklar boşaltılmış, stripler 3-4 kez tampon çözeltiyle yıkanıp, bir sonraki aşamaya geçilmiştir. Bu sefer tüm kuyucuklara 100 µl TMB (Tetra metil benzidin ) substratı ilave edilip, oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir. Plakadaki renk değişimleri izlenerek deney için uygun noktaya gelindiğinde her kuyuya 100 µl durdurucu solüsyon ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur.

Sonuçlar ya durdurucu solüsyon ilavesinden hemen sonra ya da 2-8 °C karanlıkta maksimum 1 saat bekletildikten sonra, spektrofotometrede, ana dalga boyu 450 nm olacak şekilde absorbansına bakılmak suretiyle alınmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Fitokimyasal Ön Denemeler

Bölüm 3.2.1’de anlatıldığı üzere yapılan fitokimyasal ön denemeleri neticesinde çalışılan türlerde, flavon teşhisi, antrasen teşhisi, tanen teşhisi, saponin teşhisi ve alkaloid teşhisi yapılmıştır. Bu denemelerin sonuçları aşağıda tablo halinde verilmiştir.

**Tablo 4-1. Fitokimyasal ön deneme sonuçları**

		Flavon Teshisi	Antrasen Teşhisi	Tanen Teşhisi			Saponin Teşhisi	Alkaloid Teşhisi
				Tanen T.	Gallik T. T.	Kateşik T.T.		
<i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i>	Yaprak	+++	-	+	-	+	+	-
	Meyve	++	-	+	-	+	+	-
<i>C. christensenii</i>	Yaprak	+	-	+	-	+	+	-
	Meyve	+	-	+	-	+	+	-
<i>C. peshmenii</i>	Yaprak	+++	-	+	-	+	+	-
	Meyve	++	-	+	-	+	+	-
<i>C. petrodavisii</i>	Yaprak	++	-	+	-	+	+	-
	Meyve	+	-	+	-	+	+	-

### 4.2. Miktar Tayini Sonuçları

#### 4.2.1. Kül ve Su Miktar Tayini Sonuçları

Yapılan kül ve su miktar tayini sonuçları aşağıda verilen tablodaki gibidir.

**Tablo 4-2. Kül ve su miktar tayini sonuçları**

		Kül Miktar Tayini (%)	Su Miktar Tayini (%)
<i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i>	Yaprak	9,12	5,47
	Meyve	9,64	8,47
<i>C. christensenii</i>	Yaprak	9,05	5,75
	Meyve	9,59	6,03
<i>C. peshmenii</i>	Yaprak	8,94	5,76
	Meyve	9,59	5,56
<i>C. petrodavisii</i>	Yaprak	8,99	4,39
	Meyve	9,56	5

#### 4.2.2. Total Flavonoit Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.2.3’de anlatılan flavonid miktar tayinini neticesinde türlerin flavonoit miktar tayinleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

**Tablo 4-3. Total Flavonoit miktar tayini sonuçları**

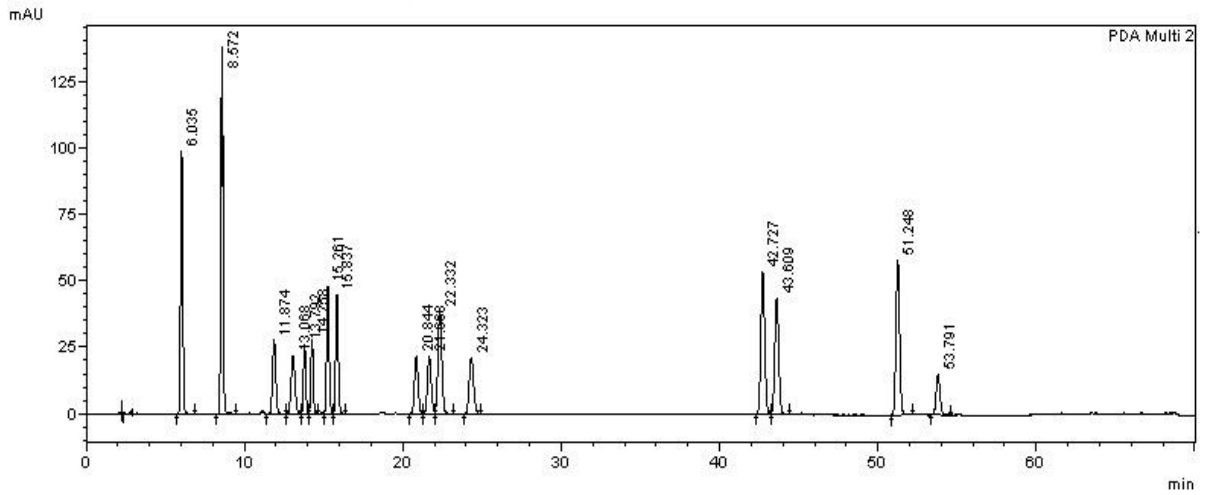
Bitki	Kısım	Flavonoit Miktar Tayini (%)
<i>C. petrodavisii</i>	Yaprak	1,61
	Meyve	0,18
<i>C. christensenii</i>	Yaprak	1,69
	Meyve	0,16
<i>C. peshmenii</i>	Yaprak	1,82
	Meyve	0,21
<i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i>	Yaprak	1,26
	Meyve	0,31

Yapılan total flavonoit miktar tayini sonuçları değerlendirildiğinde, *Crataegus peshmenii* türünün yaprak ekstresinin en yüksek oranda flavonoit içerdiği görülmüştür. Bu amaçla araştırmanın farmakolojik kısmında bu ekstre üzerine çalışılmaya karar verilmiştir. Bu durum yapılan yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile ekstrelerin içeriği; klorojenik asit, kafeik asit, vitesin, vitesin 2"-O rhamnozid, vitesin 4"-O glikozit, rutin, hiperozit, izokersetin, apigenin-7-glikozit, kersitrin, kempferol-3-glikozit, spirozit, luteolin, kersetin, apigenin ve kempferol içeriği açısından incelenmesi ile de ortaya konulmuştur.

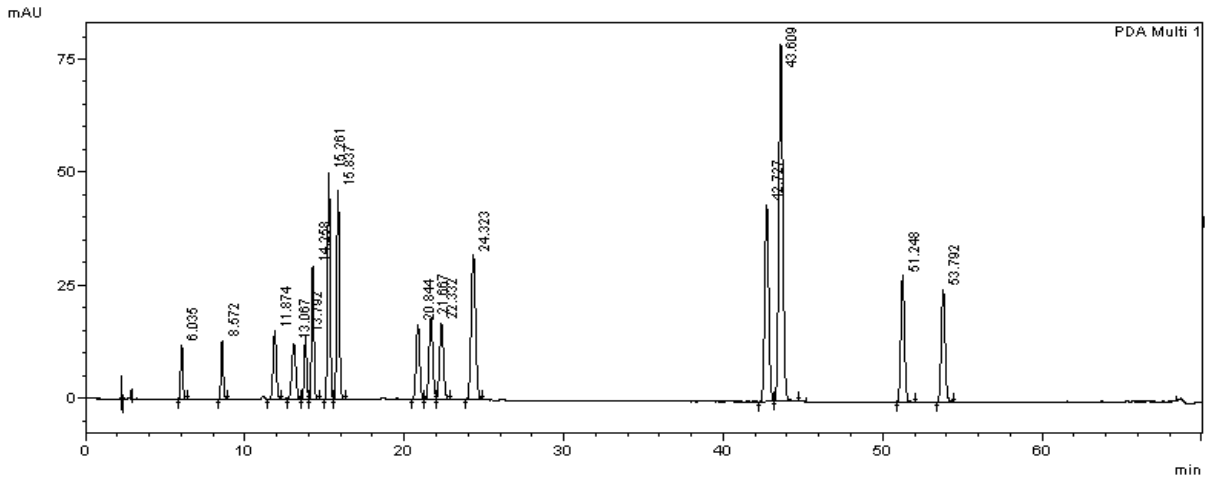


### 4.3. HPLC İle Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları

Çalışılacak standartlar olan fenolik asitlerden, klorojenik asit ve kafeik asit, flavonoidlerden viteksin, viteksin 4"-O glukozit, viteksin 2"-O glukozit, rutin, hiperozit, izokersetin, kempferol 3 glikozit, kersitrin, apigenin 7 glikozit, spireozit, luteolin, kersetin, apigenin ve kempferol'in her birinden bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi 0.4 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmış ve bu standart çözeltilerinin herbirinden eşit miktarda alınarak, başlangıç konsantrasyonu her bir standart madde için 0.025 mg/ml konsantrasyonda karışımı hazırlanmıştır. Bu karışımdan 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edilmiştir. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak HPLC cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanılmıştır. Kolona enjekte edilen standartların retansiyon zamanları belirlenmiştir. Standart karışımına ait kromatogramlar (Şekil 4-1 ve Şekil 4-2 ), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-18) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4-1. Standart karışımına ait LC spektrum (336 nm)



Şekil 4-2. Standart karışımına ait LC spektrum (366 nm)

Tablo 4-4. Çalışılan standartların retansiyon zamanları ve çalışılan dalga boyları

Standart	Retensiyon Zamanı (dk)	nm
Klorojenik asit (KlAs)	6.035	336
Kafeik asit (KfAs)	8.572	336
Viteksin-4"-O-glikozit (Vit4OG)	11.874	336
Viteksin-2"-O-ramnozid (Vit2OR)	13.067	336
Viteksin (VİT)	13.792	336
Rutin (RUT)	14.358	366
Hiperözit (HİP)	15.261	336
İzokersetin (İZOQ)	15.837	336
Kempferol 3-glikozit (Kemp3G)	20.844	366
Kersitrin (KRSTRN)	21.667	336
Apigenin 7-glikozit (APG7G)	22.332	336

---

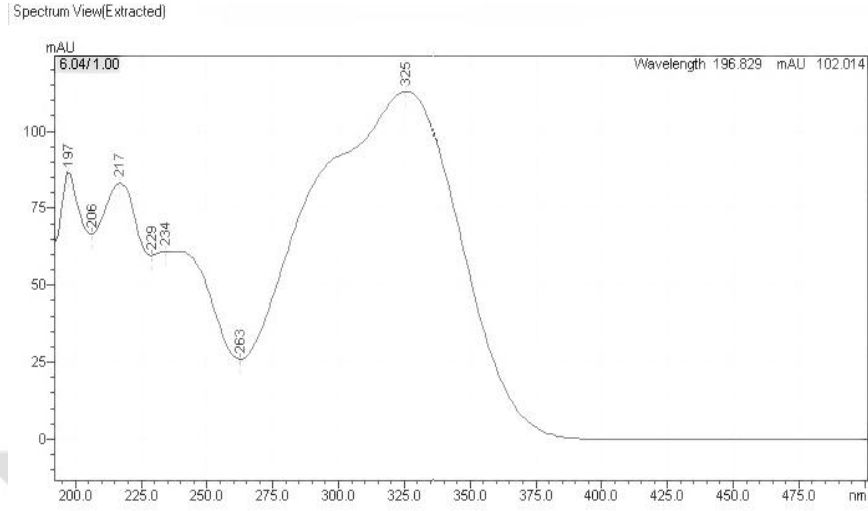
Siperozit (SP)	24.323	366
Luteolin (LUT)	42.727	336
Kersetin (KER)	43.609	366
Apigenin (APG)	51.248	336
Kempferol (KEMP)	53.792	366

---



### 4.3.1. Standartların Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması

#### 4.3.1.1. Klorojenik asit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

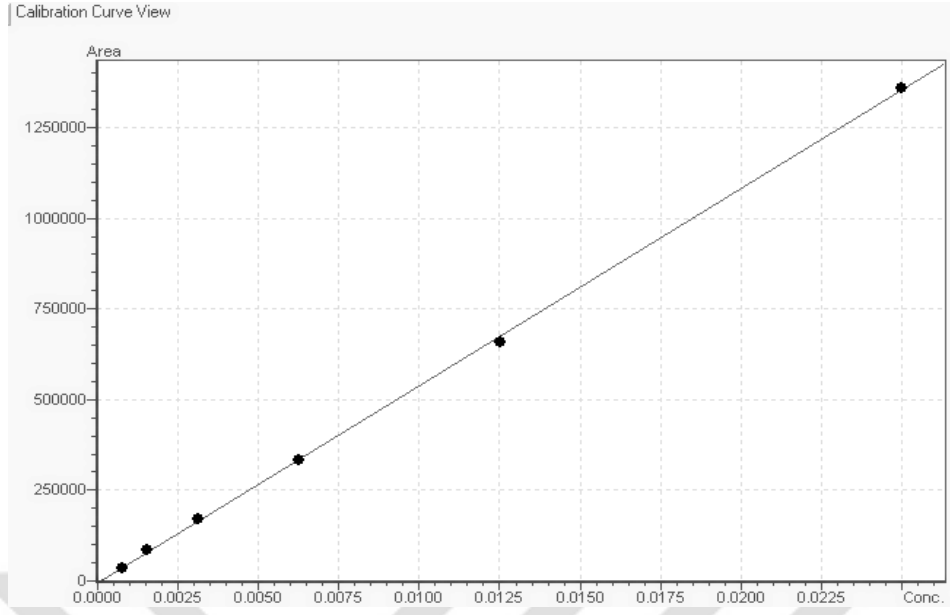


Şekil 4-3. Klorojenik asit UV kromatogramı

Tablo 4-5. Klorojenik asit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	1360547	18167,28	1,335262
0,0125000	658851	50871,08	7,721185
0,0062500	334543	38777,44	11,59115
0,0031250	171929	12245,49	7,122427
0,0015625	84920	2167,806	2,55276
0,0007813	33733	1832,766	4,433091

Bu değerler esas alınarak klorojenik asit standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-4).



**Şekil 4-4. Klorojenik asit standartına ait ölçü eğrisi**

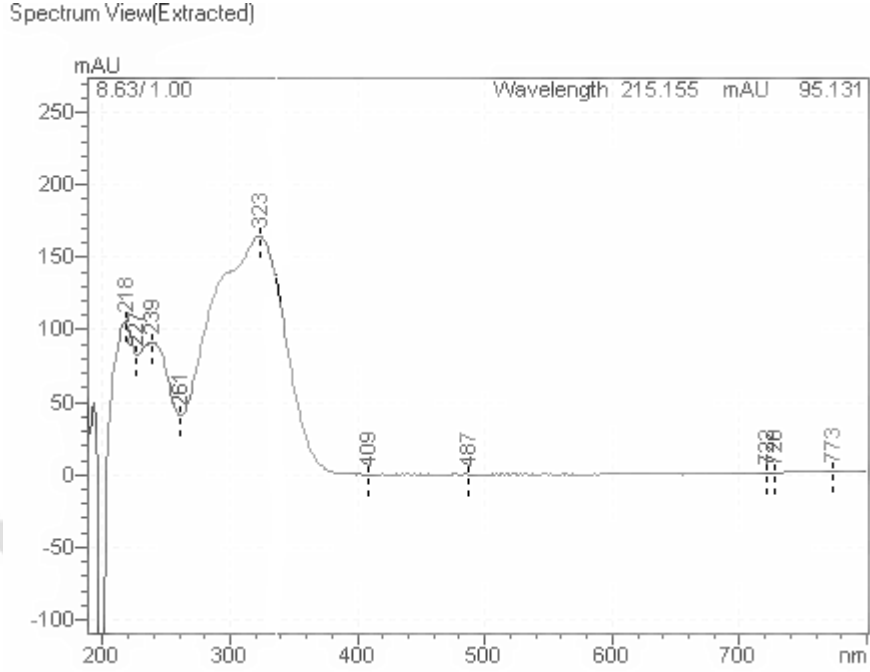
Hesaplanan doğru denklemi:

$$y = 5,436453e + 007x + 5205,18$$

$$R^2 = 0,9997$$

$$R = 0,9998$$

### 4.3.1.2. Kafeik asit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

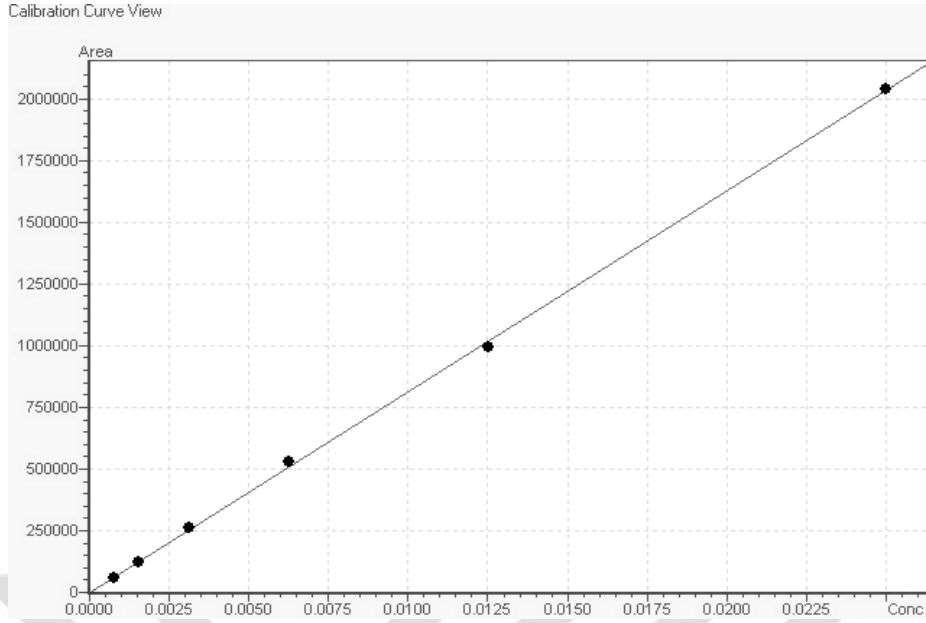


Şekil 4-5. Kafeik asit standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-6. Kafeik asit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	2042193	59333,82	2,905397
0,0125000	990848	4716,015	0,4759577
0,0062500	528770	24849,51	4,699490
0,0031250	258699	2952,090	1,141131
0,0015625	124814	1393,393	1,116376
0,0007813	55353	688,6967	1,244180

Bu değerler esas alınarak kafeik asit standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-6).



Şekil 4-6. Kafeik asit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Hesaplanan doğru denklemleri:

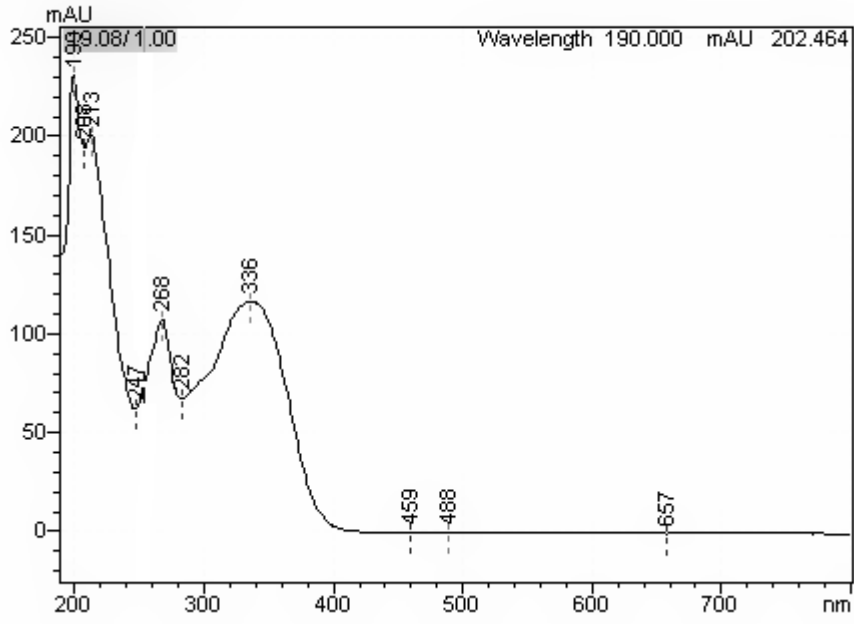
$$y = 8,145162e+007x + 1378,267$$

$$R^2 = 0,9996$$

$$R = 0,9998$$

### 4.3.1.3. Viteksin-4''-O-glikozit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Spectrum View(Extracted)



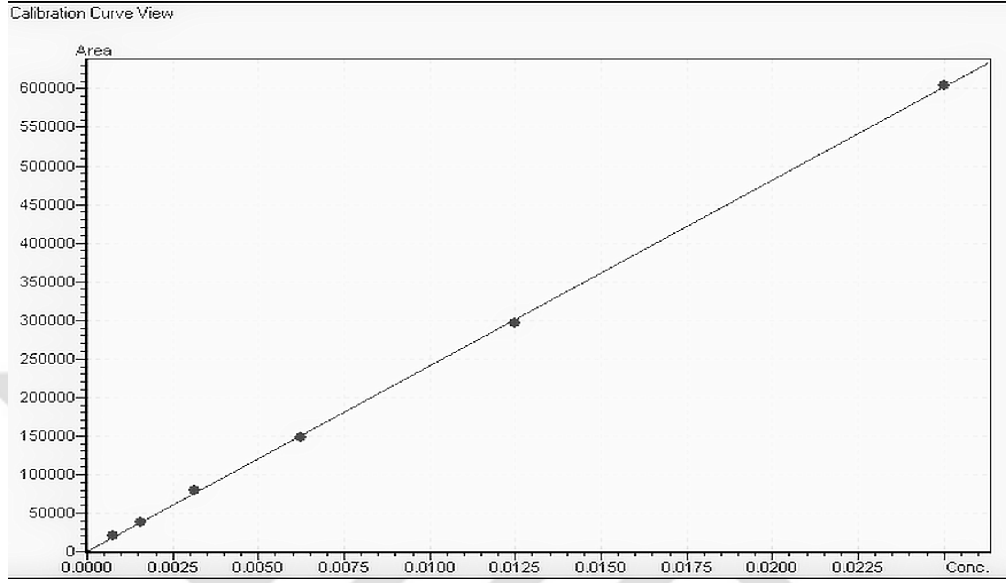
Şekil 4-7. Viteksin-4''-O-glikozit standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-7. Viteksin-4''-O-glikozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	605016	23392,67	3,866453
0,0125000	295789	5129,458	1,734162
0,0062500	148278	3084,162	2,079980
0,0031250	79936	6338,235	7,929145
0,0015625	37730	483,3159	1,280997
0,0007813	20101	772,9959	3,945573



Bu değerler esas alınarak viteksin-4"-O-glikozit standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-8).



Şekil 4-8. Viteksin-4''-O-glikozit standartına ait ölçü eğrisi

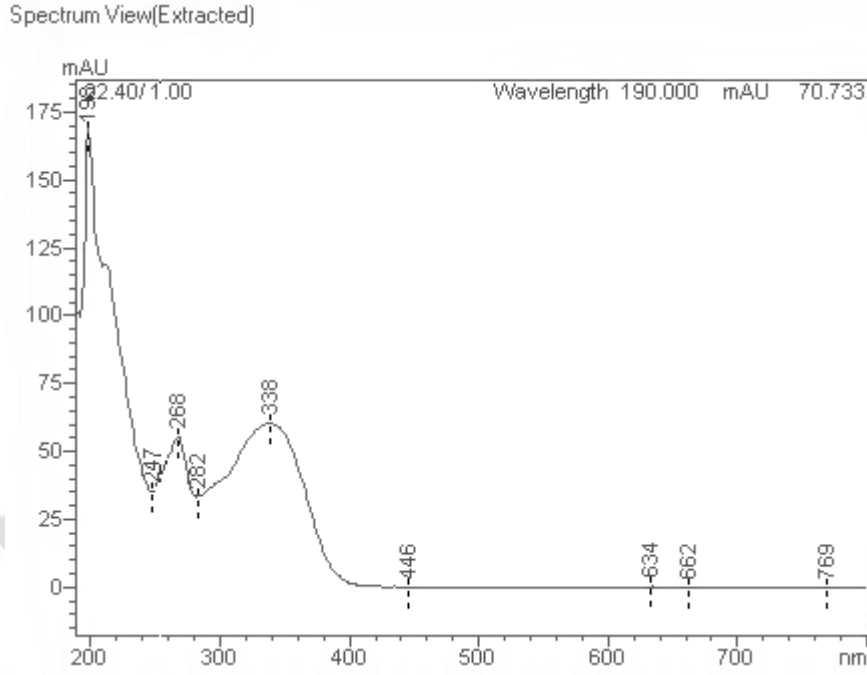
Hesaplanan doğru denklemi:

$$y=2,407664e+007x+304,6545$$

$$R^2=0,9997$$

$$R=0,9999$$

#### 4.3.1.4. Viteksin-2''-O-ramnozid Ölçü Eğrisi Hazırlanması

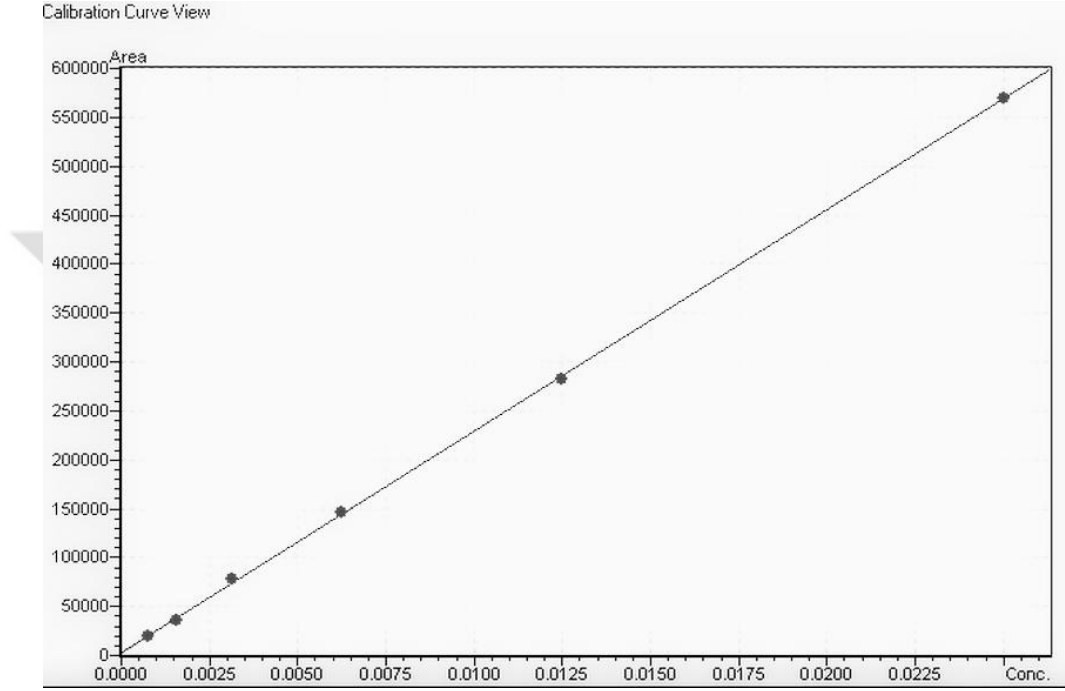


Şekil 4-9. Viteksin-2''-O-ramnozid standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-8. Viteksin-2''-O-ramnozid standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	570278	16263,11	2,851785
0,0125000	282814	8544,323	3,021183
0,0062500	146169	1,255821	8,591591e-0
0,0031250	77158	7720,922	10,00661
0,0015625	36390	1059,904	2,912629
0,0007813	19380	608,7697	3,141161

Bu değerler esas alınarak viteksin-2''-O-ramnozit standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-10).



Şekil 4-10. Viteksin-2''-O-ramnozit standartına ait ölçü eğrisi

Hesaplanan doğru denklemi:

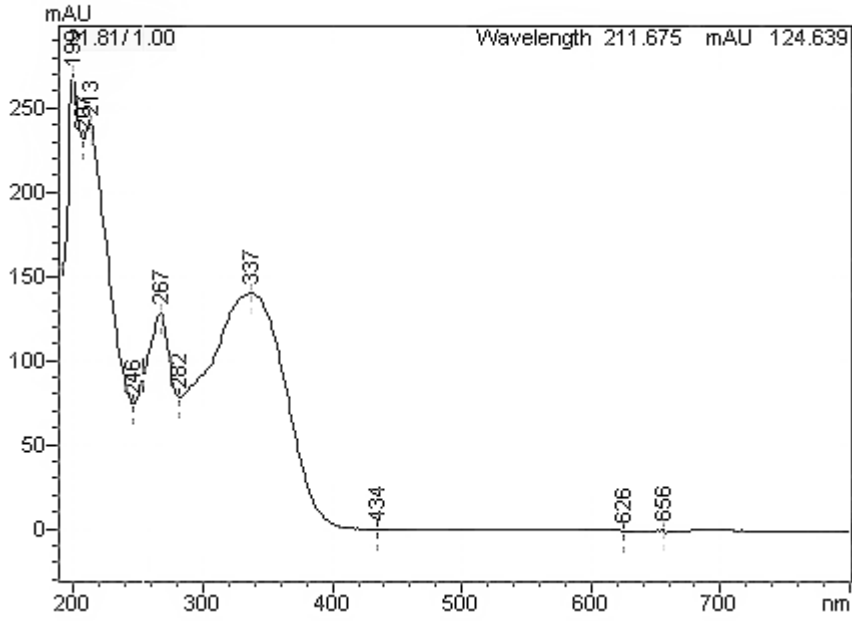
$$y=2,266352e+007x+2786,535$$

$$R^2=0,9999$$

$$R=0,9999$$

### 4.3.1.5. Viteksin Ölçü Eğrisi Hazırlanması

Spectrum View(Extracted)

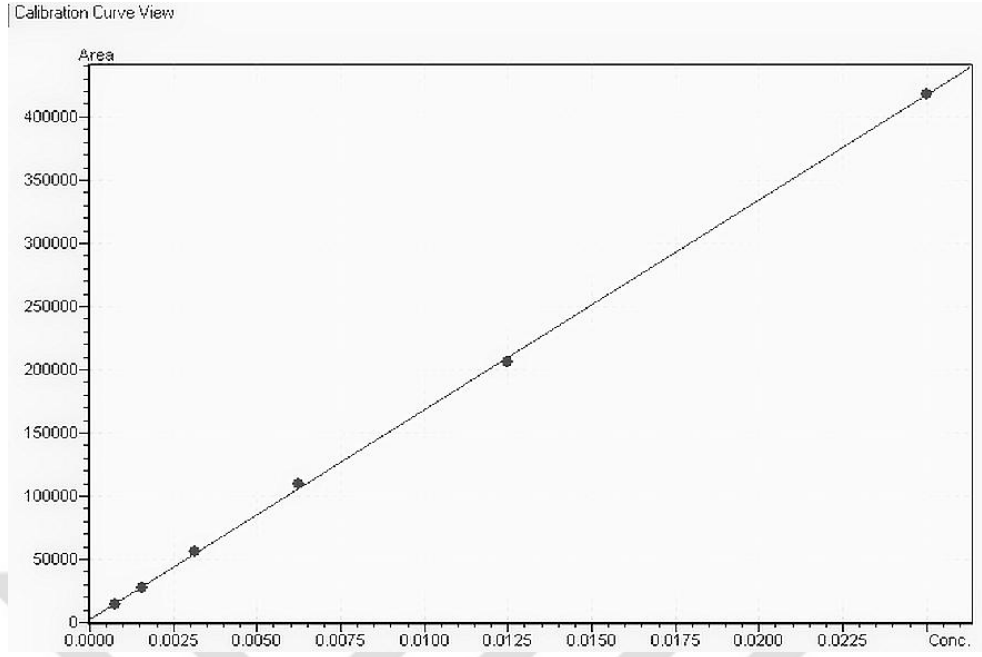


Şekil 4-11. Viteksin standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-9. Viteksin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	418319	12492,87	2,986445
0,0125000	206242	5845,136	2,834109
0,0062500	109842	14544,04	13,24093
0,0031250	55470	811,5743	1,463096
0,0015625	27316	1652,421	6,049320
0,0007813	14322	356,2755	2,487668

Bu değerler esas alınarak viteksin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-12).



**Şekil 4-12. Viteksin standartına ait ölçü eğrisi**

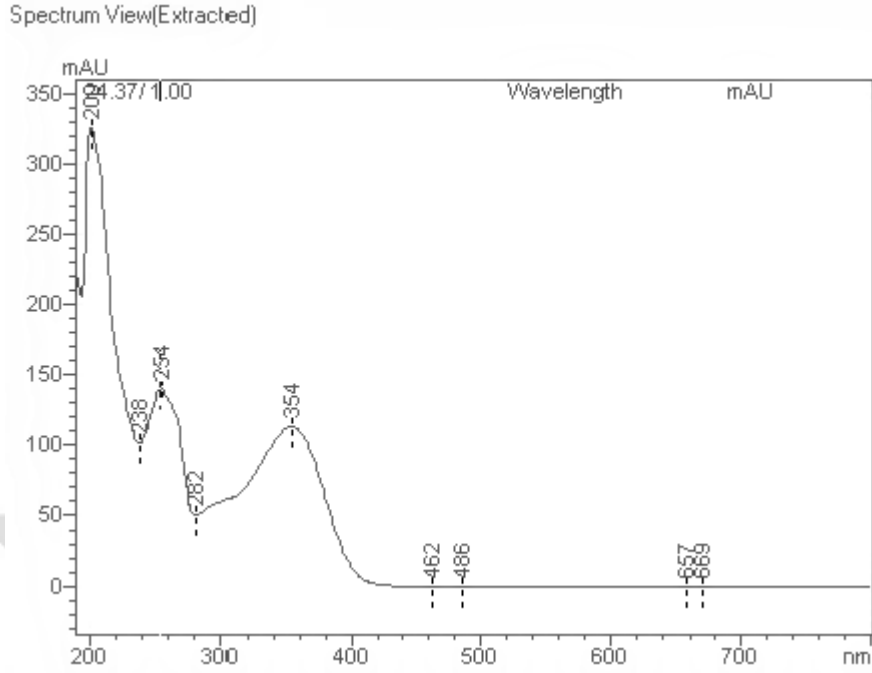
Hesaplanan doğru denklemleri:

$$y=1,660233e+007x42394,034$$

$$R^2= 0,9997$$

$$R= 0,9999$$

#### 4.3.1.6. Rutin Ölçü Eğrisi Hazırlanması

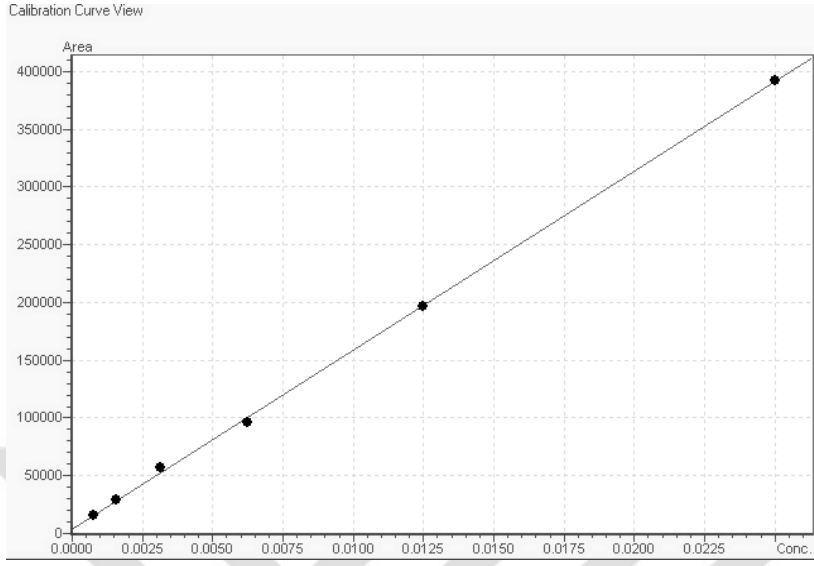


Şekil 4-13. Rutin standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-10. Rutin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	392700	82937,75	21,11990
0,0125000	196135	11378,85	5,801550
0,0062500	95831	13073,11	13,64182
0,0031250	57384	1939,726	3,380252
0,0015625	28518	158,2482	0,5549023
0,0007813	15228	528,1422	3,468160

Bu değerler esas alınarak rutin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-14).



**Şekil 4-14. Rutin standartına ait ölçü eğrisi**

Hesaplanan doğru denklemi:

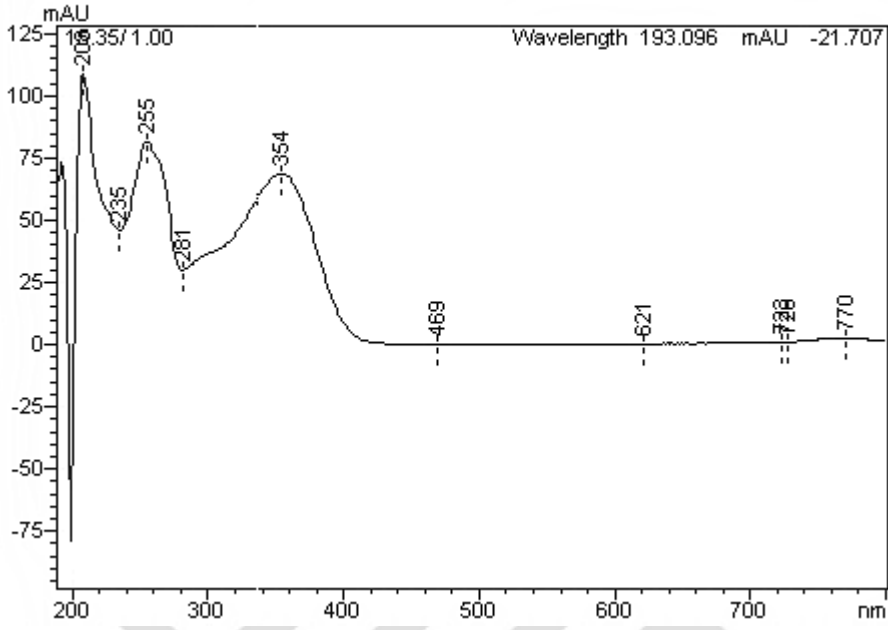
$$y=155058e+007x+3769,967$$

$$R^2=0,9995$$

$$R= 0,9997$$

#### 4.3.1.7. Hiperozit Ölçü Eğrisi Hazırlaması

Spectrum View(Extracted)



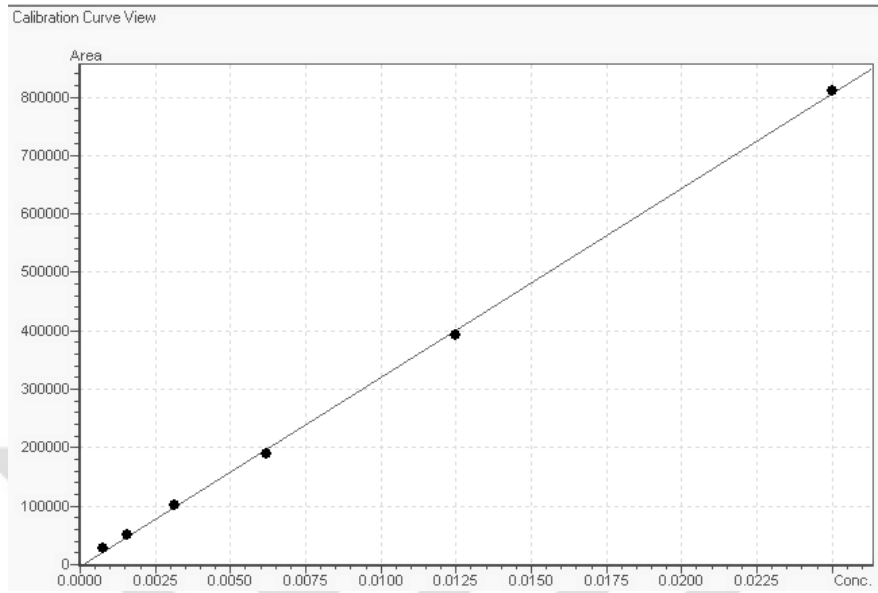
Şekil 4-15. Hiperozit standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-11. Hiperozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	811734	2317,948	0,2855552
0,0125000	391666	10483,26	2,6765583
0,0062500	189310	9072,431	4,792366
0,0031250	101801	2951,694	2,899474
0,0015625	50262	842,8565	1,676938
0,0007813	26834	648,1186	2,415330



Bu değerler esas alınarak hiperozit standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-16).



Şekil 4-16. Hiperozit standartına ait ölçü eğrisi

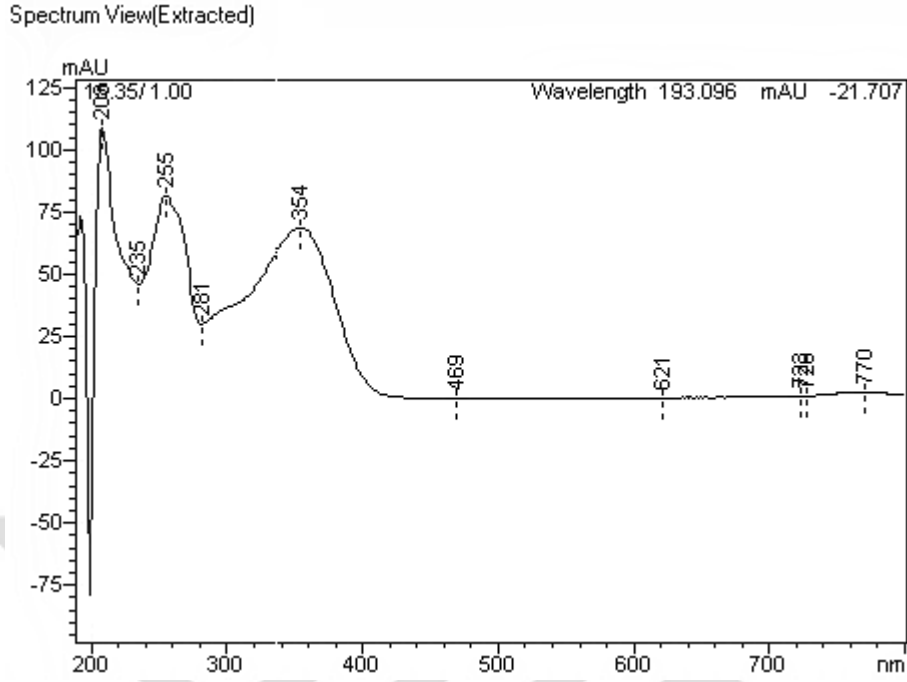
Hesaplanan doğru denklemi:

$$y=3,236078e+007-3255,513$$

$$R^2=0,9995$$

$$R=0,9997$$

#### 4.3.1.8. İzokersetin Ölçü Eğrisi Hazırlanması

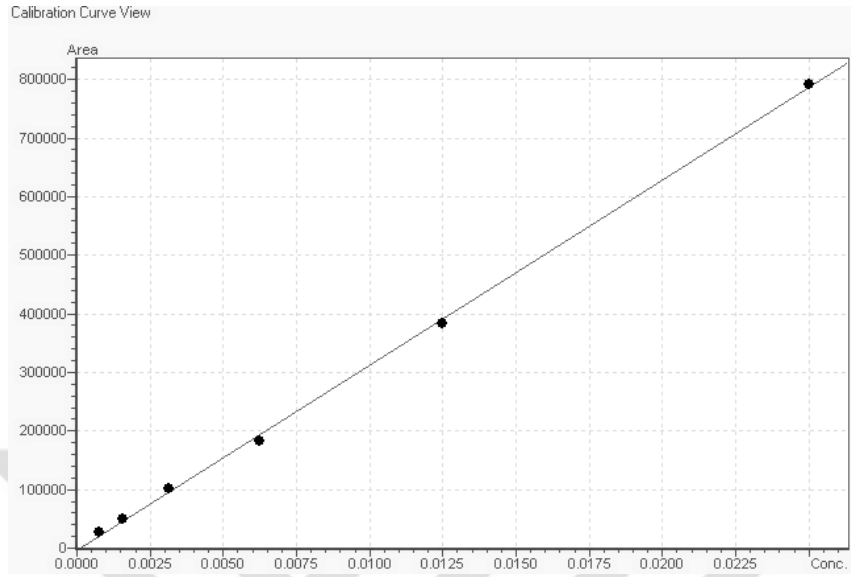


Şekil 4-17. İzokersetin standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-12. İzokersetin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	792644	10927,80	1,378652
0,0125000	383111	17277,35	4,509798
0,0062500	182334	11526,77	6,321795
0,0031250	100395	2717,147	2,706469
0,0015625	49279	383,0865	0,7773903
0,0007813	26151	582,1798	2,226257

Bu değerler esas alınarak izokersetin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-18).



Şekil 4-18. İzokersetin standartına ait ölçü eğrisi

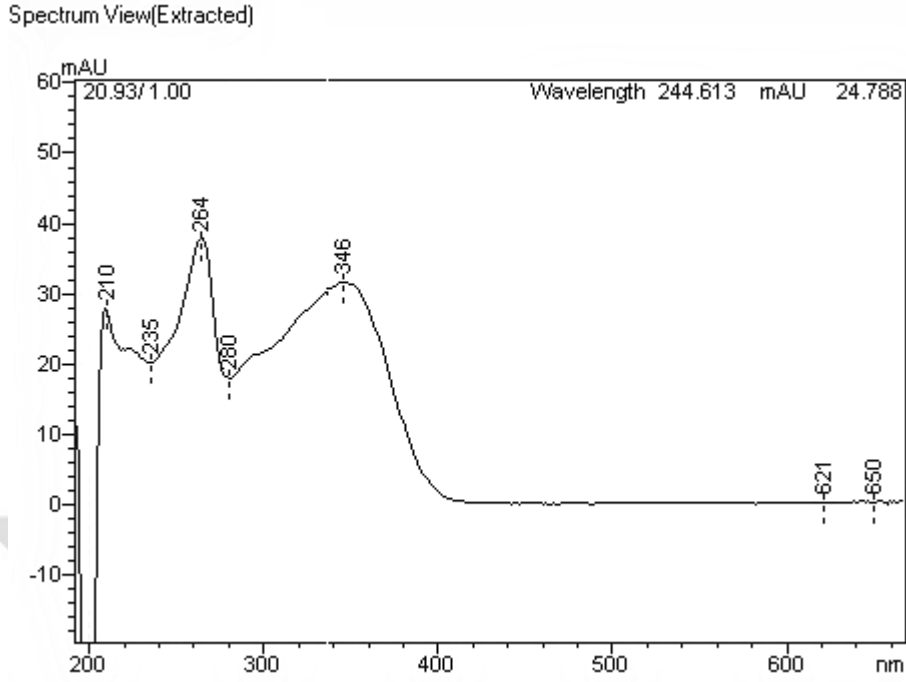
Hesaplanan doğru denklemi:

$$y=3,161018e+007x-3650,196$$

$$R^2=0,9993$$

$$R=0,9996$$

#### 4.3.1.9. Kempferol 3-glikozit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

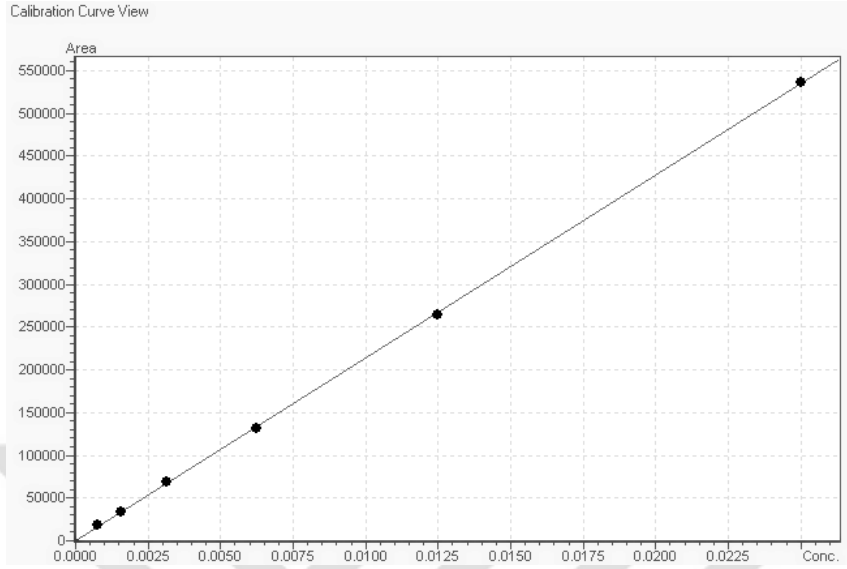


Şekil 4-19. Kempferol 3-glikozit standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-13. Kempferol 3-glikozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	536916	6823,517	1,270873
0,0125000	264580	11772,90	4,449656
0,0062500	130837	3283,860	2,509892
0,0031250	68950	516,4534	0,7490288
0,0015625	33629	798,9368	2,375743
0,0007813	18668	519,5216	2,782912

Bu değerler esas alınarak kempferol 3-O-glikozit standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-20).



**Şekil 4-20. Kempferol 3- glikozit standartına ait ölçü eğrisi**

Hesaplanan doğru denklemi:

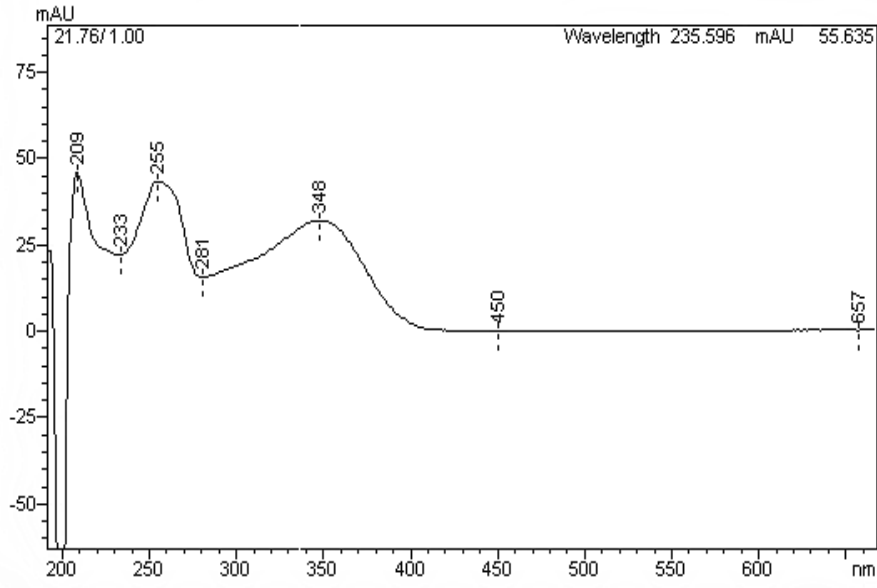
$$y=3,161018e+007x-3650,196$$

$$R^2=0,9993$$

$$R=0,9996$$

#### 4.3.1.10. Kersitrin Ölçü Eğrisi Hazırlanması

Spectrum View[Extracted]

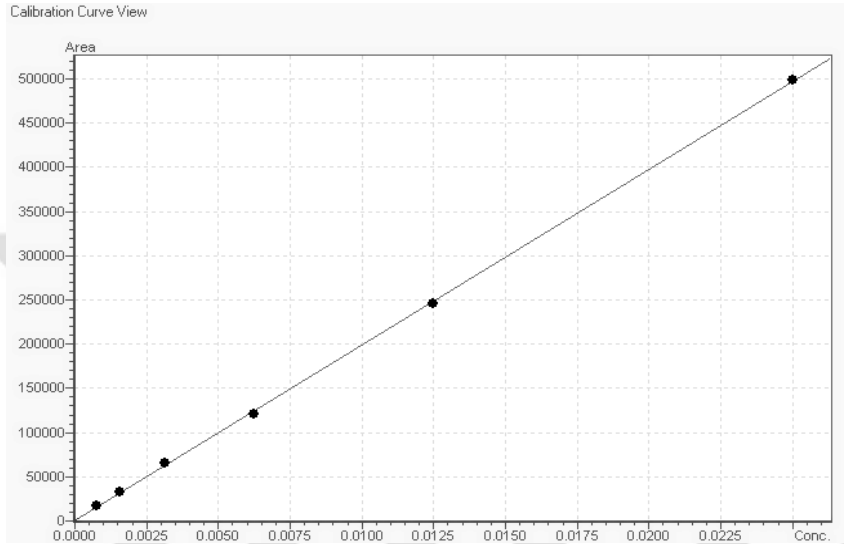


Şekil 4-21. Kersitrin standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-14. Kersitrin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	499282	10066,93	2,016280
0,0125000	245097	11665,51	4,759550
0,0062500	121231	9141,513	7,965254
0,0031250	65588	5222,722	0,53750007
0,0015625	32206	670,0881	2,080623
0,0007813	17411	683,9807	3,928376

Bu değerler esas alınarak kersitrin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-22).



Şekil 4-22. Kersitrin standartına ait ölçü eğrisi

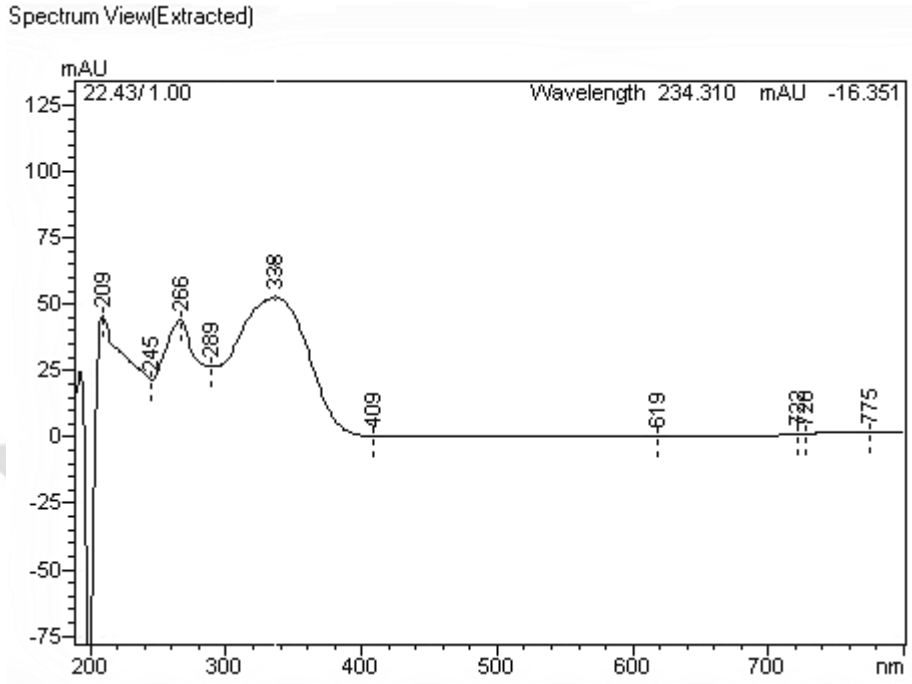
Hesaplanan doğru denklemi:

$$y=1,983189e+0,07x$$

$$R^2=0,9994$$

$$R =0,9997$$

#### 4.3.1.11. Apigenin 7 glikozit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması



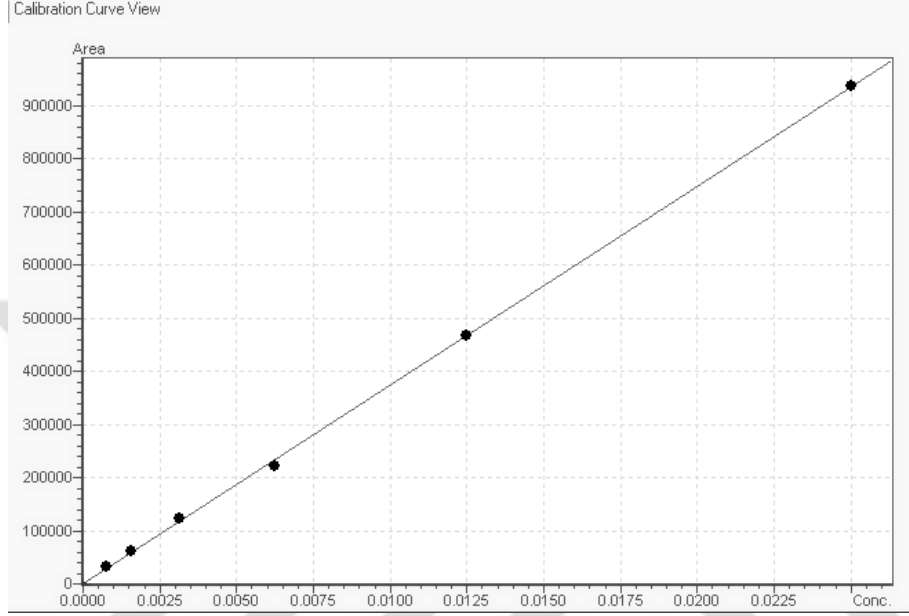
Şekil 4-23. Apigenin 7 glikozit standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-15. Apigenin 7 glikozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	937969	31414,98	3,3449256
0,0125000	466821	20086,56	4,302842
0,0062500	220699	19801,22	8,972032
0,0031250	122515	1851,819	1,511500
0,0015625	61145	407,7430	0,6668435
0,0007813	33199	896,6288	2,700766



Bu değerler esas alınarak apigenin 7-glikozit standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemleri belirlenmiştir (Şekil 4-24).



Şekil 4-24. Apigenin 7-glikozit standartına ait ölçü eğrisi

Hesaplanan doğru denklemleri:

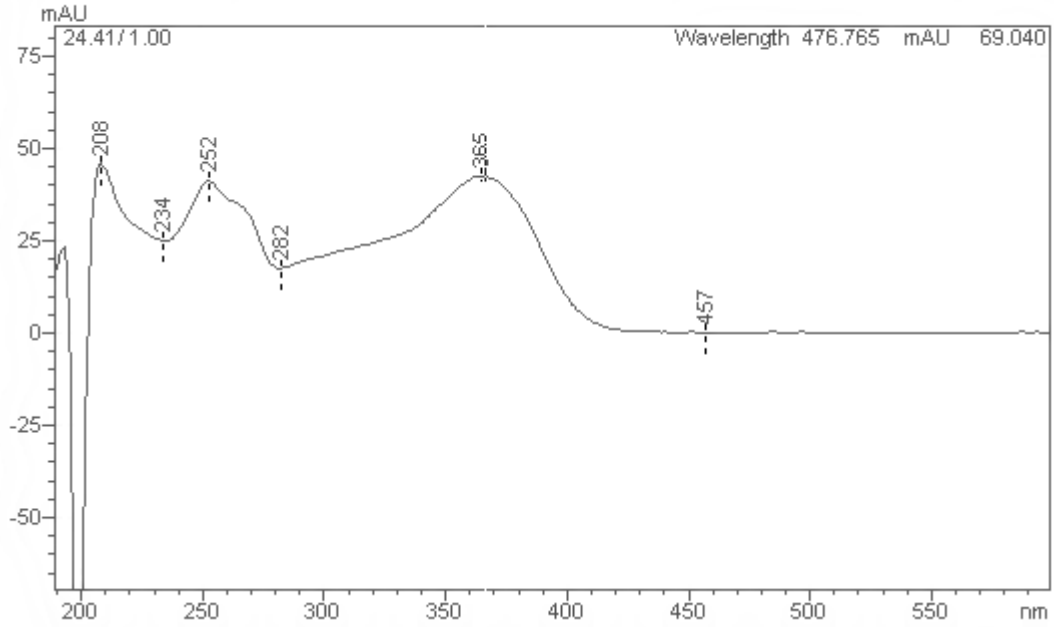
$$y=3,739132e+007x$$

$$R^2=0,9996$$

$$R=0,9998$$

#### 4.3.1.12. Spiroozit Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Spectrum View(Extracted)

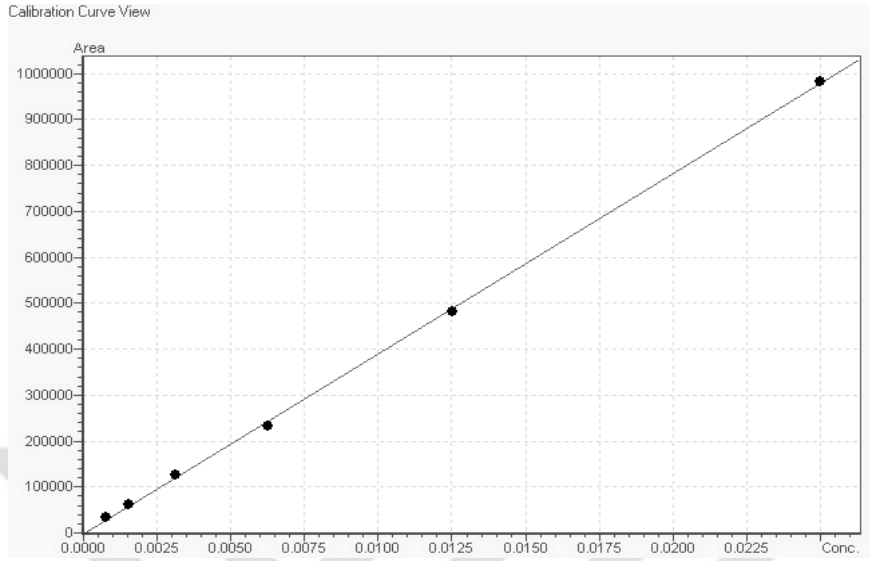


Şekil 4-25. Spiroozit standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-16. Spiroozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	983743	38771,69	3,941241
0,0125000	480513	10161,99	2,114823
0,0062500	232673	16736,56	7,193176
0,0031250	125786	2094,613	1,665221
0,0015625	60704	1160,732	1,912115
0,0007813	32322	278,9335	0,8629786

Bu değerler esas alınarak spirozıt standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-26).



**Şekil 4-26. Spirozıt standartına ait ölçü eğrisi**

Hesaplanan doğru denklemi:

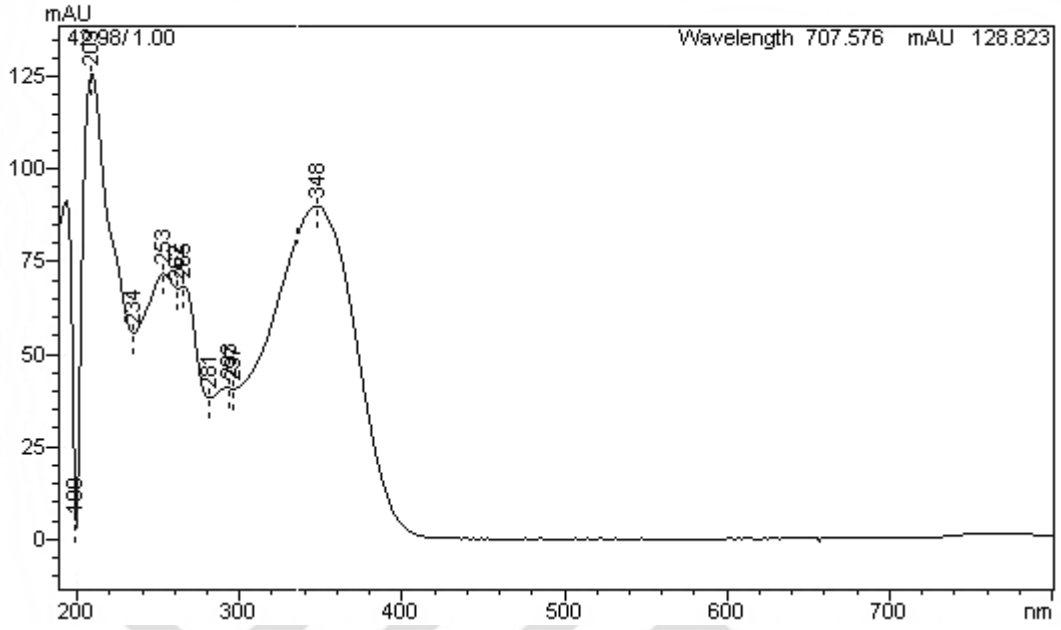
$$y=3,92478e+007x-2664,515$$

$$R^2=0,9996$$

$$R= 0,9998$$

### 4.3.1.13. Luteolin Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Spectrum View(Extracted)

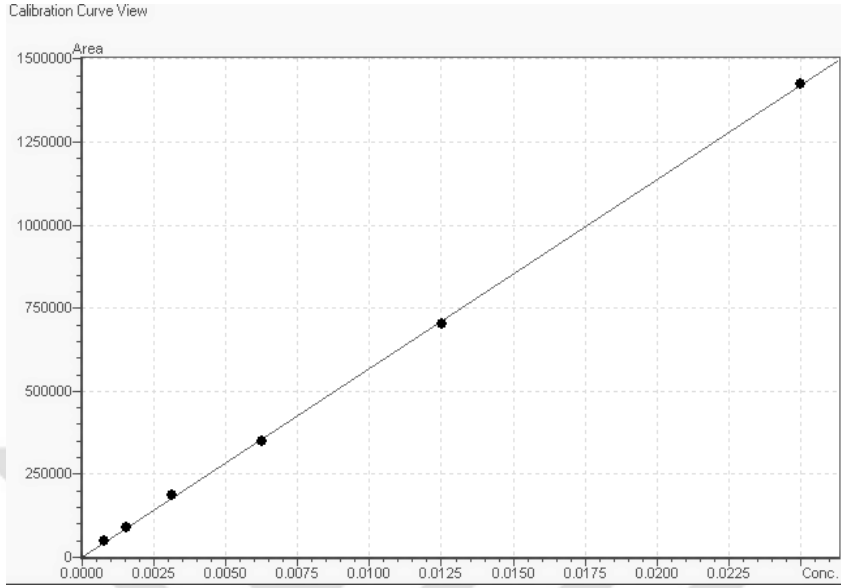


Şekil 4-27. Luteolin standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-17. Luteolin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	1426916	42744,63	2,995595
0,0125000	701690	9531,225	1,358324
0,0062500	348245	33139,69	9,516189
0,0031250	187447	11137,25	5,941548
0,0015625	88463	1578,997	1,784931
0,0007813	47268	654,7897	1,385271

Bu değerler esas alınarak luteolin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-28).



**Şekil 4-28. Luteolin standartına ait ölçü eğrisi**

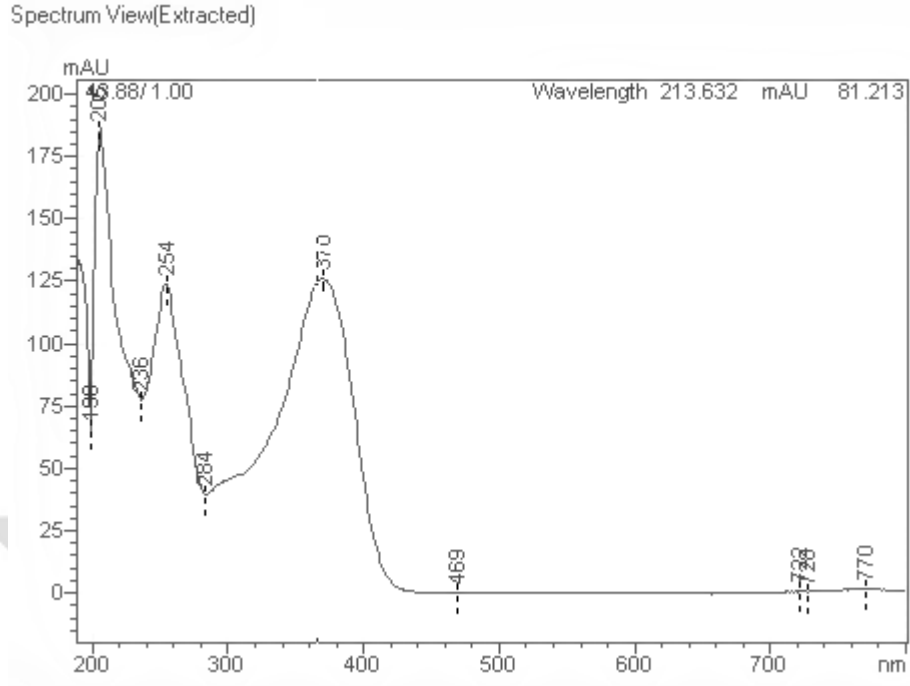
Hesaplanan doğru denklemi:

$$y=5,685492e+007x-283,5129$$

$$R^2=0,9998$$

$$R= 0,9999$$

#### 4.3.1.14. Kersetin Ölçü Eğrisi Hazırlanması

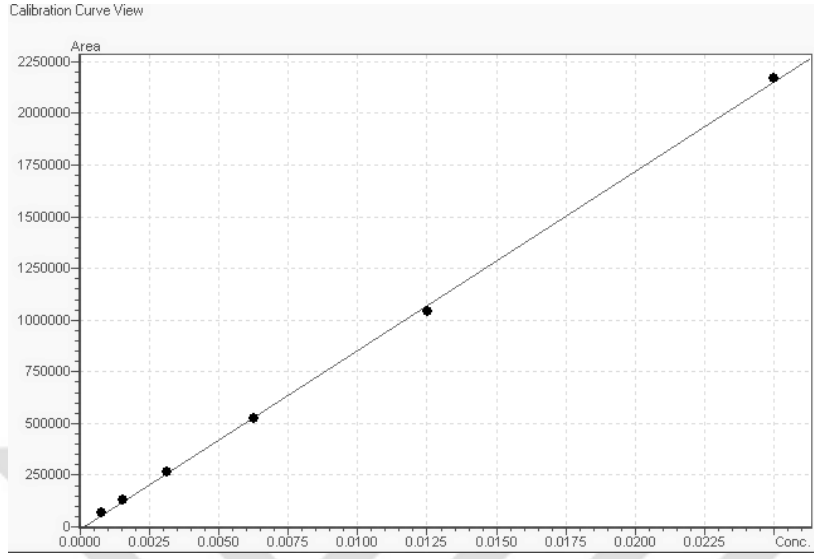


Şekil 4-29. Keretin standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-18. Keretin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Stanart sapma	%RSD
0,0250000	2166246	92550,68	4,272400
0,0125000	1042848	18403,20	1,764705
0,0062500	521589	40359,28	7,737756
0,0031250	262373	5127,464	1,954265
0,0015625	127158	800,0849	0,6292046
0,0007813	66461	1263,161	1,900607

Bu değerler esas alınarak kersetin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-30).



Şekil 4-30. Kersetin standartına ait ölçü eğrisi

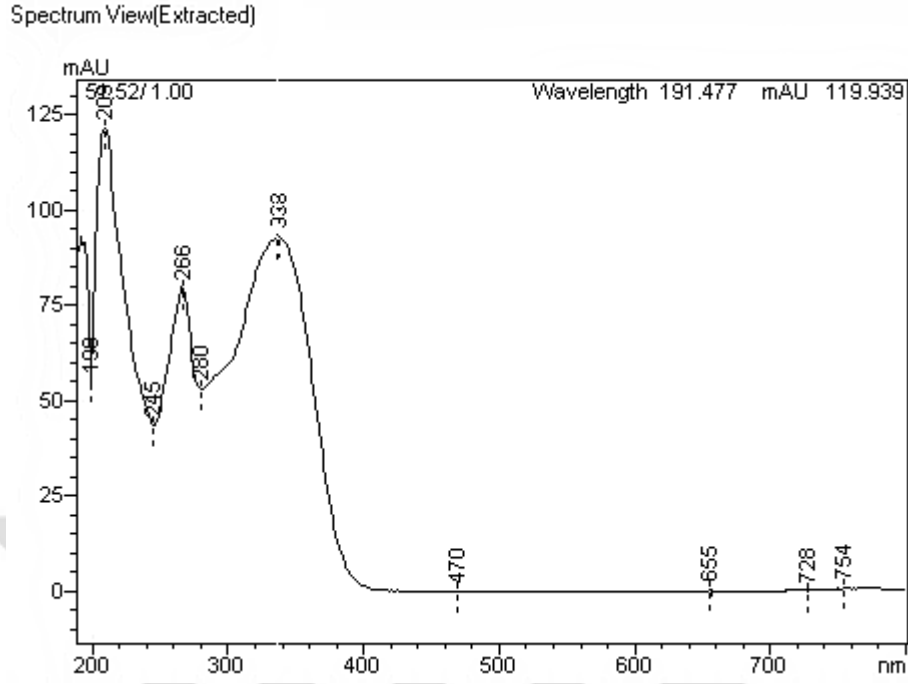
Hesaplanan doğru denklemi:

$$y=83658573e+007x-12494,37$$

$$R^2=0,9996$$

$$R=0,9998$$

### 4.3.1.15. Apigenin Ölçü Eğrisinin Hazırlanması



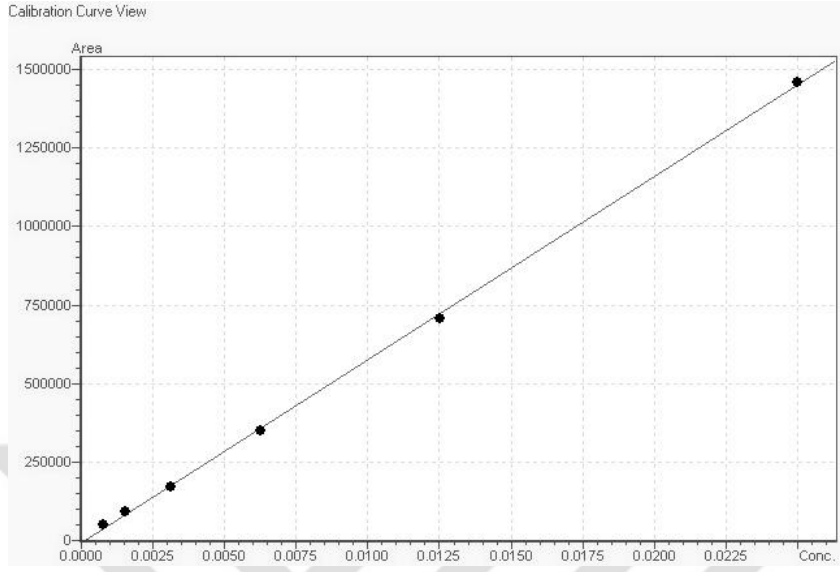
Şekil 4-31. Apigenin standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-19. Apigenin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	1460989	50492,09	3,456022
0,0125000	706241	14733,92	2,086245
0,0062500	348572	26946,77	7,730606
0,0031250	171448	23405,66	13,65173
0,0015625	90785	1053,670	1,160619
0,0007813	48474	295,3362	0,6092682



Bu değerler esas alınarak apigenin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-32).



Şekil 4-32. Apigenin standartına ait ölçü eğrisi

Hesaplanan doğru denklemi:

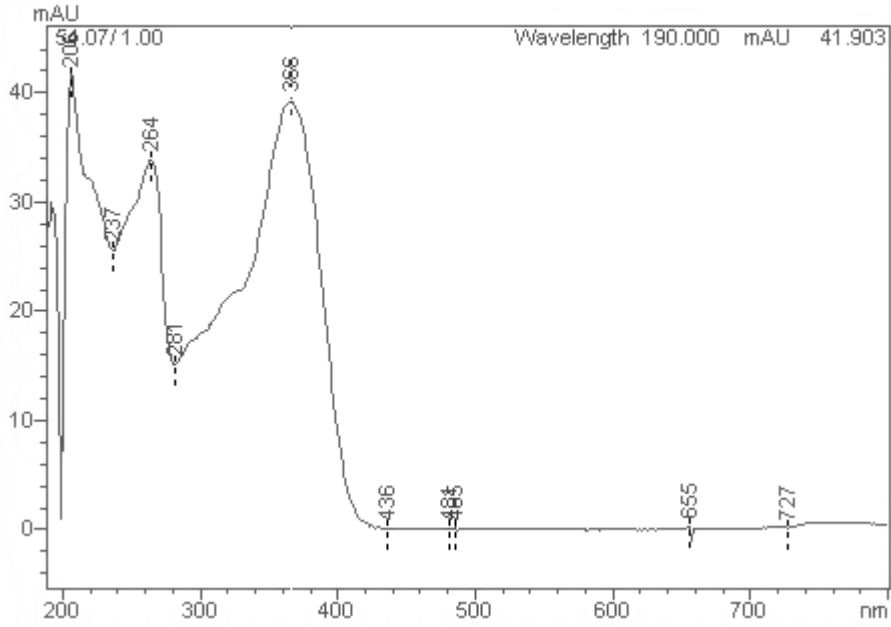
$$y=5,836428e+007x-7684,606$$

$$R^2=0,9996$$

$$R= 0,9998$$

#### 4.3.1.16. Kempferol Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Spectrum View(Extracted)

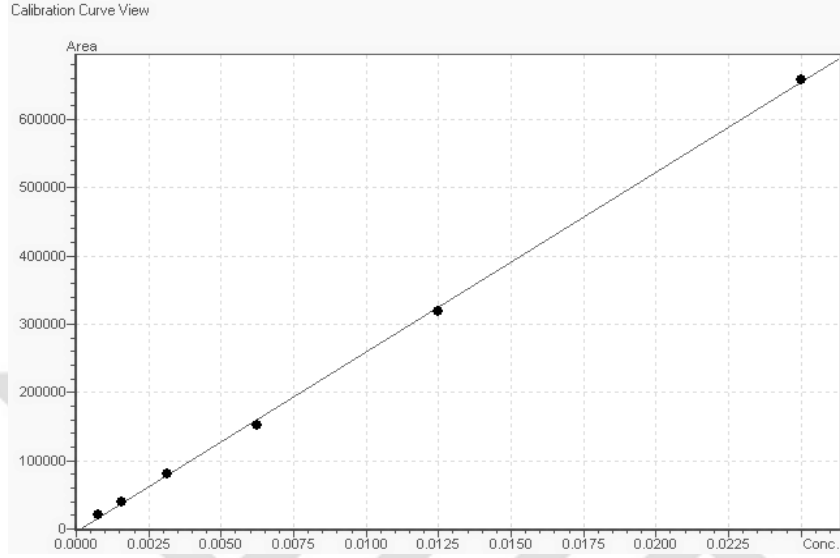


Şekil 4-33. Kempferol standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-20. Kempferol standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama alan	Standart sapma	%RSD
0,0250000	658818	22164,62	3,364301
0,0125000	319427	3672,081	1,149584
0,0062500	152118	10524,52	6,918656
0,0031250	81223	472,3519	0,5815481
0,0015625	39951	1424,140	3,564746
0,0007813	21026	565,7814	2,690830

Bu değerler esas alınarak kempferol standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-34).



**Şekil 4-34. Kempferol standartına ait ölçü eğrisi**

Hesaplanan doğru denklemi:

$$y=2,633481e+007x-3933,869$$

$$R^2=0,9995$$

$$R= 0,9997$$

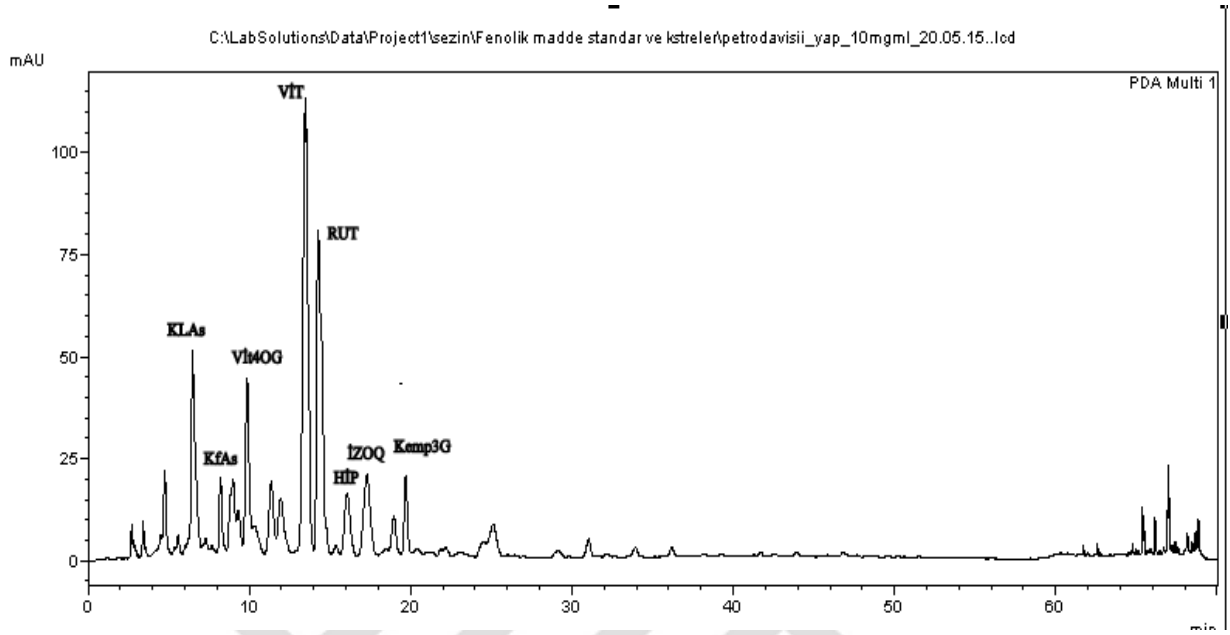
#### 4.3.2. Ekstrelerdeki Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayinleri

Bölüm 3.3’de anlatıldığı şekilde hazırlanan ekstrelerde ölçü eğrisi hazırlanan standartların varlığı ve miktar tayinleri yapılmıştır. Ekstrelerin verimleri aşağıdaki tabloda yer aldığı gibidir. Yapılan bu verim hesabı ile ekstredeki konsantrasyondan bitkideki konsantrasyon hesabına geçilmiştir.

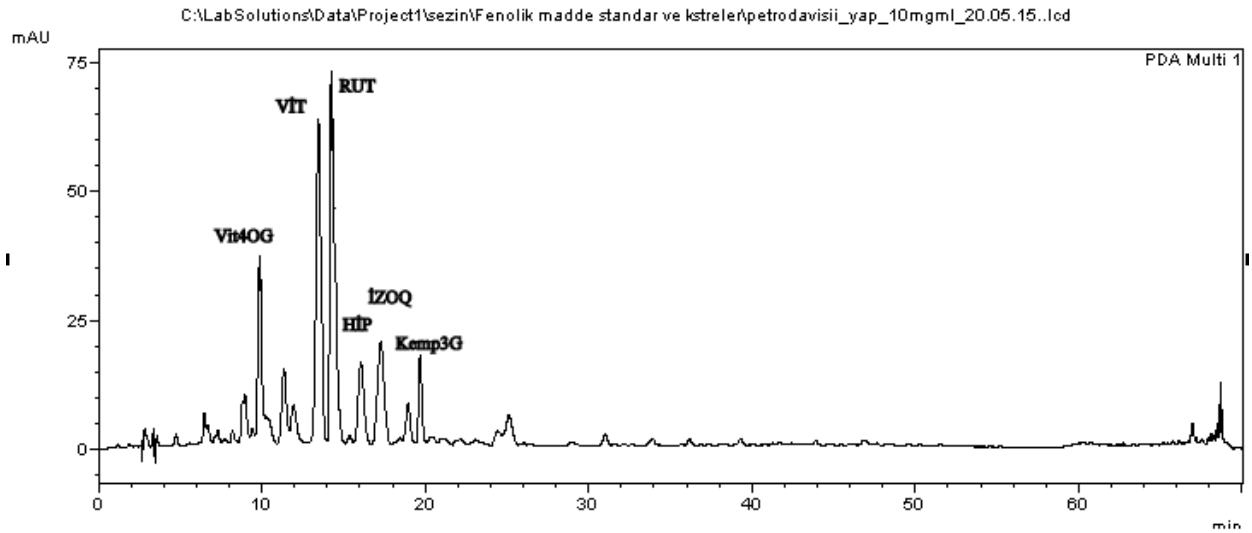
**Tablo 4-21. *Crataegus* ekstrelerinin verim hesabı (%)**

<b>Tür</b>	<b>Kısım</b>	<b>Verim (%)</b>
<i>C. petrodavisii</i>	yaprak	16,85
	meyve	5,70
<i>C. peshmenii</i>	yaprak	22,38
	meyve	6,85
<i>C. christensenii</i>	yaprak	14,85
	meyve	10,60
<i>C.monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i>	yaprak	22,25
	meyve	19,80

#### 4.3.2.1. *Crataegus petrodavisii* yaprak ekstresinin içeriği



Şekil 4-35. *C. petrodavisii* yaprak ekstresinin 336 nm'deki spektrumu



Şekil 4-36. *C. petrodavisii* yaprak ekstresinin 366 nm'deki spektrumu

**Tablo 4-22. *C. petrodavisii* yaprak ekstresinin içeriği**

<b>Standartlar</b>	<b>Ek*</b> <b>( mg /ml)</b>	<b>x</b>	<b>Alan</b>	<b>e (%)</b>	<b>h(%)</b>
Klorojenik asit (KlAs)	10	0,0124	623383	0,124	0,0209
Kafeik asit (KfAs)	10	0,0020	2066534	0,0204	0,0034
Viteksin-4"-O-glikozit (Vit4OG)	10	0,0104	235064	0,1041	0,0175
Viteksin-2"-O-ramnozid (Vit2OR)	10	te	-	-	-
Viteksin (VİT)	10	0,1629	2393428	1,6291	0,2745
Rutin (RUT)	10	0,0637	1002223	0,6372	0,1074
Hiperozit (HİP)	10	0,0127	373537	0,1269	0,0214
İzokersetin (İZOQ)	10	0,0201	569286	0,2007	0,0338
Kempferol 3-glikozit (Kemp3G)	10	0,0008	22559	0,0078	0,0013
Kersitrin (KRSTRN)	10	te	-	-	-
Apigenin 7-glikozit (APG7G)	10	0,0004	12744	0,0038	0,0006
Siperozit (SP)	10	te	-	-	-
Luteolin (LUT)	10	te	-	-	-
Kersetin (KER)	10	0,0002	13262	0,0017	0,0003
Apigenin (APG)	10	0,00006	3173	0,0006	0,0001
Kempferol (KEMP)	10	te	-	-	-

\*Ek:Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

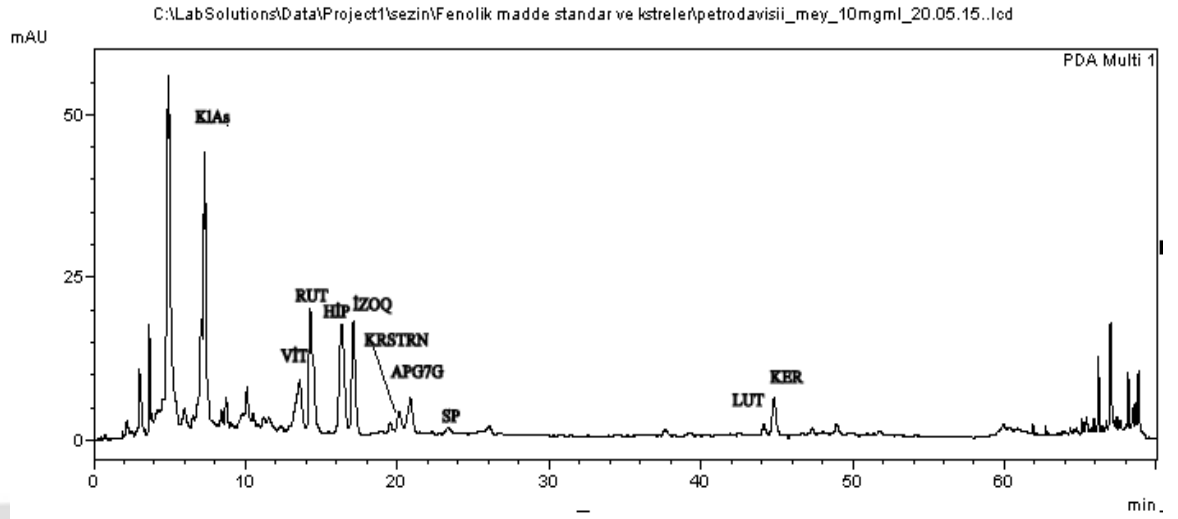
x: 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki standart maddenin miktarının mg cinsinden değeri

e: Ekstre içerisindeki standart madde miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ )

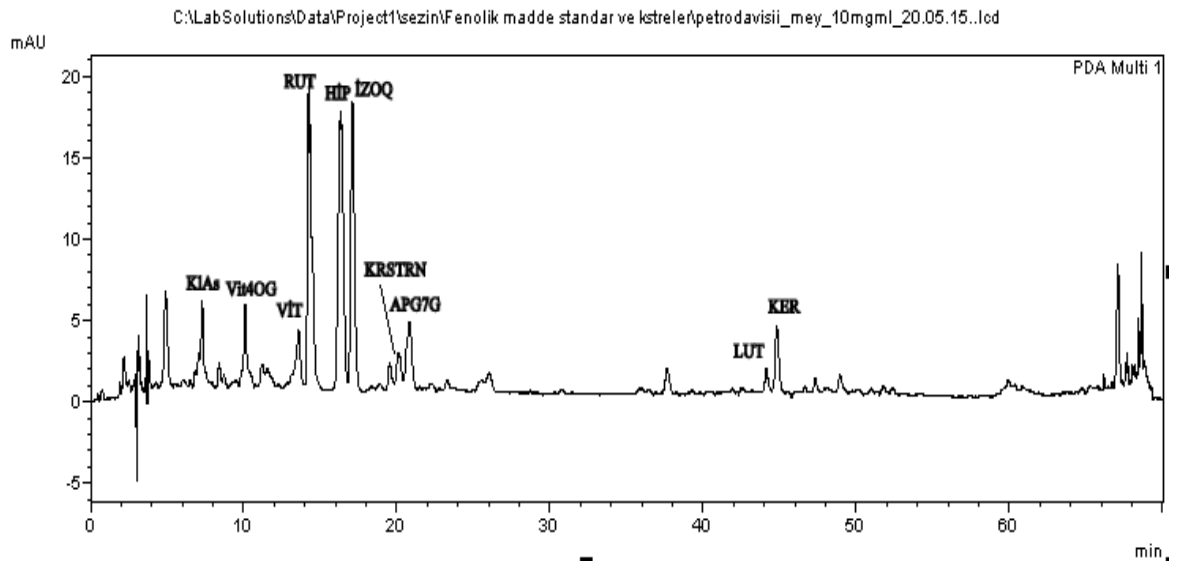
h: Bitki içerisindeki % standart madde miktarı miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ )

te: Tespit edilmemiştir.

### 4.3.2.2. *Crataegus petrodavisii* meyve ekstresinin içeriği



Şekil 4-37. *C. petrodavisii* meyve ekstresinin 336 nm'deki spektrumu



Şekil 4-38. *C. petrodavisii* meyve ekstresinin 366 nm'deki spektrumu

**Tablo 4-23. *C. petrodavisii* meyve ekstresinin içeriği**

<b>Standartlar</b>	<b>Ek* mg/ml</b>	<b>x</b>	<b>Alan</b>	<b>e (%)</b>	<b>h (%)</b>
Klorojenik asit (KlAs)	10	0,0099	499468	0,0987	0,5625
Kafeik asit (KfAs)	10	Te	-	-	-
Viteksin-4"-O-glikozit (Vit4OG)	10	0,0002	17870	0,0017	0,00001
Viteksin-2"-O-ramnozid (Vit2OR)	10	0,0005	9866	0,0047	0,0003
Viteksin (VİT)	10	0,0195	295398	0,1949	0,0111
Rutin (RUT)	10	0,0242	380788	0,2421	0,1380
Hiperozit (HİP)	10	0,0127	372673	0,1267	0,0072
İzokersetin (İZOQ)	10	0,0094	273735	0,0936	0,0053
Kempferol 3-glikozit (Kemp3G)	10	0,0062	128770	0,0620	0,0035
Kersitrin (KRSTRN)	10	0,0003	49021	0,0027	0,0001
Apigenin 7-glikozit (APG7G)	10	0,0003	5538	0,0032	0,0005
Siperozit (SP)	10	0,0004	12408	0,0035	0,0002
Luteolin (LUT)	10	0,00006	3276	0,0006	0,00004
Kersetin (KER)	10	0,0003	20864	0,0027	0,0001
Apigenin (APG)	10	0,00004	2293	0,0004	0,00002
Kempferol (KEMP)	10	te	-	-	-

\*Ek:Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

x: 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki standart maddenin miktarının mg cinsinden değeri

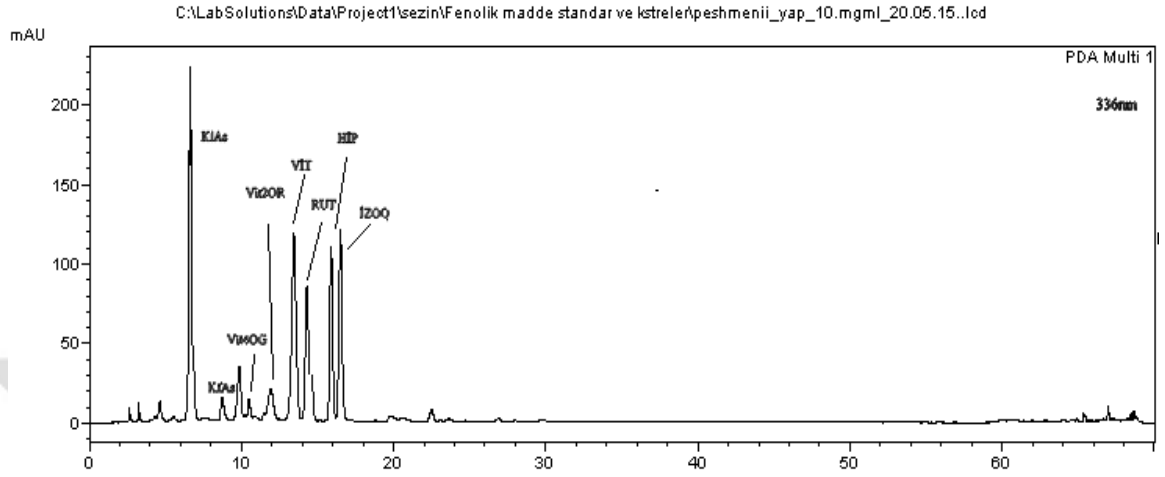
e: Ekstre içerisindeki standart madde miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ )

h: Bitki içerisindeki % standart madde miktarı miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ )

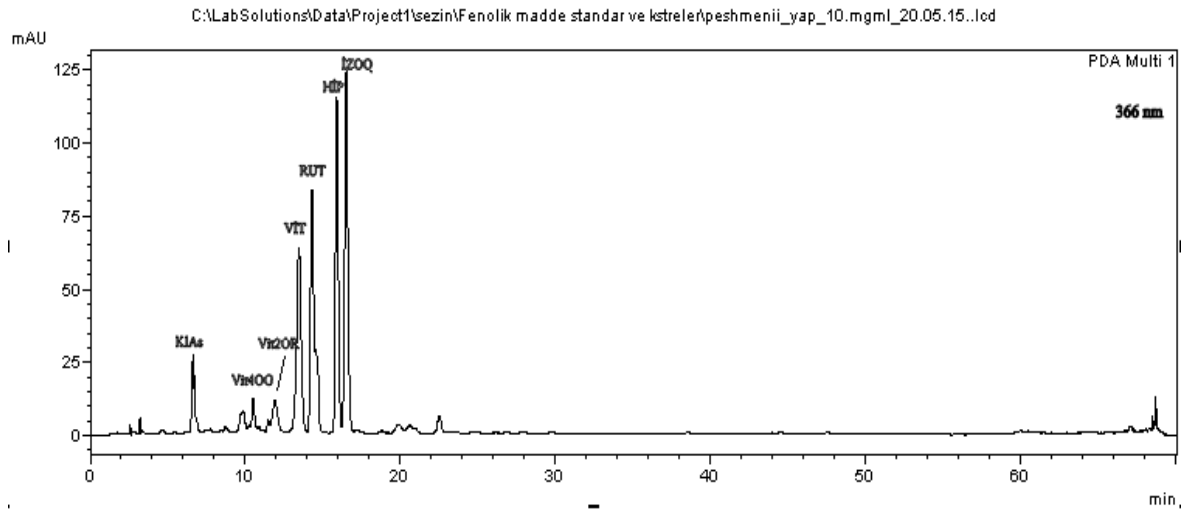
te: Tespit edilmemiştir.



### 4.3.2.3. *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresinin içeriği



Şekil 4-39. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin 336 nm'deki spektrumu



Şekil 4-40. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin 366 nm'deki spektrumu

**Tablo 4-24. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin içeriği**

<b>Standartlar</b>	<b>Ek* (mg/ml)</b>	<b>x</b>	<b>Alan</b>	<b>e (%)</b>	<b>h (%)</b>
Klorojenik asit (KIAs)	10	0,0572	2815847	0,5715	0,1279
Kafeik asit (KfAs)	10	0,0022	21868	0,0224	0,0050
Viteksin-4"-O-glikozit (Vit4OG)	10	0,0172	378681	0,1717	0,0384
Viteksin-2"-O-ramnozid (Vit2OR)	10	0,0022	43863	0,0224	0,0500
Viteksin (VİT)	10	0,1614	2371055	1,6139	0,3611
Rutin (RUT)	10	0,0768	1208221	0,7682	0,1719
Hiperozit (HİP)	10	0,0509	1462603	0,5093	0,1140
İzokersetin (İZOQ)	10	0,0592	1658443	0,5923	0,1325
Kempferol 3-glikozit (Kemp3G)	10	0,0040	87832	0,0406	0,0090
Kersitrin (KRSTRN)	10	0,0005	8736	0,0048	0,0010
Apigenin 7-glikozit (APG7G)	10	0,0001	3430	0,0010	0,0002
Sipreozit (SP)	10	0,0004	15241	0,0043	0,0010
Luteolin (LUT)	10	0,0001	5589	0,0011	0,0002
Kersetin (KER)	10	0,0001	10869	0,0014	0,0003
Apigenin (APG)	10	0,00002	1151	0,0002	0,00005
Kempferol (KEMP)	10	0,0001	3078	0,0013	0,0003

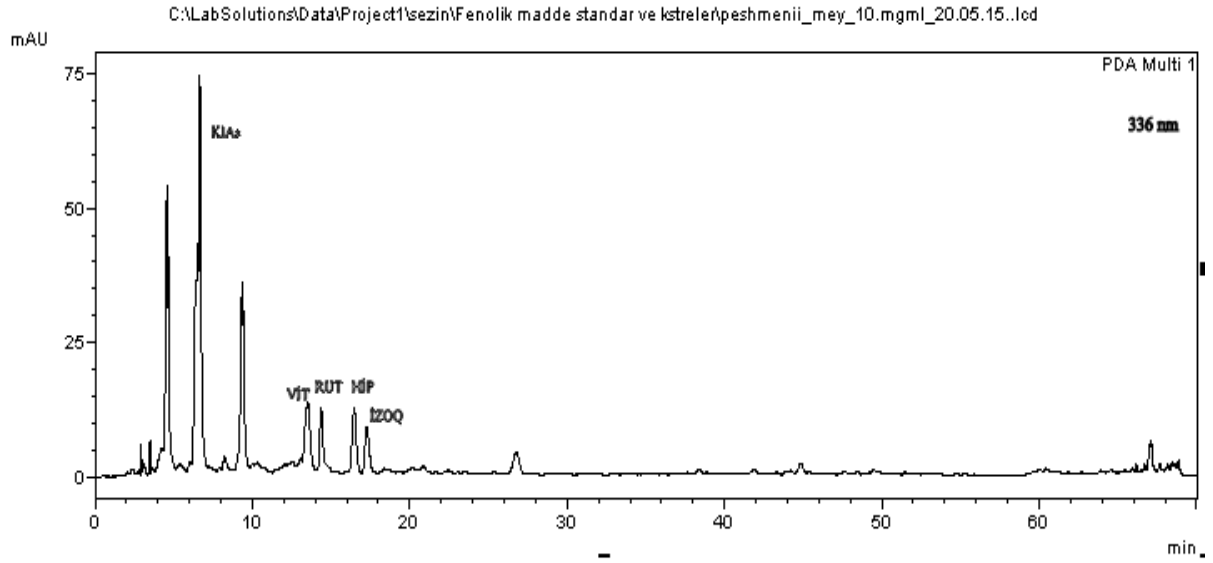
\*Ek:Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

x: 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki standart maddenin miktarının mg cinsinden değeri

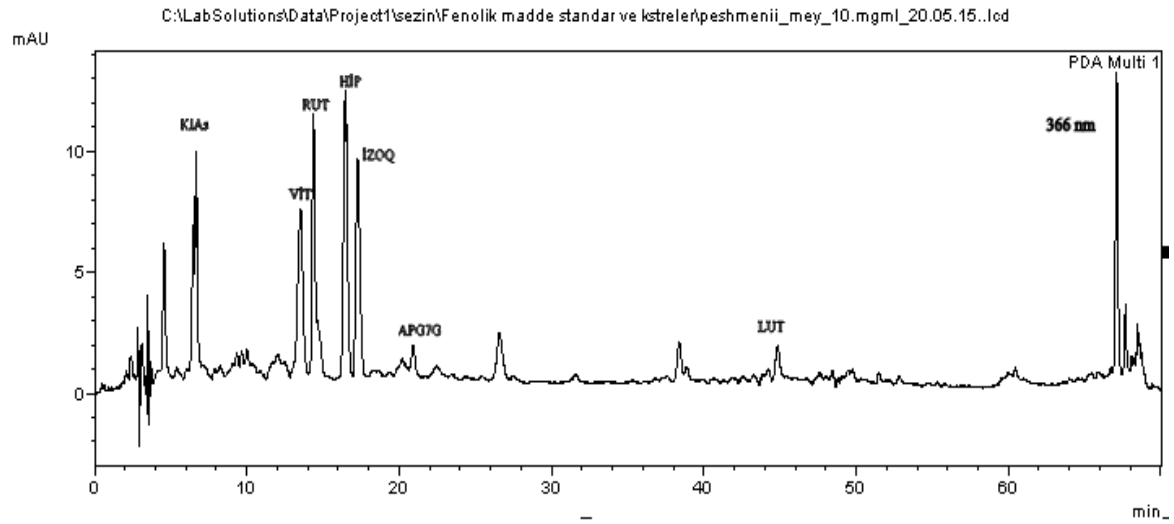
e: Ekstre içerisindeki standart madde miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ )

h: Bitki içerisindeki % standart madde miktarı miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ )

#### 4.3.2.4. *Crataegus peshmenii* meyve ekstresinin içeriği



Şekil 4-41. *C. peshmenii* meyve ekstresinin 336 nm'deki spektrumu



Şekil 4-42. *C. peshmenii* meyve ekstresinin 366 nm'deki spektrumu

**Tablo 4-25. *C. peshmenii* meyve ekstresinin içeriği**

<b>Standartlar</b>	<b>Ek* (mg/ml)</b>	<b>x</b>	<b>Alan</b>	<b>e (%)</b>	<b>h(%)</b>
Klorojenik asit (KIAs)	10	0,0168	837695	0,1677	0,0115
Kafeik asit (KfAs)	10	Te	-	-	-
Viteksin-4"-O-glikozit (Vit4OG)	10	0,0009	34742	0,0096	0,0007
Viteksin-2"-O-ramnozid (Vit2OR)	10	0,0029	61553	0,0293	0,0020
Viteksin (VİT)	10	0,0223	336728	0,2232	0,0153
Rutin (RUT)	10	0,0923	145237	0,9234	0,0632
Hiperozit (HİP)	10	0,0070	211579	0,0700	0,0048
İzokersetin (İZOQ)	10	0,0052	159692	0,0526	0,0036
Kempferol 3-glikozit (Kemp3G)	10	0,0006	22496	0,0061	0,0004
Kersitrin (KRSTRN)	10	0,0002	3978	0,0021	0,0001
Apigenin 7-glikozit (APG7G)	10	0,0003	8736	0,0026	0,0002
Siperozit (SP)	10	Te	-	-	-
Luteolin (LUT)	10	0,0007	35685	0,0069	0,0005
Kersetin (KER)	10	0,0001	9311	0,0012	0,00008
Apigenin (APG)	10	0,0001	5738	0,0010	0,00007
Kempferol (KEMP)	10	te	-	-	-

\*Konsantrasyon:Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

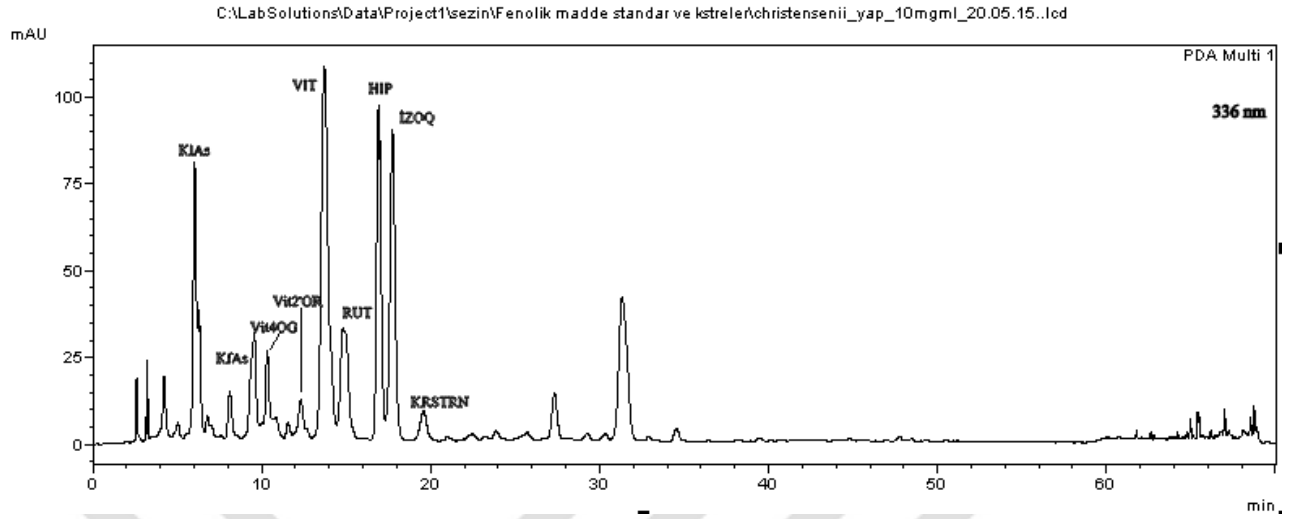
x: 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki standart maddenin miktarının mg cinsinden değeri

e: Ekstre içerisindeki standart madde miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ )

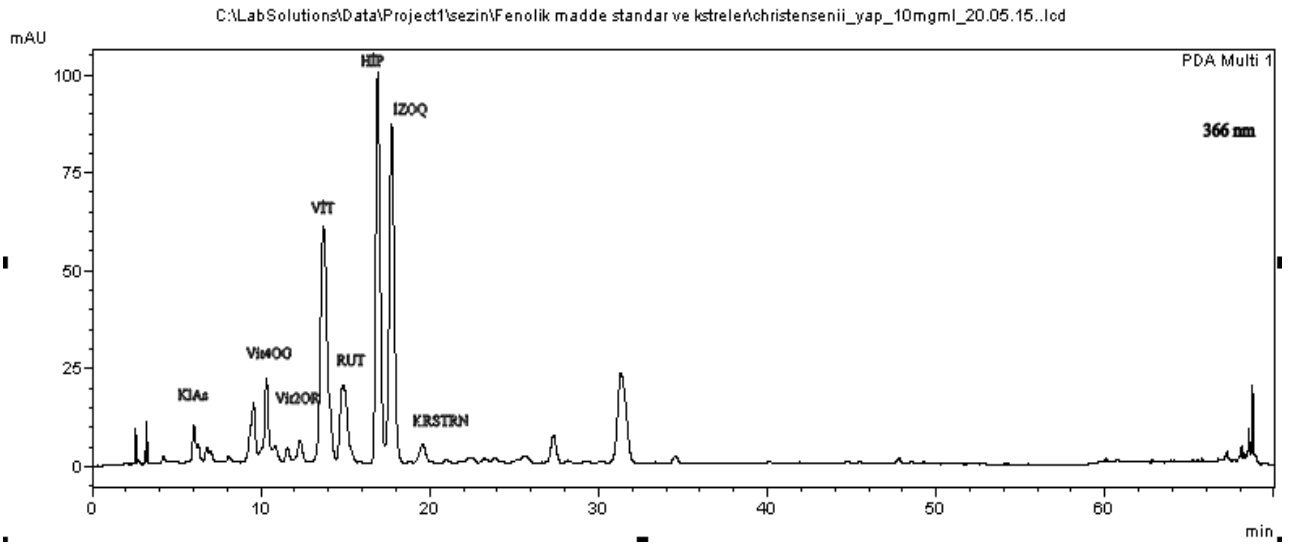
h: Bitki içerisindeki % standart madde miktarı miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ )

te: Tespit edilmemiştir.

#### 4.3.2.5. *Crataegus christensenii* yaprak ekstresinin içeriği



Şekil 4-43. *C. christensenii* yaprak ekstresinin 336 nm'deki spektrumu



Şekil 4-44. *C. christensenii* yaprak ekstresinin 366 nm'deki spektrumu

**Tablo 4-26. *C. christensenii* yaprak ekstresinin içeriği**

<b>Standartlar</b>	<b>Ek* (mg/ml)</b>	<b>x</b>	<b>Alan</b>	<b>e (%)</b>	<b>h (%)</b>
Klorojenik asit (KlAs)	10	0,0215	1070735	0,2153	0,0320
Kafeik asit (KfAs)	10	0,0023	200377	0,0227	0,0034
Viteksin-4"-O-glikozit (Vit4OG)	10	0,0017	49420	0,0165	0,0025
Viteksin-2"-O-ramnozid (Vit2OR)	10	0,0020	50807	0,0202	0,0030
Viteksin (VİT)	10	0,2105	3090708	2,1057	0,3127
Rutin (RUT)	10	0,0366	57691	0,3659	0,0543
Hiperozit (HİP)	10	0,0571	1636964	0,5704	0,0847
İzokersetin (İZOQ)	10	0,0624	1746409	0,6239	0,0926
Kempferol 3-glikozit (Kemp3G)	10	nd.	-	-	-
Kersitrin (KRSTRN)	10	0,0022	41177	0,0225	0,0033
Apigenin 7-glikozit (APG7G)	10	0,0013	42558	0,0126	0,0019
Siperozit (SP)	10	0,00007	2375	0,0007	0,0001
Luteolin (LUT)	10	0,00007	3438	0,0007	0,0001
Kersetin (KER)	10	0,00005	3637	0,0005	0,00007
Apigenin (APG)	10	0,0001	6530	0,0012	0,0002
Kempferol (KEMP)	10	nd.	-	-	-

\*Ek:Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

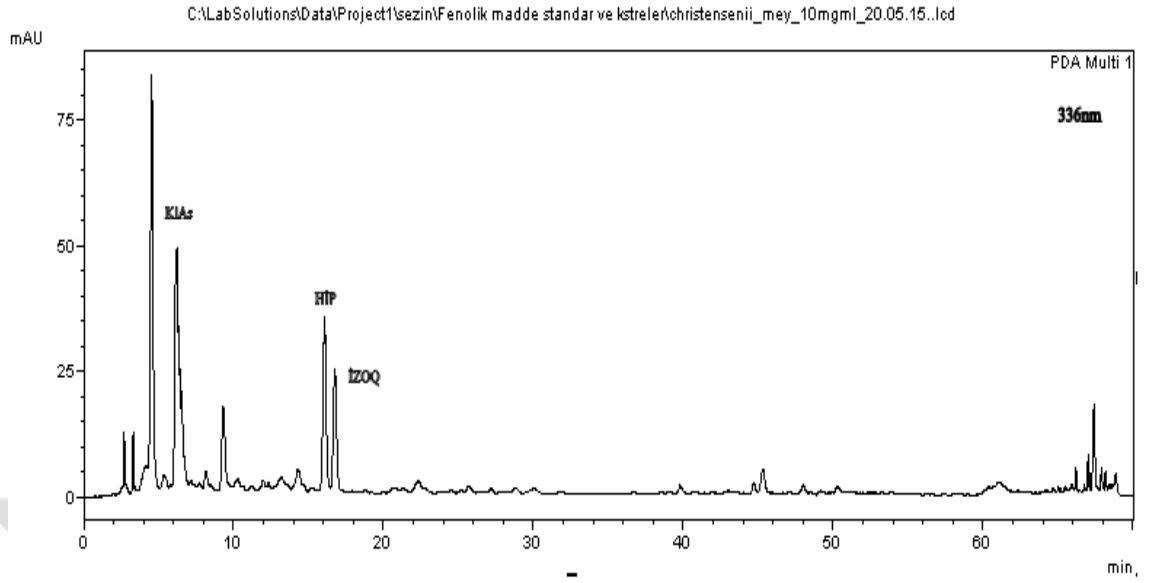
x: 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki standart maddenin miktarının mg cinsinden değeri

e: Ekstre içerisindeki standart madde miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ )

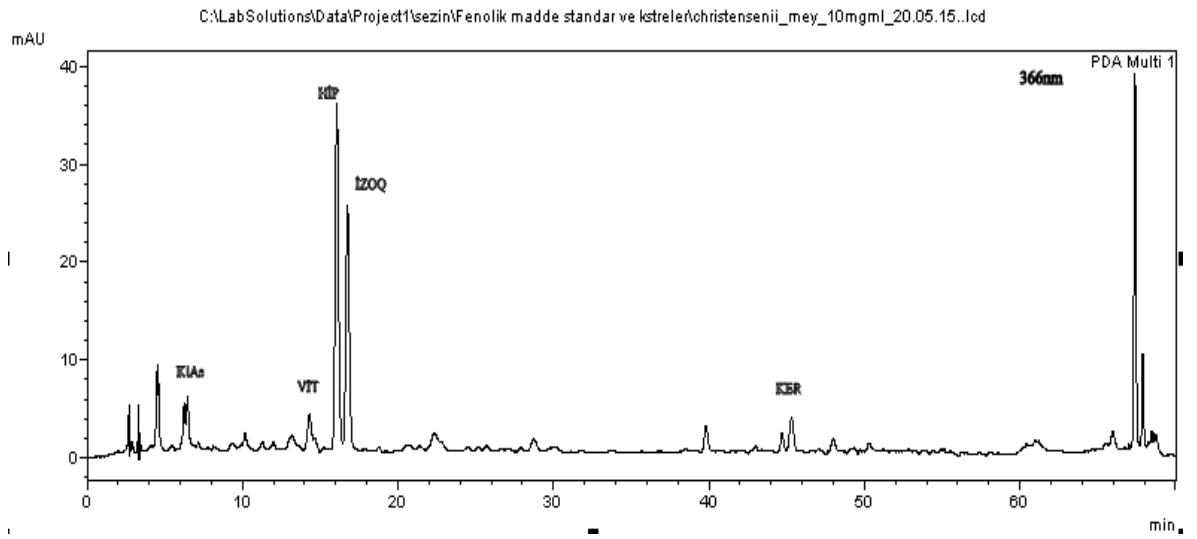
h: Bitki içerisindeki % standart madde miktarı miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ )

te: Tespit edilmemiştir

#### 4.3.2.6. *Crataegus christensenii* meyve ekstresinin içeriği



Şekil 4-45. *C. christensenii* meyve ekstresinin 336 nm'deki spektrumu



Şekil 4-46. *C. christensenii* meyve ekstresinin 366 nm'deki spektrumu

**Tablo 4-27. *C. christensenii* meyve ekstresinin içeriği**

<b>Standartlar</b>	<b>Ek* (mg/ml)</b>	<b>x</b>	<b>Alan</b>	<b>e (%)</b>	<b>h (%)</b>
Klorojenik asit (KlAs)	10	0,0140	703124	0,1403	0,0148
Kafeik asit (KfAs)	10	Te	-	-	-
Viteksin-4"-O-glikozit (Vit4OG)	10	0,0025	66768	0,0247	0,0026
Viteksin-2"-O-ramnozid (Vit2OR)	10	0,0024	50807	0,0242	0,0026
Viteksin (VİT)	10	0,0061	99457	0,0610	0,0065
Rutin (RUT)	10	0,0045	70959	0,0451	0,0048
Hiperozit (HİP)	10	0,0171	499719	0,1712	0,0181
İzokersetin (İZOQ)	10	0,0012	357824	0,0124	0,0013
Kempferol 3-glikozit (Kemp3G)	10	0,0014	34887	0,0127	0,0134
Kersitrin (KRSTRN)	10	0,0045	822932	0,0454	0,0048
Apigenin 7-glikozit (APG7G)	10	0,0028	93462	0,0277	0,0029
Siperozit (SP)	10	0,0002	6703	0,0020	0,0002
Luteolin (LUT)	10	Te	-	-	-
Kersetin (KER)	10	0,0003	23813	0,0030	0,0003
Apigenin (APG)	10	0,00001	786	0,0001	0,00002
Kempferol (KEMP)	10	Te	-	-	-

\*Ek:Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

x: 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki standart maddenin miktarının mg cinsinden değeri

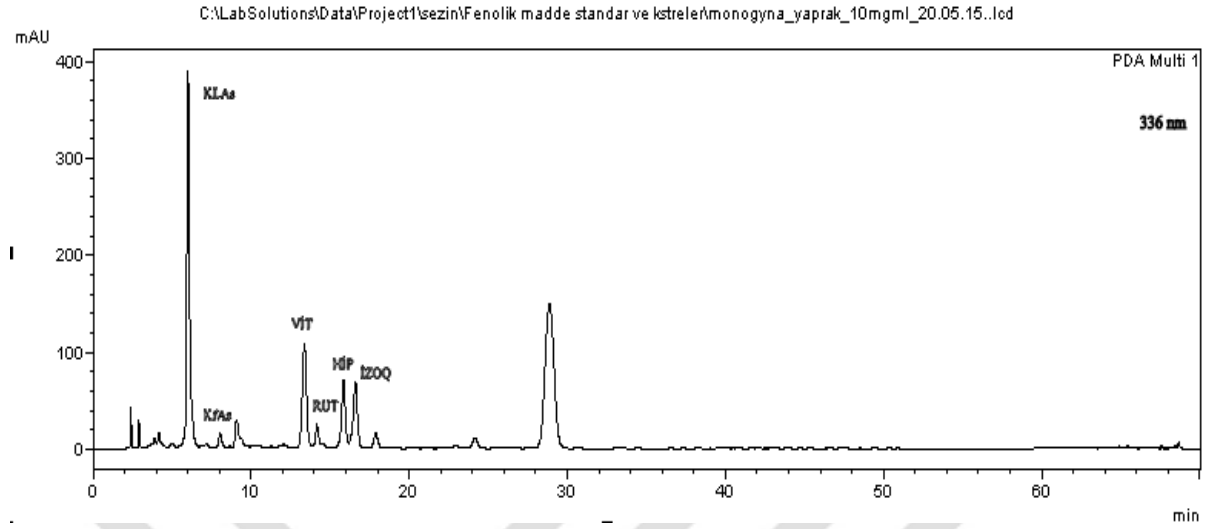
e: Ekstre içerisindeki standart madde miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ )

h: Bitki içerisindeki % standart madde miktarı miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ )

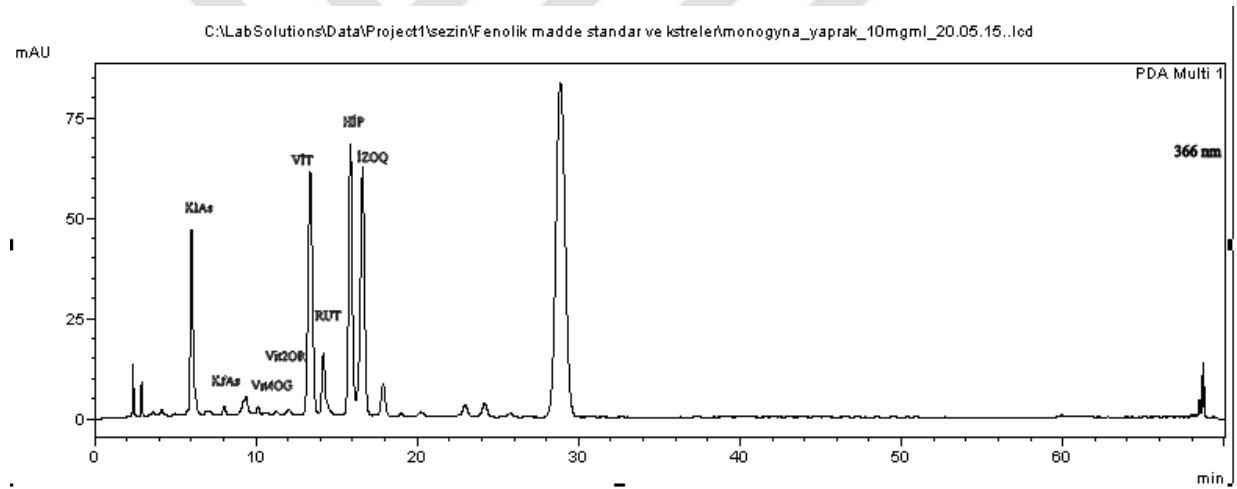
te: Tespit edilmemiştir



#### 4.3.2.7. *Crataegus monogyna* subsp. *monogyna* yaprak ekstresinin içeriği



Şekil 4-47. *C. monogyna* subsp. *monogyna* yaprak ekstresinin 336 nm'deki spektrumu



Şekil 4-48. *C. mongyna* subsp. *monogyna* yaprak ekstresinin 366 nm'deki spektrumu

**Tablo 4-28. *C. monogyna* subsp. *monogyna* yaprak ekstresinin içeriği**

<b>Standartlar</b>	<b>Ek*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>x</b>	<b>Alan</b>	<b>e (%)</b>	<b>h (%)</b>
Klorojenik asit (KIAs)	10	0,1041	5115877	1,0410	0,2317
Kafeik asit (KfAs)	10	0,0023	220377	0,0227	0,0051
Viteksin-4"-O-glikozit (Vit4OG)	10	0,0031	80005	0,0310	0,0069
Viteksin-2"-O-ramnozid (Vit2OR)	10	0,0981	2055557	0,9811	0,2183
Viteksin (VİT)	10	0,1337	1965509	1,3366	0,2974
Rutin (RUT)	10	0,0048	76050	0,0483	0,0108
Hiperozit (HİP)	10	0,0373	1074266	0,3729	0,0829
İzokersetin (İZOQ)	10	0,0418	1175038	0,4182	0,0930
Kempferol 3-glikozit (Kemp3G)	10	te.	-	-	-
Kersitrin (KRSTRN)	10	0,0002	3978	0,0022	0,0005
Apigenin 7-glikozit (APG7G)	10	0,0004	13217	0,0034	0,0009
Siperozit (SP)	10	te.	-	-	-
Luteolin (LUT)	10	0,00007	3438	0,0006	0,0002
Kersetin (KER)	10	0,00004	3416	0,0004	0,0001
Apigenin (APG)	10	0,00003	1641	0,0003	0,00007
Kempferol (KEMP)	10	te.	-	-	-

\*Ek:Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

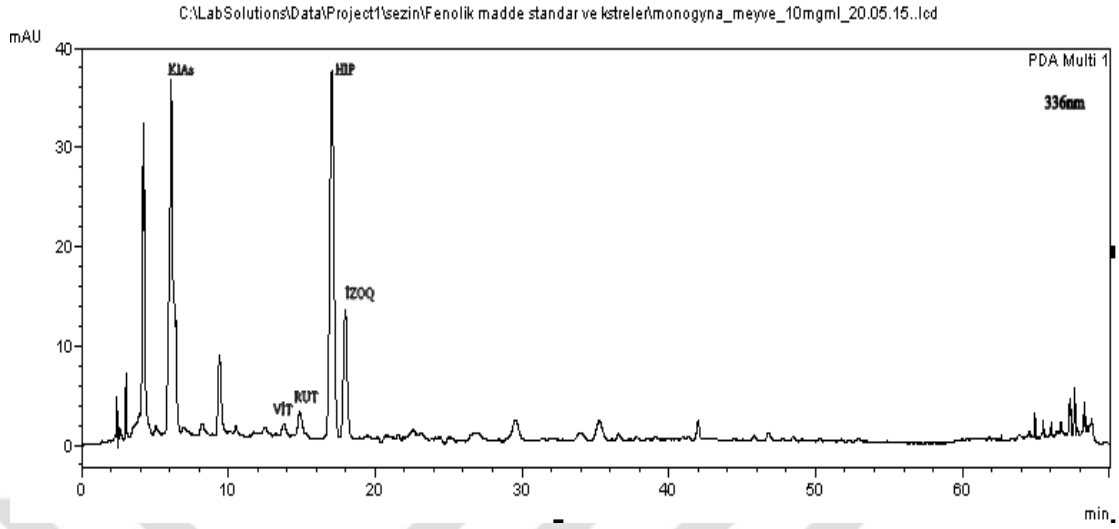
x: 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki standart maddenin miktarının mg cinsinden değeri

e: Ekstre içerisindeki standart madde miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ )

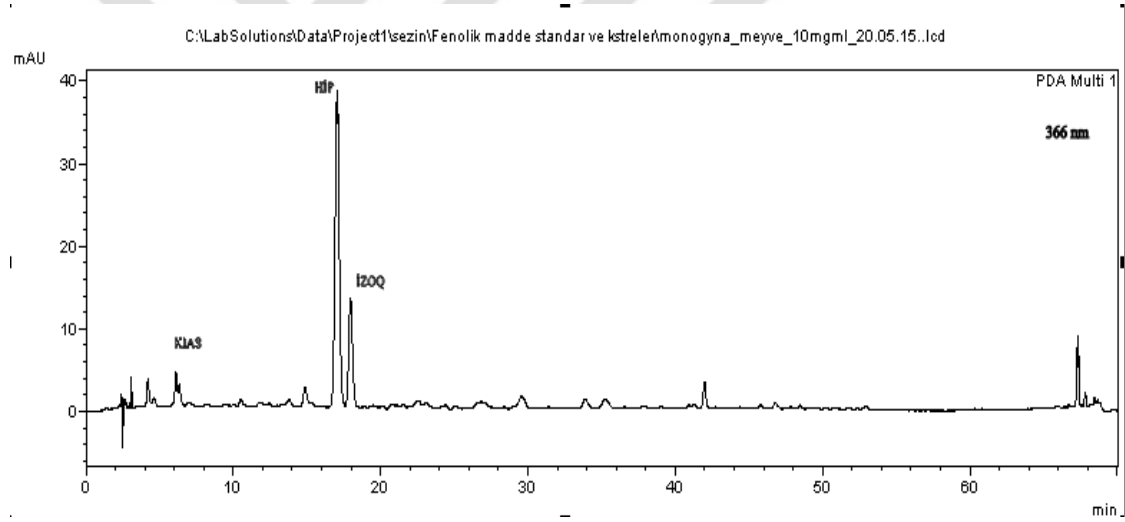
h: Bitki içerisindeki % standart madde miktarı miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ )

te: Tespit edilmemiştir

#### 4.3.2.8. *Crataegus monogyna* subsp. *monogyna* meyve ekstresinin içeriği



Şekil 4-49. *C. monogyna* subsp. *monogyna* meyve ekstresinin 336 'nm'deki spektrumu



Şekil 4-50. *C. monogyna* subsp. *monogyna* meyve ekstresinin 366 nm'deki spektrumu

**Tablo 4-29. *C. monogyna* subsp. *monogyna* meyve ekstresinin içeriği**

<b>Standartlar</b>	<b>Ek* (mg/ml)</b>	<b>x</b>	<b>Alan</b>	<b>e (%)</b>	<b>h (%)</b>
Klorojenik asit (KIAs)	10	0,0101	514350	0,1017	0,0201
Kafeik asit (KfAs)	10	te.	-	-	-
Viteksin-4"-O-glikozit (Vit4OG)	10	te.	-	-	-
Viteksin-2"-O-ramnozid (Vit2OR)	10	0,0009	1924	0,0092	0,0018
Viteksin (VİT)	10	0,0009	23157	0,0089	0,0017
Rutin (RUT)	10	0,0020	32130	0,0204	0,0040
Hiperozit (HİP)	10	0,0245	718791	0,2448	0,0484
İzokersetin (İZOQ)	10	0,0078	230784	0,0782	0,0154
Kempferol 3-glikozit (Kemp3G)	10	0,0003	15893	0,0026	0,0005
Kersitrin (KRSTRN)	10	0,0012	21605	0,0118	0,0023
Apigenin 7-glikozit (APG7G)	10	0,0004	13217	0,0039	0,0008
Siperozit (SP)	10	0,0002	6182	0,0017	0,0003
Luteolin (LUT)	10	te.	-	-	-
Kersetin (KER)	10	te.	-	-	-
Apigenin (APG)	10	0,00006	5019	0,0006	0,0001
Kempferol (KEMP)	10	te.	-	-	-

\*Ek: Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

x: 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki standart maddenin miktarının mg cinsinden değeri

e: Ekstre içerisindeki standart madde miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ )

h: Bitki içerisindeki % standart madde miktarı miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ )

te: Tespit edilmemiştir

#### 4.4. Antiinflamatuvar ve Antioksidan Aktivitenin *In vitro* İncelenmesi

Yapılan *in vitro* çalışma neticesinde *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresinin iki farklı dozunun (10µg/ml ve 50µg/ml) antiinflamatuvar ve antioksidan aktivite sonuçları aşağıdaki kısımda anlatıldığı gibidir.

##### 4.4.1. *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresinin Malondialdehit (MDA) düzeyi üzerine etkisi

İnflamatuvar koşullarda MDA düzeyleri kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Öte yandan, *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresinin her iki dozuyla da izole sıçan aortasının inkübasyonu inflamatuvar koşullarda artmış olan MDA düzeyi üzerinde anlamlı bir düşüş oluşturmuştur. Ancak iki farklı *Crataegus* ekstresinin dozlarının etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir (p>0.05). Ekstrelerin MDA düzeylerine ilişkin sonuçlar Tablo 4-30, Şekil 4-51’de verilmiştir.

**Tablo 4-30. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin MDA düzeyi üzerine etkisi**

	MDA Düzeyleri (nmol/ml)	n
<b>Kontrol</b>	7,3	20
<b>İnflamasyon</b>	19,29 <sup>+</sup>	17
<b>İnflamasyon +<i>Crataegus</i> Ekstre (10µg/ml)</b>	10,36 <sup>*</sup>	14
<b>İnflamasyon +<i>Crataegus</i> Ekstre (50µg/ml)</b>	15,75 <sup>*</sup>	6

Kontrol: İnflamatuvar koşulun oluşturulmadığı ve *Crataegus* ekstresi ile inkübasyonun yapılmadığı izole aorta dokusunu ifade etmektedir.

İnflamatuvar: İzole aorta dokusunun LPS ve IL1β ile 24 saat inkübasyonunu ifade etmektedir.

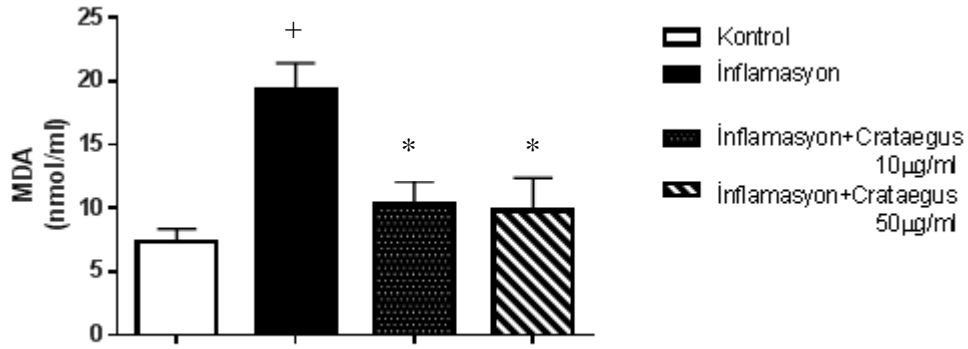
İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (10µg/ml): İzole dokusunun LPS ve IL1β ve 10 µg/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (50µg/ml): İzole aorta dokusunun LPS , IL1β ve 50 µg/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

n: İzole aorta doku sayısını ifade etmektedir.

+p<0.0001: İnflamasyon ile kontrol koşullarındaki MDA düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

\*p<0.05 İnflamasyon ile inflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki MDA düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.



#### Şekil 4-51. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin MDA düzeyine etkisi

Kontrol: İnflamatuar koşulun oluşturulmadığı ve *Crataegus* ekstresi ile inkübasyonun yapılmadığı izole aorta dokusunu ifade etmektedir.

İnflamatuar: İzole aorta dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ile 24 saat inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (10µg/ml): İzole dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ve 10 µg/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (50µg/ml): İzole aorta dokusunun LPS , IL1 $\beta$  ve 50 µg/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

n: İzole aorta doku sayısını ifade etmektedir.

+p<0.0001: İnflamasyon ile kontrol koşullarındaki MDA düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

\*p<0.05 İnflamasyon ile inflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki MDA düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

#### 4.4.2. *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresinin Myeloperoksidaz (MPO) düzeyi üzerine etkisi

MPO düzeyleri İnflamatuvar koşullarda kontrole oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır. *Crataegus* ekstresi her iki dozuyla izole sıçan aortasının inkübasyonu sonucu, inflamasyonda artmış olan MPO düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltarak kontrol düzeyine getirmiştir. Ancak *Crataegus* ekstresinin iki dozu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ekstrelerin MPO düzeylerine ilişkin sonuçlar Tablo 4-31 ve Şekil 4-52’de verilmiştir.

**Tablo 4-31. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin MPO düzeyi üzerine etkisi**

	MPO Düzeyleri (ng/ml)	n
<b>Kontrol</b>	3,4	20
<b>İnflamasyon</b>	23,76 <sup>+</sup>	17
<b>İnflamasyon +<i>Crataegus</i> Ekstre (10µg/ml)</b>	11,15 <sup>*</sup>	14
<b>İnflamasyon +<i>Crataegus</i> Ekstre (50µg/ml)</b>	11,57 <sup>*</sup>	6

Kontrol: İnflamatuvar koşulun oluşturulmadığı ve *Crataegus* ekstresi ile inkübasyonun yapılmadığı izole aorta dokusunu ifade etmektedir.

İnflamatuvar: İzole aorta dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ile 24 saat inkübasyonunu ifade etmektedir.

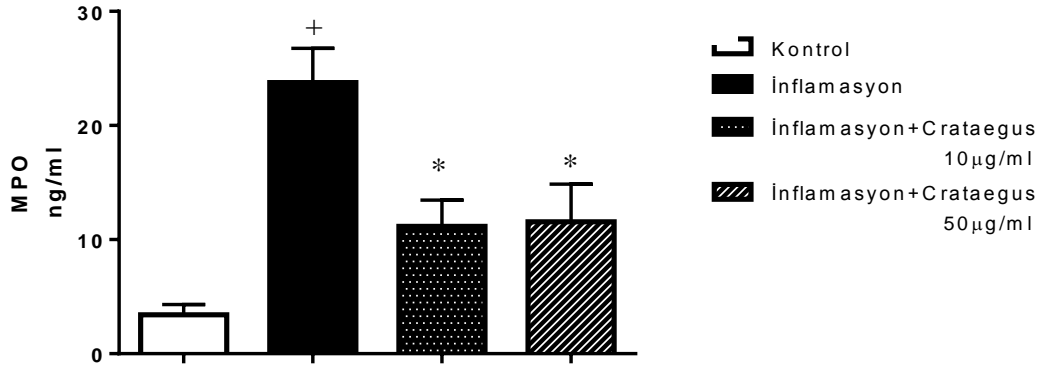
İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (10µg/ml): İzole dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ve 10 µg/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (50µg/ml): İzole aorta dokusunun LPS , IL1 $\beta$  ve 50 µg/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

n: İzole aorta doku sayısını ifade etmektedir.

+ p<0.0001: İnflamasyon ile kontrol koşullarındaki MPO düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

\* p<0.05 İnflamasyon ile inflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki MPO düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.



#### Şekil 4-52. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin MPO düzeyi üzerine etkisi

Kontrol: İnflamatuvar koşulun oluşturulmadığı ve *Crataegus* ekstresi ile inkübasyonun yapılmadığı izole aorta dokusunu ifade etmektedir.

İnflamasyon: İzole aorta dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ile 24 saat inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (10µg/ml): İzole dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ve 10 µg/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (50µg/ml): İzole aorta dokusunun LPS , IL1 $\beta$  ve 50 µg/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

+ p<0.0001: İnflamasyon ile kontrol koşullarındaki MPO düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

\* p<0.05 İnflamasyon ile inflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki MPO düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.



#### 4.4.3. İnflamatuvar koşullarda izole sıçan aortasından TNF alfa salıverilmesi üzerine *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresinin etkisi

Sonuçlar değerlendirildiğinde TNF $\alpha$  düzeyleri İnflamatuvar koşullarda kontrole oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır. *Crataegus* ekstresi her iki dozunda da inflamasyonda artış olan TNF $\alpha$  düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltarak kontrol düzeyine getirmiştir. Ancak *Crataegus* ekstresinin her iki dozu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.4288). Ekstrelerin dokudaki TNF  $\alpha$  salınımı üzerine olan etkisine ait sonuçlar Tablo 4-32 ve Şekil 4-53’de verildiği gibidir.

**Tablo 4-32. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin TNF $\alpha$  salınımı üzerine etkisi**

	TNF $\alpha$ Düzeyleri (pg/ml)	n
<b>Kontrol</b>	0	20
<b>İnflamasyon</b>	62,73 <sup>+</sup>	15
<b>İnflamasyon +<i>Crataegus</i> Ekstre (10<math>\mu</math>g/ml)</b>	25,93 <sup>*#</sup>	14
<b>İnflamasyon +<i>Crataegus</i> Ekstre (50<math>\mu</math>g/ml)</b>	38,67 <sup>*#</sup>	6

Kontrol: İnflamatuvar koşulun oluşturulmadığı ve *Crataegus* ekstresi ile inkübasyonun yapılmadığı izole aorta dokusunu ifade etmektedir.

İnflamatuvar: İzole aorta dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ile 24 saat inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (10 $\mu$ g/ml): İzole dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ve 10  $\mu$ g/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

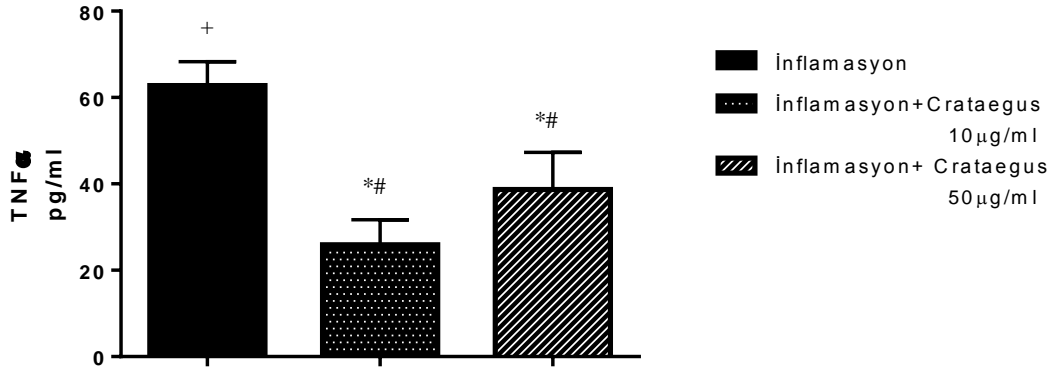
İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (50 $\mu$ g/ml): İzole aorta dokusunun LPS , IL1 $\beta$  ve 50  $\mu$ g/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

n: İzole aorta doku sayısını ifade etmektedir.

+p<0.0001: İnflamasyon ile kontrol koşullarındaki TNF  $\alpha$  düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

\*p<0,0005 : Kontrol koşulları ile İnflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki TNF $\alpha$  düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

#p<0.05 İnflamasyon ile inflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki TNF  $\alpha$  düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder



**Şekil 4-53. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin TNF  $\alpha$  salınımı üzerine etkisi**

Kontrol: İnflamatuar koşulun oluşturulmadığı ve *Crataegus* ekstresi ile inkübasyonun yapılmadığı izole aorta dokusunu ifade etmektedir.

İnflamatuar: İzole aorta dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ile 24 saat inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon + *Crataegus* Ekstre (10 $\mu$ g/ml): İzole dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ve 10  $\mu$ g/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon + *Crataegus* Ekstre (50 $\mu$ g/ml): İzole aorta dokusunun LPS , IL1 $\beta$  ve 50  $\mu$ g/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

+p<0.0001: İnflamasyon ile kontrol koşullarındaki TNF  $\alpha$  düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

\*p<0,0005 : Kontrol koşulları ile İnflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki TNF $\alpha$  düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

#p<0.05 İnflamasyon ile inflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki TNF  $\alpha$  düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder

#### 4.4.4. İnflamatuvar koşullarda izole sıçan aortasından IL-1 $\beta$ saliverilmesi üzerine *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresinin etkisi

Sonuçlar değerlendirildiğinde IL-1 $\beta$  düzeyleri İnflamatuvar koşullarda kontrole oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır. *Crataegus* ekstresinin 10 $\mu$ g/ml 'lik dozunun IL-1 $\beta$  düzeylerini anlamlı düzeyde düşürdüğü görülmüştür (p<0.0001). Ekstrenin 50 $\mu$ g/ml dozunun da IL-1 $\beta$  düzeyinde düşüşe neden olduğu görülmüş fakat, bu iki dozun etkileri kıyaslandığında, farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (p>0.05). Ekstrelerin IL-1 $\beta$  düzeylerine olan etkisine ait sonuçlar Tablo 4.33 ve Şekil 4.54'de verilmiştir.

**Tablo 4-33. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin IL-1 $\beta$  salınımı üzerine etkisi**

	IL-1 $\beta$ Düzeyleri (pg/ml)	N
<b>Kontrol</b>	0	20
<b>İnflamasyon</b>	32,8 <sup>+</sup>	15
<b>İnflamasyon +<i>Crataegus</i> Ekstre (10<math>\mu</math>g/ml)</b>	14,14 <sup>*#</sup>	14
<b>İnflamasyon +<i>Crataegus</i> Ekstre (50<math>\mu</math>g/ml)</b>	17,5 <sup>*#</sup>	6

Kontrol: İnflamatuvar koşulun oluşturulmadığı ve *Crataegus* ekstresi ile inkübasyonun yapılmadığı izole aorta dokusunu ifade etmektedir.

İnflamatuvar: İzole aorta dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ile 24 saat inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (10 $\mu$ g/ml): İzole dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ve 10  $\mu$ g/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

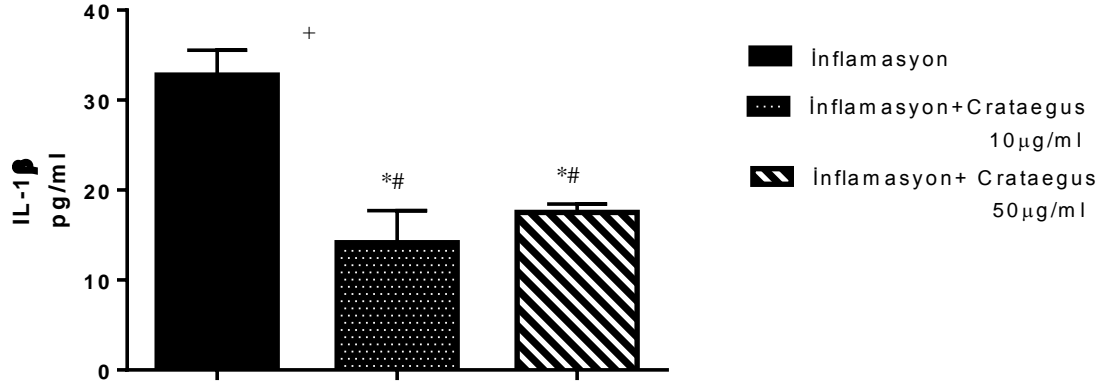
İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (50 $\mu$ g/ml): İzole aorta dokusunun LPS , IL1 $\beta$  ve 50  $\mu$ g/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

n: İzole aorta doku sayısını ifade etmektedir.

+p<0.0001: İnflamasyon ile kontrol koşullarındaki IL1 $\beta$  düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

\*p<0.005 Kontrol koşulları ile İnflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki IL1 $\beta$  düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

#p<0.05 İnflamasyon ile inflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki IL1 $\beta$  düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.



**Şekil 4-54. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin IL-1β salınımı üzerine etkisi**

Kontrol: İnflamatuar koşulun oluşturulmadığı ve *Crataegus* ekstresi ile inkübasyonun yapılmadığı izole aorta dokusunu ifade etmektedir.

İnflamatuar: İzole aorta dokusunun LPS ve IL1β ile 24 saat inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon + *Crataegus* Ekstre (10 μg/ml): İzole dokusunun LPS ve IL1β ve 10 μg/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon + *Crataegus* Ekstre (50 μg/ml): İzole aorta dokusunun LPS , IL1β ve 50 μg/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

+p<0.0001: İnflamasyon ile kontrol koşullarındaki IL1β düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

\*p<0.005 Kontrol koşulları ile İnflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki IL1β düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

#p<0.05 İnflamasyon ile inflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki IL1β düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

## 5. TARTIŞMA

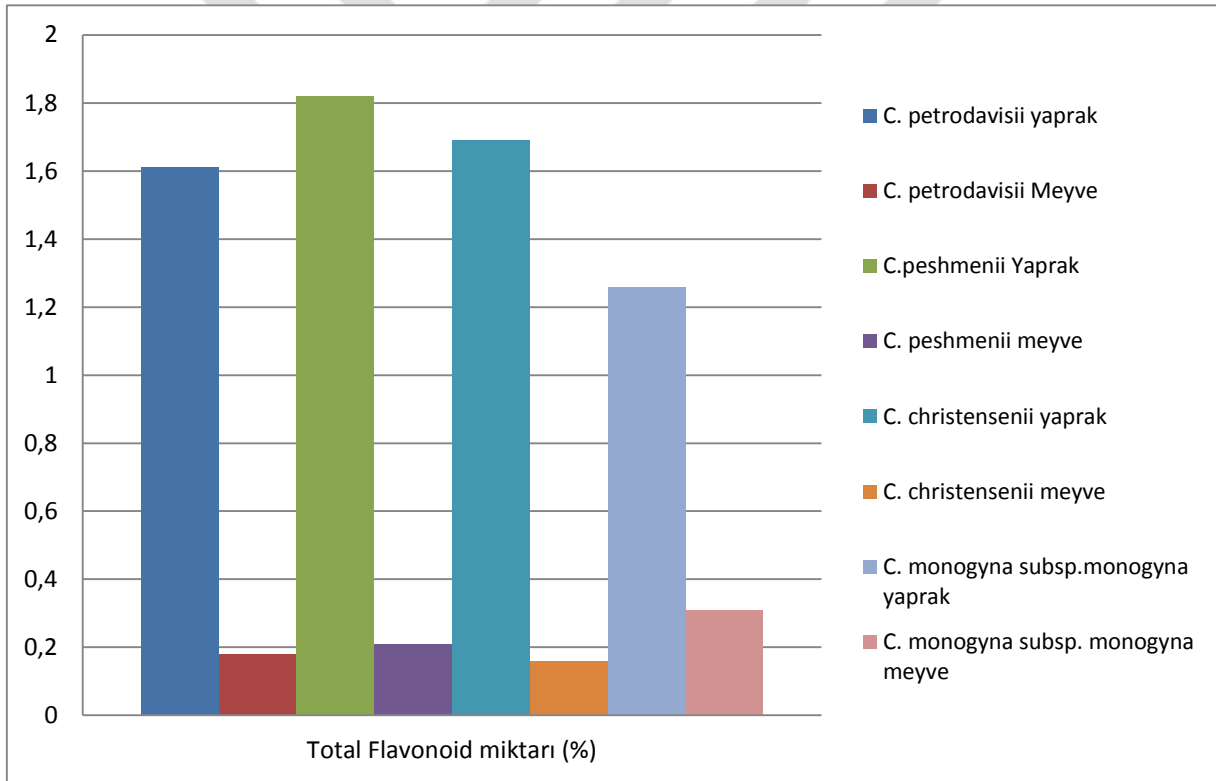
*Crataegus* türleri fitoterapinin en önemli bitkilerindedir. Fitoterapi alanında kardiyovasküler sistem rahatsızlıkları denilince ilk akla gelen bitkilerin başında gelmektedir. *Crataegus* türlerinin drog olarak kullanılan kısımları çiçek (*Crataegi flos*), yaprak (*Crataegi folium cum flores*) ve olgunlaşmamış meyveleri (*Crataegi fructus*)'dir. Monograflarda yer alan drog tanımı; *Crataegus* yaprak ve çiçeği, bütün veya parçalanmış halde olmalı, flavonoit içeriği (hiperozit üzerinden ifade edilir) %1,5'dan az olmamalıdır. Materyal, Avrupa Farmakopesi'ndeki monografa uymalıdır. *Crataegus* ile tedavide etkili maddenin tam olarak hangisi olduğu bulunamadığı için preparatlar standardize edilmiş ekstresinden hazırlanmaktadır. Etkiyi flavonoitler, prosiyanidinler ve kardiyotonik aminlerin birlikte sinerjik etki oluşturarak meydana getirdiği düşünülmektedir. *Crataegus* ilaçlarının birçok etki mekanizmaları (cAMP-fosfodiesteraz aktivitesinin inhibisyonu, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPaz aktivitesinin inhibisyonu, tromboksan (TXA<sub>2</sub>) sentezinin inhibisyonu, prostaglandin sentezinin stimülasyonu, antioksidan aktiviteler, insan nötrofil elastazının inhibisyonu gibi etki mekanizmaları) yardımıyla başlıca pozitif inotropik ve negatif kronotropik etkiler, koroner kan akımını arttırıcı, miyokardiyal dolaşıma pozitif yönde etki edici, periferik vazodilatasyon ve diüretik etki sonucu hipotansif etki, negatif batmotropik (Kas ve sinir uyarılabilirliğini azaltıcı etki, antiaritmik), hipolipidemik etki, iskemi reperfüzyon indüklü hasardan koruyucu, antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri bulunmaktadır. Bu etkileri nedeniyle hafif ve kronik kalp yetmezliklerinde (NYHA I ve II), ateroskleroz ve anjina pectoris tedavisinde, kimyasal kalp ilaçlarına karşıt hem miyokard yetmezliğinde hemde antianjiöz durumlarda, hafif bradiaritmiler ve hipertansiyonda kullanılmaktadır.

*Crataegus* türlerinin genetik çeşitlenme merkezi Türkiye'den İran'a kadar uzanmaktadır. Türkiye'de bazı yerlerin bu çeşitlenmenin merkezi olduğu düşünülmektedir. Türkiye'deki *Crataegus* türlerinde melezlenme yaygın bir durum olup, bu durum *Crataegus* türleri arasında çok fazla sinonim olmasının nedeni olarak düşünülmektedir.

Ülkemizde *Crataegus* türleri Türkiye Florasına'a göre, 21 takson 17 tür altında toplanmış olup bu taksonlardan 7 si endemik olarak belirtilmektedir. Fakat yapılan son revizyonlarda bu sayı 30 takson, 26 tür altında toplanmış, bu taksonlardan 10'u da endemik olarak kabul edilmiştir. Çalışmamızda fenolik bileşikler açısından kimyasal içerikleri; *C. petrodavisii*, *C. peshmenii* ve *C. christensenii* türleri ile tıbbi bir tür olarak kabul edilen *C.*

*monogyna* türünün, *C. monogyna* subsp. *monogyna* alt türü ile karşılatırmalı olarak; Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle tıbbi bir tür olarak incelenmiştir. Bu üç endemik türün kimyasal içerik açısından *C. monogyna* subsp. *monogyna* ile olan yakınlığı ve bir tıbbi tür olarak değerlendirilebilme olasılığı üzerine durulmuştur.

Fenolik bileşiklerin ve flavonoidlerin bitkilerin antiinflamatuvar ve antioksidan etkisinde önemli bir payı olduğu bilinmektedir. Bu amaçla ilk olarak çalışılacak türlerin flavonoid miktar tayinleri bölüm 3.2.2.3’de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Alınan sonuç değerlendirilerek antiinflamatuvar ve antioksidan aktivite çalışılacak ekstrenin *C. peshmenii* türünün yaprak ekstresi olmasına karar verilmiştir. Ekstrelerin total flavonoid miktarlarına ilişkin grafik Şekil 5-1’de gösterildiği gibidir.



**Şekil 5-1. Ekstrelerin total flavonoid miktar tayini sonuçları**

Fenolik bileşikler açısından içeriğinin aydınlatılmasında; fenolik asitlerden klorojenik asit ve kafeik asit, flavonoidlerden , viteksin, viteksin 4''-O glikozit, viteksin 2''-O rhamnozid, rutin, hiperozid, izokersetin, apigenin, apigenin 7-glikozit, luteolin, spireozit, kempfeol,

kempferol 3-glikozit, kersitrin ve kersetin standartlarından faydalanılarak, türlerden alınan yaprak ve ham meyve ekstralarının içeriklerine bakılmış, *C. monogyna* subsp. *monogyna* ile karşılaştırılmıştır.

HPLC için belirlenecek metod için ilk olarak farmakopeye başvurulmuş, yeterli ayırımın elde edilememesinden dolayı yeni literatür çalışmaları yapılmıştır. Yapılan literatür çalışmalarında uygulanan metotlar tek tek denenerek en uygun metod olduğu düşünülen Ying. Ve arkadaşlarının geliştirmiş oldukları HPLC metodunun üzerinde çalışılarak oluşturulmuştur [14].

Tablo 5 -1'de tüm dünyada *Crataegus* türleri ile yapılmış HPLC çalışmaları derlenmiştir. Tablo incelendiğinde bu güne kadar yapılmış çalışmalarda *Crataegus* türlerinin içeriğindeki bileşiklere nazaran çalışmamızda çok daha fazla standartla çalışıldığı görülmektedir. Bununla birlikte daha önce *Crataegus* türlerinde tespit edilememiş bazı maddelerin varlığı da ortaya konulmuştur. Ülkemizde *Crataegus* türleriyle ilgili yapılmış HPLC çalışması çok kısıtlı kalmıştır. Bu alanda yapılmış çalışmalardan biri olan Orhan ve arkadaşlarının (2007) yaptığı *C. aronia* var. *aronia*, *C. monogyna* subsp. *monogyna* ve *C. pseudoheterophylla* türünün yaprak ve meyvelerinin hiperozit ve viteksin 2''-O ramnozid içeriği incelenmiştir [62]. Bu noktada çalışmamız ile ülkemizde yetişen *Crataegus* türlerinin kimyasal içeriğinin en uygun metotla içeriğinin aydınlatılmasında önemli bir katkı sağlanmıştır.

Tablo 5-1. HPLC çalışması ile kimyasal içerikleri aydınlatılan *Crataegus* türleri

Tür	Drog	Flavonoller	C-glikozil flavonlar	Diğer Fenolik Bileşikler
<i>C. pinnatifida</i>	Meyve	Hiperozit, izokersetin, rutin, kersetin [43,128]	Viteksin [42]	Klorojenik asit, ideain [43, 128]
	Yaprak	Hiperozit, rutin, kersetin [127]	Viteksin [127]	
<i>C. pinnatifida</i> <i>var.major</i>	Meyve	Hiperozit, izokersetin, kersetin, kersetin-diramnozihexozit, kersetin-ramnozihexozit, rutin [43]	Viteksin [14,130]	Klorojenik asit, ideain; protokateşik asit [14,41,130,131]
	Yaprak	Hiperozit; izokersetin, rutin; 4 -O-ramnozilirutin [14,43,45]	2-O-asetilviteksin, 3-O-asetilviteksin, 6-O-asetilviteksin, 4-O-glukozilviteksin, pinnatifida A, B, C, D; viteksin, viteksin-2-ramnozit, viteksin-4-Oglukozit, 8-C-β-D-(2-O-asetil)-glukofuranozilapigenin [45,58,129,130]	Klorojenik asit [34,43,45]
<i>C. brettschneideri</i>	Meyve	Hiperozit; izokersetin [126]		Klorojenik asit, ideain [34]
<i>C. scabrifolia</i>	Meyve	Hiperozit; izokersetin; rutin [126]	Viteksin [127]	Klorojenik asit [126]
<i>c. cuneata</i>	Yaprak	Hiperozit, izokersetin, rutin, 4-O-ramnozilirutin [127]	4-O-glukozilviteksin, viteksin; viteksin-2-O-ramnozit, viteksin-4-O-glukozit [127]	Gallik asit, hidroksibenzoik asit, protokateşik aldehit [34]
<i>C. pinnatifida</i> <i>var.psilosa</i>	Meyve	Hiperozit, izokersetin [127]	Viteksin [127]	
	Yaprak	Hiperozit, kersetin-3-O-ramnozilgalaktozid [127]	Viteksin, viteksin-2-O-ramnozit [127]	
<i>C. hupehensis</i>	Meyve	Hiperozit, rutin Gao	Viteksin [127]	
	Yaprak	Hiperozit, rutin [127]		Klorojenik asit [127]
<i>C. sanguinea</i>		Hiperozit, rutin [127]	Viteksin [127]	
<i>C. maximowiczii</i>		Hiperozit, rutin [127]	Viteksin [127]	
<i>C. wilsoni</i>		Hiperozit, rutin [127]		Klorojenik asit [127]
<i>C. aurantia</i>		Hiperozit, rutin [127]		Klorojenik asit [127]
<i>C. kansuensis</i>	Meyve	Hiperozit [127]		
	Yaprak	Rutin [127]		Klorojenik asit [127]
<i>C. grayana</i>	Meyve	Hiperozit; kersetin-pentozit; metoksikempferolmetilpentozilheksozid, kersetin-heksozid asetat, kersetin-ramnozihexozit [68,129]	Luteolin-C-heksozid; metil luteolin-C-heksozid [127]	Neoklorojenik asit, klorojenik asit, ideain [127]
	Yaprak	Hiperozit, kersetin-pentozit, metoksikempferol-metilpentozilheksozid, kersetin-heksozid asetat, kersetin-ramnozihexozit[127]	Apigenin-C-heksozid, luteolin-C-heksozid, metil-luteolin-C-heksozid [127]	Klorojenik asit [127]
<i>C. monogyna</i>	Yaprak	Hiperozit, izokersetin, rutin, 4-O-ramnozilirutin, seksangularetin-3-O-glukozit, kempferol-3-O-glikozit [46,62]	4"-asetilviteksin-2"-O-ramnozit, 4"-O-glukozilviteksin, izoviteksin, viteksin, viteksin-2"-O-ramnozit, viteksin-4"-O-glukozit [46,62]	Klorojenik asit [46]
<i>C. monogyna</i> <i>subsp. Monogyna</i>	Meyve	Hiperozit [62]		
	Yaprak	Hiperozit [62]	Viteksin 2"-O ramnozit [62]	
<i>C. laevigata</i> <i>(Europe)</i>	Yaprak	Hiperozit, izokersetin, rutin [36,58]	Asetilviteksin-2-O-ramnozit, izoviteksin, viteksin, viteksin-2-O-ramnozit [36,58, 62]	Klorojenik asit; kafeik asit [36,62]
	Meyve	Hiperozit, izokersetin, rutin [36]		



<i>C. × macrocarpa</i>	Yaprak	Hiperozit, izokersetin, rutin [61]	Viteksin, viteksin-2"-O-ramnozid, (S) ve (R)-eriodiktiol-7-O-glukuronit; luteolin-7-O-β-D- glukuronit [61]	Klorojenik asit [61]
<i>C. azarolus</i> <i>var. aronia</i>	Çiçek	Hiperozit, izokersetin, rutin, spiraeosid, kersetin [30,132]	Viteksin, viteksin-2"-O-ramnozid, (S) ve (R)-eriodiktiol-7-O-glukuronit; luteolin-7-O-β-D- glukuronit [61]	Klorojenik asit [61]
<i>C. azarolus</i> <i>var. eu-azarolus</i>	Çiçek	Hiperozit, izokersetin, rutin, spiraeosid, kersetin [30]		Klorojenik asit [61]
<i>C. rhipidophylla</i>	Yaprak	Hiperozit, izokersetin, rutin, spiraeosid, kersetin [30]	İzoviteksin, viteksin, viteksin-2"-O-ramnozid, (S) ve (R)-eriodiktiol-7-O-glukuronit; luteolin-7-O-β-D- glukuronit [61]	Klorojenik asit [61]
<i>C. pentagyna</i>	Çiçek	Hiperozit, izokersetin, rutin, seksangularetin-3-O-glukozit [57]	İzoorientin, izoorientin-2-O-ramnozid; izoviteksin; orientin, orientin-2-O-ramnozid, viteksin, viteksin-2-O-ramnozid [57]	
<i>C. pseudoheterophylla</i>	Meyve	Hiperozit [62]		
	Yaprak	Hiperozit [62]	Viteskin 2"-O ramnozid [62]	
<i>C. aronia</i> var. <i>aronia</i>	Meyve	Hiperozit [62]		
	Yaprak	Hiperozit [62]	Viteskin 2"-O ramnozid [62]	

HPLC çalışmamızda tüm türlerin yaprak ve meyve ekstralarında belirtilen 16 madde varlığına ve miktarlarına ilişkin sonuçlar şu şekildedir.

#### *C. petrodavisii* yaprak ekstresi

*C. petrodavisii* yaprak ekstresinde Viteksin-4"-O-glikozit, siperozit, luteolin, kempferol bileşikleri haricinde tüm bileşiklere rastlanmıştır. Viteksin bileşiğinin bu ekstrenin major flavonoidi olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 5-2. *C. petrodavisii* yaprak ekstresinin fenolik bileşiklerinin içeriği

#### *C. petrodavisii* meyve ekstresi

*C. petrodavisii* meyve ekstresinde ise major bileşiğin rutin olduğu görülmüştür. Bu ekstrede Viteksin-2"-O-ramnozid, kersitrin, spirozid, luteolin ve kempferol bileşiklerine rastlanılmamıştır.



Şekil 5-3. *C. petrodavisii* meyve ekstresinin fenolik bileşiklerinin miktarları

### C. peshmenii yaprak ekstresi

*C. peshmenii* yaprak ekstresinde, HPLC çalışmamızın sonucunda çalışılan tüm bileşiklerin var olduğu görülmüştür. Bazılarının miktarları çok düşük olsa da hepsini içermesiyle diğer türlerden ayrılmıştır. Bununla birlikte ekstrenin major bileşiğinin viteksin olduğu gözlenmiştir.



Şekil 5-4. *C. peshmenii* yaprak ekstresindeki fenolik bileşiklerin miktarları

### C. peshmenii meyve ekstresi

*C. peshmenii* meyve ekstresi, diğer bileşiklere nazaran rutin bileşiğini oldukça yüksek oranda içermektedir. Ekstrede kafeik asit, apigenin 7-glikozit, apigenin'e rastlanmamıştır.



Şekil 5-5 . *C. peshmenii* meyve ekstresinin fenolik bileşiklerinin miktarları

### C. christensenii yaprak ekstresi

*C. christensenii* yaprak ekstresi içinde major bileşik viteksin olmuştur. Bununla birlikte bu ekstrede kempferol 3-glikozit ve kempferol'e rastlanmamıştır. Grafikte de görüldüğü üzere viteksin, rutin, hiperozit, izokersetin ve klorojenik asit bileşiklerini var olan diğer bileşiklere nazaran daha yüksek miktarda içerdiği görülmüştür.



Şekil 5-6 . *C. christensenii* yaprak ekstresinin fenolik bileşiklerinin miktarları

### C. christensenii meyve ekstresi

Bu ekstrede major bileşiğin hiperozit olduğu görülmüştür. Bununla birlikte ekstrede kafeik asit, luteolin, ve kempferol bileşiğine rastlanmamıştır.



Şekil 5-7 . *C. christensenii* meyve ekstresinin fenolik bileşiklerinin içeriği

*C. monogyna* subsp. *monogyna* yaprak ekstresi

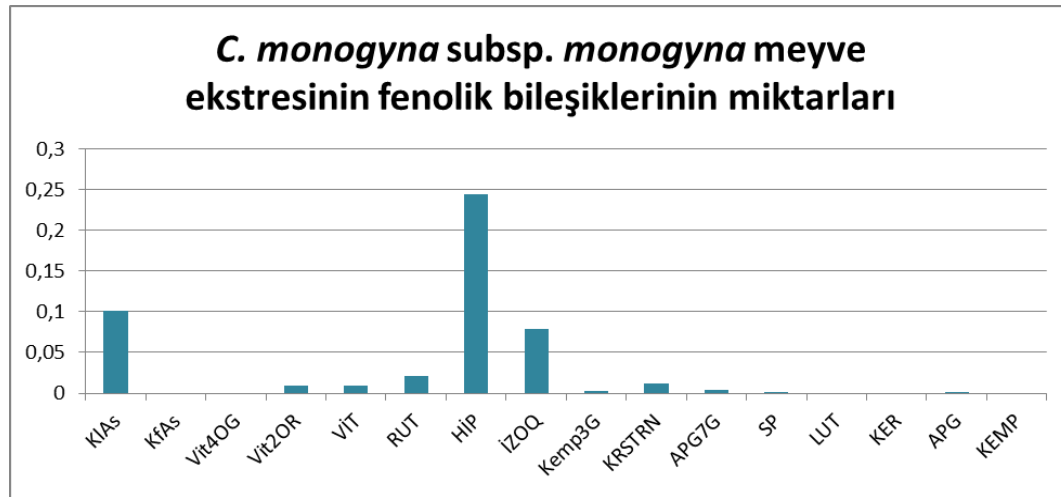
*C. monogyna* subsp. *monogyna* türü, çalışmamıza tıbbi tür olarak , diğer ekstrelerin bu türle kıyaslanabilmesi maksadıyla alınmıştır. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda tüm yaprak ekstrelerinde olduğu gibi bu ekstrede de major bileşiğin viteksin olduğu görülmüştür. Tüm yaprak ekstrelerindeki viteksin miktarı *C. monogyna* subsp. *monogyna* yaprak ekstresinden fazla olduğu görülmüştür. Viteksin 2''-O ramnozid bileşiğinin miktarı diğer yaprak ekstrelerine kıyasla bu ekstrede daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum çalışılan diğer yaprak ekstreleri ile bu ekstre arasında önemli bir fark yaratmıştır.



Şekil 5-8. *C. monogyna* subsp. *monogyna* yaprak ekstresinin fenolik bileşiklerinin miktarları

*C. monogyna* subsp. *monogyna* meyve ekstresi,

*C. monogyna* subsp. *monogyna* ekstresi baz alınarak, tüm meyve ekstraları kıyaslanacak olursa *C. peshmenii* ve *C. petrodavisii* meyve ekstralarında major bileşik rutin iken, *C. christensenii* meyve ekstresi ve *C. monogyna* subsp. *monogyna* meyve ekstresi için major bileşiğin hiperozit olduğu görülmüştür.

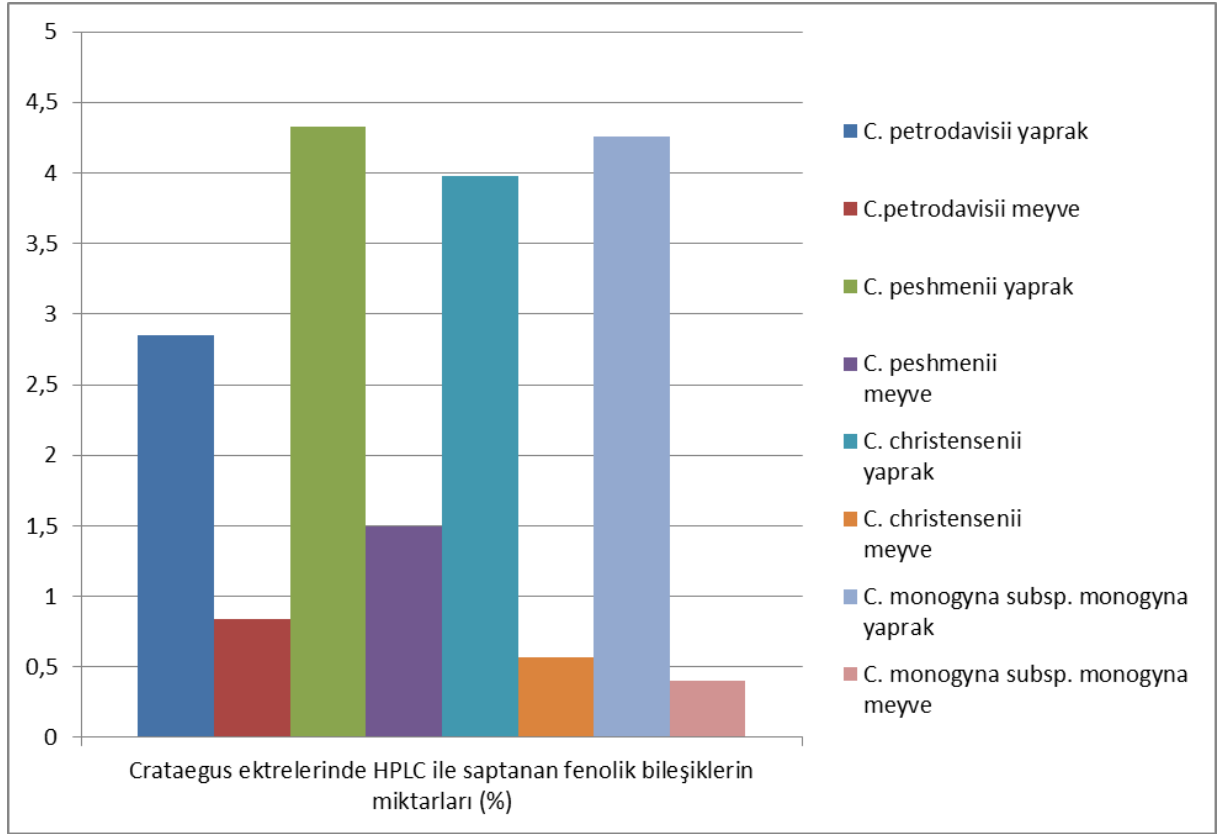


**Şekil 5-9. *C. monogyna* subsp. *monogyna* meyve ekstresinin fenolik bileşiklerinin miktarları**

HPLC'dan alınan sonuçlara göre çalışılan türlerin tek tek bu 16 madde açısından içerikleri ve bu maddelere ilişkin miktar tayinleri sonuçları aşağıdaki Tablo 5-2 de açık bir şekilde verilmiştir. Bu sonuçlara göre çalışılan örneklerde *C. petrodavisii* yaprak ekstresinde ana flavonoid viteksin, meyve ekstresinde rutin; *C. peshmenii* yaprak ekstresinde ana flavonoid viteksin, meyve ekstresinde rutin; *C. christensenii* yaprak ekstresinde viteksin, meyve ekstresinde hiperozit olduğu görülmüştür. Tıbbi tür olarak kabul edilen *C. monogyna* subsp. *monogyna* yaprak ekstresinde ana flavonoidin viteksin, meyve ekstresinde hiperozit olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde çalışılan üç türe ait drogların ana flavonoidlerinin viteksin, rutin ve hiperozit olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte çalışılan tüm ekstralarda, klorojenik asit, viteksin, rutin, hiperozit, izokersetin, apigenin 7-glikozit, ve apigenin bileşiklerinin var olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 5-2. *Crataegus* Ekstreleri üzerine yapılan HPLC çalışmasının sonuçları

Standartlar	Ekstreler	<i>C. petrodavisii</i> yaprak	<i>C. petrodavisii</i> meyve	<i>C. peshmenii</i> yaprak	<i>C. peshmenii</i> meyve	<i>C. christensenii</i> yaprak	<i>C. christensenii</i> meyve	<i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> yaprak	<i>C. monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i> meyve
Klorojenik asit (KIAs)		0,1239	0,0987	0,5715	0,1677	0,2153	0,1402	1,041	0,1017
Kafeik asit (KfAs)		0,0204	-	0,0224	-	0,0227	-	0,0227	-
Viteksin-4"-O-glikozit (Vit4OG)		0,1041	0,0016	0,1717	0,0096	0,0165	0,0247	0,0309	-
Viteksin-2"-O-ramnozid (Vit2OR)		-	0,0047	0,0223	0,0293	0,0202	0,0242	0,981	0,0092
Viteksin (VIT)		1,629	0,1949	1,6138	0,2232	2,1057	0,061	1,3366	0,0088
Rutin (RUT)		0,632	0,2421	0,7681	0,9234	0,3659	0,0451	0,0483	0,0204
Hiperozit (HIP)		0,1269	0,1266	0,5092	0,07	0,5704	0,1712	0,3729	0,2448
İzokersetin (İZOQ)		0,2007	0,0936	0,5922	0,0525	0,6239	0,0124	0,4182	0,0782
Kempferol 3-glikozit (Kemp3G)		0,0077	0,062	0,0405	0,0061	-	0,0126	-	0,0026
Kersitrin (KRSTRN)		-	0,0026	0,0047	0,0021	0,0225	0,0454	0,0021	0,0118
Apigenin 7-glikozit (APG7G)		0,0037	0,0032	0,001	0,0026	0,0126	0,0276	0,0039	0,0039
Siperozit (SP)		-	0,0035	0,0043	-	0,0006	0,0019	-	0,0017
Luteolin (LUT)		-	0,0006	0,001	0,0069	0,0006	-	0,0006	-
Kersetin (KER)		0,0017	0,0026	0,0013	0,0012	0,0005	0,003	0,0004	-
Apigenin (APG)		0,0006	0,0004	0,0002	0,001	0,0012	0,0001	0,0003	0,0006
Kempferol (KEMP)		-	-	0,0013	-	-	-	-	-



**Şekil 5-10. *Crataegus* ekstralarında HPLC ile saptanan fenolik bileşiklerin miktarları**

Şekil 5-10'da görüldüğü üzere HPLC çalışması neticesinde elde edilen verilere bakıldığında; ekstralarda yer alan tüm fenolik bileşiklerin yüzde miktarları toplandığında en yüksek değere *C. peshmenii* yaprak ekstresinin ulaştığı görülmüştür. Bu noktada tıbbi tür olarak kabul edilen *C. monogyna subsp. monogyna* ekstresinden daha yüksek bir değere sahip olduğu saptanmıştır.

Gerek total flavonoit miktarı ve gerekse HPLC çalışması neticesinde elde edilen sonuçlara bakılarak, *Crataegus peshmenii* türünün yaprak ekstresinin; diğer türlere nazaran daha yüksek düzeyde fenolik bileşik içermesinden dolayı *in vitro* antiinflamatuar ve antioksidan aktivite çalışması için en uygun olan ekstre olduğuna karar verilmiştir.

Bu amaçla sıçanlardan izole edilen aortalar IL-1 $\beta$  ve LPS ile 24 saat inkübe edilerek inflamasyon koşulları sağlanmıştır. *Crataegus* ekstresinin etkisi, inflamasyon oluşturulmuş grupta, Malondialdehit (MDA), Myeloperoksidaz (MPO), Tümör Nükleozis Faktör alfa (TNF  $\alpha$ ) ve İnterlökin -1 beta (IL-1 $\beta$ ) ELİSA kitleri ile ölçülerek değerlendirilmiştir.



Bu şekilde yapılan antiinflamatuvar ve antioksidan aktivite çalışmalarından alınan sonuçlar Tablo 5-3'de verilmiştir.

**Tablo 5-3. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin antiinflamatuvar ve antioksidan aktivite sonuçları**

	MDA Düzeyleri (nmol/ml)	MPO Düzeyleri (ng/ml)	TNF $\alpha$ Düzeyleri (pg/ml)	IL-1 $\beta$ Düzeyleri (pg/ml)
<b>Kontrol</b>	7,3	3,4	0	0
<b>İnflamasyon</b>	19,29 <sup>+</sup>	23,76 <sup>+</sup>	62,73 <sup>+</sup>	32,8 <sup>+</sup>
<b>İnflamasyon <i>Crataegus</i> Ekstre (10<math>\mu</math>g/ml)</b>	+ 10,36 <sup>*</sup>	11,15 <sup>*</sup>	25,93 <sup>*</sup>	14,14 <sup>*</sup>
<b>İnflamasyon <i>Crataegus</i> Ekstre (50<math>\mu</math>g/ml)</b>	+ 15,75 <sup>*</sup>	11,57 <sup>*</sup>	38,67 <sup>*</sup>	17,5 <sup>*</sup>

Kontrol: İnflamatuvar koşulun oluşturulmadığı ve *Crataegus* ekstresi ile inkübasyonun yapılmadığı izole aorta dokusunu ifade etmektedir.

İnflamasyon: İzole aorta dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ile 24 saat inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (10 $\mu$ g/ml): İzole dokusunun LPS ve IL1 $\beta$  ve 10  $\mu$ g/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

İnflamasyon +*Crataegus* Ekstre (50 $\mu$ g/ml): İzole aorta dokusunun LPS , IL1 $\beta$  ve 50  $\mu$ g/ml *Crataegus peshmenii* yaprak ekstresi ile (24 saat) inkübasyonunu ifade etmektedir.

+ p<0.0001: İnflamasyon ile kontrol koşullarındaki MDA,MPO,TNF  $\alpha$  veya IL-1 $\beta$  düzeyi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

\* p<0.05 İnflamasyon ile inflamasyon ile beraber *Crataegus* Ekstre varlığındaki izole aorta dokusundaki MDA,MPO,TNF  $\alpha$  veya IL-1 $\beta$  düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı farklılığı ifade eder.

TNF  $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ ; inflamasyonun oluşmasında rol oynayan sitokinler olarak bilinen, proinflamatuvar mediyatörlerdir. Organizmada inflamasyon durumunda salınan TNF  $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin düzeyleri inflamasyonun derecesini belirlemede önemli bir parametredir. Çalışmamızda, izole sıçan aortalarının IL-1 $\beta$  ve LPS ile 24 saat inkübe edilmesinin inflamatuvar koşul sağladığı da artmış olan TNF  $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  düzeyleri ile de onaylanmaktadır. Öte yandan bulgularımız *C. peshmenii* yaprak ekstresinin inflamatuvar koşullarda izole sıçan aortasından TNF  $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  salıverilmesini anlamlı düzeyde azalttığını göstermektedir, bu anlamda *C. peshmenii* ekstresinin antiinflamatuvar etkinliği ortaya konmuştur. Önceki çalışmalarda farklı *Crataegus* türlerinin TNF  $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerini azalttıklarını göstermesi çalışmamız bulgularını desteklemektedir [15], [17].

Antiinflamatuvar etkinliğin değerlendirildiği bir diğer parametre olan Myeloperoksidaz (MPO) düzeyine *C. peshmenii* yaprak ekstresinin etkisi araştırılmıştır. MPO polipeptit yapıda bir enzim olup, inflamasyon durumunda organizmadaki seviyeleri artarak inflamasyon oluşumunda önemli rol oynar. İnflamatuvar koşullarda artan MPO düzeyinin azalması

antiinflamatuvar etkinin ortaya konmasında önemlidir. Çalışmamızda *C. peshmenii* yaprak ekstresi, MPO düzeylerini azaltmada istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkinlik göstermiştir. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin izole sıçan aortasından salıverilen proinflamatuvar düzeylerini ve total inflamatuvar aktiviteyi azaltması birbirini destekleyen iki önemli sonuç olup, var olan literatüre bir katkı yaparak *C. peshmenii* yaprak ekstresinin antiinflamatuvar etkinliği olduğu *in vitro* olarak gösterilmiştir.

İnflamasyon ve oksidatif stres birbirini destekleyen iki patolojik süreçtir. Bir çok *in vitro* çalışmada MDA ve MPO düzeyleri birlikte değerlendirilmiştir [131]. Bu nedenle, çalışmamızda antiinflamatuvar etkinliğin yanı sıra antioksidan aktivitenin de değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Oksidatif stresin belirlenmesi için birçok çalışmada MDA düzeyleri ölçülmüştür. MDA, serbest radikallerin hücre membranındaki lipidlerle reaksiyona girmesi sonucu meydana gelen aldehitlerin başında olan oksidanlardandır. Bununla birlikte MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesinin belirlenmesinde dolaylı olarak antioksidan aktivitenin ortaya konulmasında, MDA düzeylerinin araştırılması büyük önem taşır. Çalışmamızda inflamasyonla artan MDA düzeylerini *C. peshmenii* yaprak ekstresinin anlamlı oranda düşürdüğü görülmüş, dolaylı şekilde antioksidan etkinliği tespit edilmiştir.

Çalışmamızda *C. peshmenii* yaprak ekstresinin iki farklı dozu kullanılmıştır (10µg/ml ve 50µg/ml). Ancak tüm biyokimyasal parametreler genel olarak antiinflamatuvar ve antioksidan etkinlik yönünden değerlendirildiğinde her iki doz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. *Crataegus* türleri ile ilgili yapılmış literatür verileri incelendiğinde, *in vivo* çalışmalarda farklı dozların kullanıldığı görülmektedir [15,17]. Her *in vitro* çalışma kendine özgü deneysel bir metot ile yürütülmektedir. Çalışmamızda kullandığımız her iki dozda da *C. peshmenii* yaprak ekstresinin anlamlı bir etkinlik göstermesi metodumuzda doğru bir dozlam oluşturduğumuzu göstermektedir.

Son yıllarda yürütülen prelinik ve klinik çalışmalar farklı *Crataegus* türlerinin tedavide kullanımlarına dair önemli faydalı bilgiler sunmaktadır. Çalışmamızda *C. peshmenii* yaprak ekstresinin antiinflamatuvar ve antioksidan etkinliği olduğu *in vitro* koşullarda gösterilmiştir. *C. peshmenii* yaprak ekstresinin günümüzde birçok patolojinin gelişiminde

önemli rol oynayan inflamasyonun azaltılmasındaki etkisinin var olan literatüre önemli bir katkı yapacağını düşünmekteyiz. Ancak *C. peshmenii* yaprak ekstresinin antiinflamatuvar ve antioksidan etkinliğinin araştırılması için daha detaylı *in vivo* çalışmalara da ihtiyaç duyulduğunu belirtmek isteriz.

Sonuç olarak; ülkemizde endemik olduğu bilinen, üzerinde çalışma yapılmamış üç türün HPLC'ye dayalı kimyasal çalışma ile içeriğindeki fenolik bileşikleri önemli ölçüde aydınlatılmıştır. Flavonoit içeriği açısından en zengin tür olarak tespit edilen *C. peshmenii* yaprak ekstresi üzerinde *in vitro* farmakolojik çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitesinin istatistiki açıdan anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür. Gerek kimyasal gerekse farmakolojik açıdan, çalışmamız orjinallik göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] T C Sağlık Bakanlığı. *Türkiye kalp ve damar hastalıklarını önleme ve kontrol programı: birincil, ikincil ve üçüncül korumaya yönelik stratejik plan ve eylem planı (2010-2014)*. TC Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü (internette) 2010.
- [2] <http://www.bizimbitkiler.org.tr/>
- [3] Davis, P. H., Mill, R. R. ve Tan, K. *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Edinburg:Edinburgh University Press;1988.
- [4] Escop and E. S. C. on Phytotherapy, *ESCOP Monographs: The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products*. Thieme;2003.
- [5] Baytop, T. *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)*. İstanbul:Nobel Kitapevi ; 1999.
- [6] Melikoglu, G., Mericli, F. ve Mericli, A. H. Flavonoids of *Crataegus orientalis*. *Boll. Chim.* 1999; **138**,7: 351–352.
- [7] Melikoğlu G. ve Meriçli, A. H. Flavonoids of *Crataegus stevenii*. *Pharmazie*, 2000; 55 : 326–327.
- [8] Melikoğlu, G. , Bitiş, L. ve Meriçli, A. H. Flavonoids of *Crataegus microphylla*. *Nat. Prod. Res.*, 2004; **18**, 3: 211–213.
- [9] Sozer, U., Donmez, A. A. ve Meriçli, A. H. Constituents from the leaves of *Crataegus davisii* Browicz. *Sci. Pharm.* 2006; **74**, 4: 203.
- [10] Edwards, J. E. , Brown, P. N., Talent, N. , Dickinson, T. A. ve Shipley, P. R. A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*. 2012; **79**:5–26.
- [11] Furey A. ve Tassell, M. Towards a systematic scientific approach in the assessment of efficacy of an herbal preparation: Hawthorn (*Crataegus* spp.). *Eur. J. Heart Fail.* 2008; **10**,12: 1153–1157.
- [12] Kumar, D., Arya, V., Bhat, Z. A., Khan, N. A. ve Prasad, D. N. The genus *Crataegus*: Chemical and pharmacological perspectives. *Brazilian J. Pharmacogn.* 2012; **22**, 5: 1187–1200.
- [13] Furey, A., Tassell, M., Kingston, R. , Gilroy, D. ve Lehane, M. Hawthorn (*Crataegus* spp.) in the treatment of cardiovascular disease. *Pharmacogn Rev.* 2010;**4**, 7: 32.
- [14] Ying, X., Wang, R., Xu, J., Zhang, W., Li, H., Zhang, C. ve Li, F. HPLC determination of eight polyphenols in the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major*. *J. Chromatogr. Sci.* 2009; **47**, 3: 201–205.

- [15] Kao, E. S., Wang, C. J., Lin, W. L., Yin, Y. F., Wang, C. P. ve Tseng, T. H. Anti-inflammatory potential of flavonoid contents from dried fruit of *Crataegus pinnatifida* *in vitro* and *in vivo*. *J. Agric. Food Chem.*2005; **53**, 2: 430–436.
- [16] Bor, Z. , Arslan, R. ve Bektaş, N. Antinociceptive, antiinflammatory, and antioxidant activities of the ethanol extract of *Crataegus orientalis* leaves,” *Turk J Med.*2012; **42**, 2: 315–324.
- [17] Topal, G., Koç, E., Karaca, Ç., Altuğ, T., Ergin, B., Demirci, C., Melikoğlu, G., Meriçli, A. H., Kucur, M., Özdemir, O. ve Sönmez Uydeş Doğan, B. Effects of *Crataegus microphylla* on vascular dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phyther. Res.*2013; **27**, 3: 330–337.
- [18] Tanker,N., Koyuncu, M. ve Coşkun, M. *Farmasötik Botanik Ders Kitabı*, Ankara: Ankara Üniversitesi Yayınları, 1993.
- [19] Dönmez, A. A. Nomenclatural, taxonomic and biogeographic novelties in the Turkish *Crataegus* L. (Rosaceae-Maleae) taxa. *Adansonia.*2014; **36**, 2: 245–253.
- [20] Dönmez, A. A. Taxonomic notes on the genus *Crataegus* (Rosaceae) in Turkey. *Bot. J. Linn. Soc.*2007; **155**, 2: 231–240.
- [21] Chapman, G. W., Horvat, R. J. ve J. A. Payne. The nonvolatile acid and sugar composition of mayhaw fruits (*Crataegus aestivalis*, *C. opaca*, *C. rufula*). *J. Food Qual.*1991; **14**,5: 435–439.
- [22] Bignami, C., Paolocci, M., Scossa, A. ve Bertazza, G. Preliminary evaluation of nutritional and medicinal components of *Crataegus azarolus* fruits. *International Conference on Medicinal and Aromatic Plants (Part II)* .2001:95–100.
- [23] Liu, P., Kallio, H., Lü, D., Zhou, C., Ou, S. ve Yang, B. Acids, sugars, and sugar alcohols in Chinese hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits. *J. Agric. Food Chem.*2010; **58**, 2: 1012–1019.
- [24] Glew, R. H., Ayaz, F. A., Sanz, C., VanderJagt, D. J., Huang, H. S., Chuang, L. T. ve Strnad, M. Changes in sugars, organic acids and amino acids in medlar (*Mespilus germanica* L.) during fruit development and maturation. *Food Chem.*2003; **83**,3:363–369.
- [25] Glew, R. H. , Ayaz, A. A., Sanz, C., VanderJagt, D. J., Huang, H. S. , Chuang, L. T. ve Strnad, M. Effect of postharvest period on sugars , organic acids and fatty acids composition in commercially sold medlar ( *Mespilus germanica* Dutch ) fruit. *Food Chem.* 2003;**83**: 390–394.
- [26] Han, S. K., Ko, Y. I., Park, S. J., Jin, I. J. ve Kim, Y. M. Oleanolic acid and ursolic acid stabilize liposomal membranes, *Lipids.*1997; **32**, 7: 769–773.

- [27] Tian, Y., Shi, S., Yu, Q. ve Upur, H. Determination of oleanolic acid and ursolic acid contents in *Ziziphora clinopodioides* Lam. by HPLC method. *Pharmacogn. Mag.*2010; **6**, 22: 116–119.
- [28] Gao, P. Y., Li, L. Z., Peng, Y., Li, F. F., Niu, C., Huang, X. X., Ming, M. ve Song, S. J. Monoterpene and lignan glycosides in the leaves of *Crataegus pinnatifida*. *Biochem. Syst. Ecol.*2010;**38**, 5: 988–992.
- [29] Song, S. J., Li, L. Z., Gao, P. Y., Peng, Y., Yang, J. Y. ve Wu, C. F. Terpenoids and hexenes from the leaves of *Crataegus pinnatifida*. *Food Chem.*2011; **129**, 3: 933–939.
- [30] Bahri-Sahloul, R., Ammar, S., Fredj, R. B., Saguem, S., Grec, S., Trotin, F. ve Skhiri, F. H. Polyphenol contents and antioxidant activities of extracts from flowers of two *Crataegus azarolus* L. varieties. *Pakistan J. Biol. Sci.*2009; **12**, 9: 660–668.
- [31] Hashempour, A., Ghazvini, R. F., Bakhshi, D., Ghasemnezhad, M., Sharafti, M. ve Ahmadian, H. Ascorbic Acid, Anthocyanins, and Phenolics Contents and Antioxidant Activity of Ber, Azarole, Raspberry, and Cornelian Cherry Fruit Genotypes Growing in Iran. *Hortic. Environ. Biotechnol.*2010; **51**, 83–88.
- [32] Lee, Y.C., Chuah, A. M., Yamaguchi, T., Takamura, H. ve Matoba, T. Antioxidant Activity of Traditional Chinese Medicinal Herbs. *Food Sci. Technol. Res.* 2008; **14**, 2: 205–210.
- [33] Froehlicher, T., Hennebelle, T., Martin-Nizard, F., Cleenewerck, P., Hilbert, J. L., Trotin, F. ve Grec, S. Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chem.*2009; **115**, 3:897–903.
- [34] Liu, P., Kallio, H., Lü, D., Zhou, C. ve Yang, B. Quantitative analysis of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits by high performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *Food Chem.*2011;**127**,3: 1370–1377.
- [35] Liu, R.H., Yu, B.-Y., Qiu, S.-X. and Zheng, D. Comparative analysis of eight major polyphenolic components in leaves of *Crataegus* L. by HPLC. *Chin. J. Nat. Med.*2005; **3**,162–167.
- [36] Svedström, U., Vuorela, H., Kostianen, R., Tuominen, J., Kokkonen, J., Rauha, J. P., Laakso, I. ve Hiltunen, R. Isolation and identification of oligomeric procyanidins from *Crataegus* leaves and flowers. *Phytochemistry.*2002 ;**60**, 8: 821–825.
- [37] Baborun, T., Trotin, F., Pommery, J., Vasseur, J. ve Pinkas, M. Antioxidant activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Planta Med.*1994; **60**, 4, 323–328.
- [38] Bernatoniene, J., Masteikova, R., Majiene, D., Savickas, A., Kevelaitis, E., Bernatoniene, R., Dvořáčková, K., Civinskiene, G., Lekas, R., Vitkevičius, K. ve Pečiura, R. Free radical-scavenging activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Medicina (B. Aires).*2008; **44**, 9:706–712.

- [39] Zhang, P. C., Zhou, Y. J. ve Xu, S. X. Two novel flavonoid glycosides from *Crataegus pinnatifida* Bge.var.major N.E.Br. *J. Asian Nat. Prod. Res.*2001;**3**, 1: 77–82.
- [40] Chen, G. ve Liu, W. Determination of Six Functional Compounds in *Crataegus pinnatifida* BGE by Capillary Zone Electrophoresis. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*2005; **28**, 2: 223–232.
- [41] Cui, T., Li, J. Z. , Kayahara, H. , Ma, L. , Wu, L. X. ve Nakamura, K. Quantification of the polyphenols and triterpene acids in Chinese hawthorn fruit by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 2006; **54**, 13: 4574–4581.
- [42] Gao, G. Y., Fengand, X. Y. ve Qin, Q. R. Analysis Of The Chemical Constituents Of Hawthorn Fruits And Their Quality Evaluati0n*Acta Pharmaceutica Sinica*, 1995. [Online]. Available: [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-YXXB502.011.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-YXXB502.011.htm). [Accessed: 01-Jan-1995].
- [43] Wen, L., Guo, X. , Liu, R. H., You, L., Abbasi, A. M. ve Fu, X. Phenolic contents and cellular antioxidant activity of Chinese hawthorn '*Crataegus pinnatifida*'. *Food Chem.*, 2015; **186**; 54–62.
- [44] Chang, Q., Zhu, M., Zuo, Z., Chow, M. ve Ho, W. K. High-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of hawthorn active components in rat plasma. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.*2001;**760**, 2: 227–235.
- [45] Cui, T., Nakamura, K., Tian, S., Kayahara, H. ve Tian, Y.-L. Polyphenolic content and physiological activities of Chinese hawthorn extracts. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2006;**70**,12:2948–2956.
- [46] Rehwald, A , Meier, B. ve Sticher, O. Qualitative and quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatography of flavonoids in *Crataegus* leaves and flowers. *J. Chromatogr. A.*1994; **677**, 1: 25–33.
- [47] Amanzadeh,Y., Khanavi, M. ve Khatamsaz, M. High performance thin-layer chromatographic fingerprints of flavonoids and phenol carboxylic acids for standardization of Iranian species of the genus *Crataegus* L. *Iran. J Pharm Sci.*2007; **3**, 3:143–152.
- [48] Si, J., Gao, G. ve Chen, D. Chemical constituents of the leaves of *Crataegus scabrifolia* (Franch.) Rehd. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*,1998; **23**,7:422–423, 448.
- [49] Kovaleva, A. M., Goncharov, N. F., Komissarenko,A. N., Sidora, N. V. ve Kovalev, S. V. GC/MS study of essential oil components from flowers of *Crataegus jackii*, *C. robesoniana*, and *C. flabellata*.*Chem. Nat. Compd.*2009; **45**,4: 582–584.
- [50] Peterson, J., Dwyer, J., Adlercreutz, H., Scalbert, A., Jacques, P. ve McCullough, M. L. Dietary lignans: Physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction. *Nutrition Reviews.*2010; **68**, 10: 571–603.

- [51] Saarinen, N. M., Wärrri, A., Airio, M., Smeds, A. ve Mäkelä, S. Role of dietary lignans in the reduction of breast cancer risk. *Mol. Nutr. Food Res.*2007;**51**,7:857–866.
- [52] Adlercreutz, H. Lignans and human health.. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*2007; **44**, 5–6: 483–525.
- [53] McCann, M. J., Gill, C.I.R., McGlynn, H.ve Rowland, I.R. Role of mammalian lignans in the prevention and treatment of prostate cancer. *Nutr.Cancer.*2005;**52**, 1:1–14.
- [54] Webb A. L. ve McCullough, M. L. Dietary lignans: potential role in cancer prevention. *Nutr Cancer.*2005;**51**, 2, 117–31.
- [55] Meriçli, A. H.ve Ergezen, K. Flavonoids of *Crataegus tanacetifolia* (Rosaceae), an endemic species from Turkey. *Sci. Pharm.*1994; **62**, 3: 277–281.
- [56] Lamaison, J. L.ve Carnat, A. Content of principal flavonoids of the flowers and leaves of *Crataegus monogyna* Jacq. and *Crataegus laevigata* (Poiret) DC. (Rosaceae). *Pharm. Acta Helv.*1990;**65**,11: 315–320.
- [57] Prinz, S., Ring, A., Huefner, A., Pemp, E. ve Kopp, B. “4-Acetylvitexin-2-O-rhamnoside, isoorientin, orientin, and 8-methoxykaempferol-3-O-glucoside as markers for the differentiation of *Crataegus monogyna* and *Crataegus pentagyna* from *Crataegus laevigata* (Rosaceae). *Chem. Biodivers.*2007; **4**, 12: 2920–2931.
- [58] Martino, E., Collina, S., Rossi, D., Bazzoni, D., Gaggeri, R., Bracco, F. ve Azzolina, O. Influence of the extraction mode on the yield of hyperoside, vitexin and vitexin-2-O-rhamnoside from *Crataegus monogyna* Jacq. (Hawthorn). *Phytochem. Anal.*2008; **19**, 6: 534–540.
- [59] Li, F., Yuan, Q. ve Rashid, F. Isolation, purification and immunobiological activity of a new water-soluble bee pollen polysaccharide from *Crataegus pinnatifida* Bge. *Carbohydr. Polym.*2009;**78**, 1, 80–88.
- [60] Shanthi, S., Parasakthy, K., Deepalakshmi, P. D. ve Devaraj, S. N. Hypolipidemic activity of tincture of *Crataegus* in rats. *Indian J. Biochem. Biophys.*1994; **31**, 2:143–6.
- [61] Ringl, A., Prinz, S., Huefner, A. , Kurzmann, M. ve Kopp, B. Chemosystematic value of flavonoids from *Crataegus x macrocarpa* (Rosaceae) with special emphasis on (R)- and (S)-eriodictyol-7-O-glucuronide and luteolin-7-O-glucuronide. *Chem. Biodivers.*2007; **4**,2: 154–162.
- [62] Orhan, I., Özçelik, B. , Kartal, M., Özdeveci, B. and Duman, H. HPLC Quantification of Vitexine-2"-O-rhamnoside and Hyperoside in Three Crataegus Species and Their Antimicrobial and Antiviral Activities.*Chromatographia.*2007;**66**, S1:153–157.
- [64] Li, F., Yuan, Q. ve Rashid, F. Isolation, purification and immunobiological activity of a new water-soluble bee pollen polysaccharide from *Crataegus pinnatifida* Bge. *Carbohydr. Polym.*2009 ;**78**, 1: 80–88.



- [64] Cheng, S., Qiu, F. , Huang, J. ve He, J. Simultaneous determination of vitexin-2"-O-glucoside, vitexin-2"-O-rhamnoside, rutin, and hyperoside in the extract of hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge.) leaves by RP-HPLC with ultraviolet photodiode array detection. *J. Sep. Sci.* 2007; **30**, 5: 717–721.
- [65] Liu, W., Chen, G. ve Cui, T. Determination of flavones in *Crataegus pinnatifida* by capillary zone electrophoresis., *J. Chromatogr. Sci.*2003; **41**, 2: 87–91.
- [66] Liu, P., Kallio, H., Lü, D., Zhou, C. ve Yang, B. Quantitative analysis of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits by high performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *Food Chem.*2011; **127**, 3: 1370–1377.
- [67] Zhang, Z., Chang, Q., Zhu, M., Huang, Y., Ho, W. K. K. ve Chen, Z. Y. Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits, *J. Nutr. Biochem.*2011; **12**, 3: 144–152.
- [68] Svedström, U., Vuorela, H., Kostianen, R., Laakso, I. ve Hiltunen, R. Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoids prior to high-performance liquid chromatographic analysis *J. Chromatogr. A*, 2006; **1112**, 1–2:103–111.
- [69] Ergezezen, K. *Crataegus tanacetifolia*(Lam) Pers.Üzerine Farmakognozik Bir Araştırma.Doktora tezi. İstanbul Üniversitesi, 1999.
- [70] Sözer, U. *Crataegus davisii türünün yapraklarının flavon bileşikleri yönünden araştırılması*,Yüksek Lisans Tezi. 2005.
- [71] Schüssler, M., Hölzl, J. ve Fricke, U. Myocardial effects of flavonoids from *Crataegus* species. *Arzneimittelforschung.*1995; **45**,8:842–845.
- [72] Long, S. R., Carey, R. A., Crofoot, K. M., Proteau, P. J. ve Filtz, T. M. Effect of hawthorn (*Crataegus oxycantha*) crude extract and chromatographic fractions on multiple activities in a cultured cardiomyocyte assay.*Phytomedicine.*2006; **13**,9–10: 643–650.
- [73] Koçyıldız, Z. Ç., Birman, H., Olgaç, V., Akgün-Dar, K., Melikoğlu, G. ve Meriçli, A. H. *Crataegus tanacetifolia* leaf extract prevents L-NAME-induced hypertension in rats: A morphological study. *Phyther. Res.*, 2006; **20**,1:66–70.
- [74] Müller, A., Linke, W. ve Klaus, W. *Crataegus* extract blocks potassium currents in guinea pig ventricular cardiac myocytes. *Planta Med.* 1999; **65**, 4: 335–309.
- [75] Müller, A., Linke, W., Zhao, Y. ve Klaus, W. *Crataegus* extract prolongs action potential duration in guinea-pig papillary muscle. *Phytomedicine.* 1996; **3**,3:257–261.

- [76] Schuessler, M., Gronwald, B., Hoelzl, J. ve Fricke, U. Cardiac effects of flavonoids from *Crataegus* species. *41st Annual Congress on Medicinal Plant Research, Duesseldorf (Germany)*.1993.
- [77] Chatterjee, S. S., Koch, E., Jaggy, H. ve Krzeminski, T. *In vitro* and *in vivo* studies on the cardioprotective action of oligomeric procyanidins in a *Crataegus* extract of leaves and blooms. *Arzneimittelforschung*.1997; **47**, 7: 821–825.
- [78] Jayalakshmi, R. ve Niranjali Devaraj, S. Cardioprotective effect of tincture of *Crataegus* on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *J. Pharm. Pharmacol.*2004; **56**, 7: 921–926.
- [79] Lacaille-Dubois, U. F. ve Wagner, H. Search for potential angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitors from plants. *Phytomedicine*.2001; **8**, 1:47–52.
- [80] Rewerski, W., Piechocki, T., Rylski, M. ve Lewak, S. Pharmacological properties of oligomeric procyanidine isolated from hawthorn (*Crataegus oxyacantha*). *Arzneimittel-Forschung*, 1971;**21**,6.:886–888.
- [81] Weihmayr, T. ve Ernst, E. Therapeutic effectiveness of *Crataegus*. *Fortschr. Med.*, 1996; **114**, 1–2:27–29.
- [82] Hanak, T. H. ve Brückel, W. H. Behandlung von leichten stabilen Formen der Angina pectoris mit Crataegutt® novo, *Therapiewoche*,1983; **33**:4331–4333.
- [83] Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T. E., Khoo, J. C. ve Witztum, J. L. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med*, 1989; **320**: 915–924.
- [84] Knipping, G., Rotheneder, M., Striegl, G. ve Esterbauer, H. Antioxidants and resistance against oxidation of porcine LDL subfractions. *J. Lipid Res*.1990; **31**,11:1965–1972.
- [85] Rakotoarison, D. A., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C. ve Pinkas, M. Antioxidant activities of polyphenolic extracts from flowers, *in vitro* callus and cell suspension cultures of *Crataegus monogyna*. *Pharmazie*.1997; **52**, 1:60–64.
- [86] Quettier-Deleu, C., Voiselle, G., Fruchart, J. C., Duriez, P., Teissier, E. , Bailleul, F. , Vasseur, J. ve Trotin, F. Hawthorn extracts inhibit LDL oxidation. *Pharmazie*, 2003; **58**, 8:577–581.
- [87] Ljubuncic, P., Portnaya, I., Cogan, U., Azaizeh, H. ve Bomzon, A. Antioxidant activity of *Crataegus aronia* aqueous extract used in traditional Arab medicine in Israel. *J. Ethnopharmacol.*2005; **101**, 1–3: 153–161.
- [88] Mills, S. ve Bone, K. *Principles and practice of phytotherapy. Modern herbal medicine*. Churchill Livingstone, 2000.

- [89] Chu, C. Y., Lee, M. J., Liao, C. L., Lin, W. L., Yin, Y.F. ve Tseng, T. H. Inhibitory effect of hot-water extract from dried fruit of *Crataegus pinnatifida* on low-density lipoprotein (LDL) oxidation in cell and cell-free systems. *J. Agric. Food Chem.* 2003; **51**, 26:7583–7588.
- [90] Ljubuncic, P. , Azaizeh, H., Cogan, U. ve Bomzon, A. The Effects of a Decoction Prepared from the Leaves and Unripe Fruits of *Crataegus aronia* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J. Complement. Integr. Med.*2006; **3**, 1.
- [91] Ahumada, C., Sáenz, T., García, D., De La Puerta, R., Fernandez, A. ve Martinez, E. The effects of a triterpene fraction isolated from *Crataegus monogyna* Jacq. on different acute inflammation models in rats and mice. Leucocyte migration and phospholipase A2 inhibition. *J. Pharm. Pharmacol.*1997; **49**, 3:329–31.
- [92] Vibes, J., Lasserre, B., Gleye, J. ve Declume, C. Inhibition of thromboxane A2 biosynthesis in vitro by the main components of *Crataegus oxyacantha* (Hawthorn) flower heads. *Prostaglandins, Leukot. Essent. Fat. Acids* 1994; **50**,4:173–175.
- [93] Erdemoglu, N., Akkol, E. K., Yesilada, E.ve Caliş, I. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory and antinociceptive principles from a folk remedy, *Rhododendron ponticum* L. leaves. *J. Ethnopharmacol.*2008; **119**,1: 172–178.
- [94] Güvenç, A., Okada, Y., Akkol, E. K., Duman, H., Okuyama, T. ve Çaliş, I. Investigations of anti-inflammatory, antinociceptive, antioxidant and aldose reductase inhibitory activities of phenolic compounds from *Sideritis brevibracteata*. *Food Chem.*2010; **118**, 3:686–692.
- [95] Wu, J., Peng, W., Qin, R.,ve Zhou, H. *Crataegus pinnatifida*: Chemical Constituents, Pharmacology, and Potential Applications. *Molecules*, 2014;**19**,2: 1685–1712.
- [96] Khalil, R., Abuharfeil, N. ve Shabsoug, B. The effect of *Crataegus aronica* aqueous extract in rabbits fed with high cholesterol diet. *Eur J Sci. Res*, 2008; **22**:352–360.
- [97] Wang, T., Zhang, P., Zhao, C., Zhang, Y., Liu, H., Hu, L., Gao, X. ve Zhang, D. Prevention effect in selenite-induced cataract in vivo and antioxidative effects in vitro of *Crataegus pinnatifida* leaves. *Biol. Trace Elem. Res.*2011; **142**,1:106–116.
- [98] Shahat, A.A., Ismail, S. I., Hammouda, F. M. , Azzam, S. A., Lemièrè, G., De Bruyne, T., De Swaef, S., Pieters, L. ve Vlietinck, A. Anti-HIV activity of flavonoids and proanthocyanidins from *Crataegus sinaica*. *Phytomedicine*,1998; **5**, 2: 133–136.
- [99] Tabach, R., Rodrigues, E. ve Carlini, E. A. Preclinical toxicological assessment of a phytotherapeutic product – CPV (based on dry extracts of *Crataegus oxyacantha* L., *Passiflora incarnata* L., and *Valeriana officinalis* L.) *Phytotherapy Res.* 2009; **23**: 33–40.
- [100] Min, B. S., Kim, Y. H., Lee, S. M., Jung, H. J., Lee, J. S., Na, M. K., Lee, C. O., Lee, J. P. ve Bae, K. Cytotoxic triterpenes from *Crataegus pinnatifida*. *Arch. Pharm. Res.*,2000;**23**, 2:155–158.

- [101] Kao, E. S., Wang, C. J., Lin, W. L., Chu, C. Y. ve Tseng, T. H. Effects of polyphenols derived from fruit of *Crataegus pinnatifida* on cell transformation, dermal edema and skin tumor formation by phorbol ester application. *Food Chem. Toxicol.*2007;**45**, 10:1795–1804.
- [102] Al-hallaq, E. K., Kasabri, V., Abdalla, S. S., Bustanji, Y. K. ve Afifi, F. U. Anti-Obesity and Antihyperglycemic Effects of *Crataegus aronia* Extracts : *In Vitro* and *In Vivo* Evaluations. *Food and Nutrition Sciences.*2013; **4**,9: 972–983.
- [103] Pittler, M. H., Schmidt, K. ve Ernst, E. Hawthorn extract for treating chronic heart failure: meta-analysis of randomized trials. *Am. J. Med.* 2003; **114**, 8: 665–674.
- [104] Iwamoto, M., Sato, T.ve Ishizaki, T. The clinical effect of Crataegutt in heart disease of ischemic or hypertensive origin. A multicenter double-blind study, *Planta Medica* 1981; **42** ,1: 1-16.
- [105] Schmidt, U., Kuhn, U., Ploch, M. ve Hübner, W. D. Efficacy of the Hawthorn (*Crataegus*) preparation LI 132 in 78 patients with chronic congestive heart failure defined as NYHA functional class II. *Phytomedicine*, 1994; **1**, 1:17–24.
- [106] Walker, A. F., Marakis, G., Morris, A. P. ve Robinson, P. A. Promising hypotensive effect of hawthorn extract: A randomized double-blind pilot study of mild, essential hypertension. *Phyther. Res.*, 2002; **16**, 1: 48–54.
- [107] Asgary, S., Naderi, G. H., Sadeghi, M., Kelishadi, R.ve Amiri, M. Antihypertensive effect of Iranian *Crataegus curvisepala* Lind.: a randomized, double-blind study. *Drugs Exp. Clin. Res.*2004;**30**:**5–6**: 221–5.
- [108] Degenring, F. H., Suter, A., Weber, M. ve Saller, R. A randomised double blind placebo controlled clinical trial of a standardised extract of fresh *Crataegus* berries (Crataegisan) in the treatment of patients with congestive heart failure NYHA II. *Phytomedicine*,2003;**10**, 5: 363–369.
- [109] Hanus, M., Lafon, J. Ve Mathieu, M. Double-Blind, Randomised, Placebo-Controlled Study To Evaluate The Efficacy And Safety Of A Fixed Combination Containing Two Plant Extracts (*Crataegus Oxyacantha* And *Eschscholtzia Californica*) And Magnesium In Mild-To-Moderate Anxiety Disorders. *Curr. Med. Res. Opinon.* 2004; **20**, 1: 63–70.
- [110] Schröder, D., Weiser, M. ve Klein, P. Efficacy of a homeopathic Crataegus preparation compared with usual therapy for mild (NYHA II) cardiac insufficiency: results of an observational cohort study . *Eur J Heart Fail.*2003;**5**:319-326.
- [111] Tankanow, R., Tamer, H. R, Streetman, D. S., Smith, S. G. , Welton, J. L., Annesley, T., Aaronson, K.D. ve Bleske, B. E. Interaction study between digoxin and a preparation of hawthorn (*Crataegus oxyacantha*).*J. Clin. Pharmacol.*2003;**43**,6:637–642.

- [112] Weikl, A., Assmus, K. D., Neukum-Schmidt, A., Schmitz, J., Zapfe, G., Noh, H. S. ve Siegrist, J. *Crataegus* Special Extract WS 1442. Assessment of objective effectiveness in patients with heart failure (NYHA II). *Fortschr. Med.*,1996; **114**, 24: 291–6.
- [113] Tauchert, M. Efficacy and safety of *crataegus* extract WS 1442 in comparison with placebo in patients with chronic stable New York Heart Association class-III heart failure. *Am. Heart J.*2002; **143**, 5, 910–915.
- [114] Zapfe G. Clinical efficacy of crataegus extract WS 1442 in congestive heart failure NYHA class II. *Phytomedicine.*2001;**8**,4:262–266.
- [115] Zick, S. M., Gillespie, B. ve Aaronson, K. D. The effect of *Crataegus oxycantha* special extract WS 1442 on clinical progression in patients with mild to moderate symptoms of heart failure. *Eur. J. Heart Fail.*2008;**10**,6: 587–593.
- [116] Zick, S. M., Vautaw, B. M., Gillespie, B. ve Aaronson, K. D. Hawthorn Extract Randomized Blinded Chronic Heart Failure (HERB CHF) trial. *Eur. J. Heart Fail.*2009;**11**, 10: 990–999.
- [117] Ammon, H. P. T. ve Haendel, M. *Crataegus*, toxicology and pharmacology. Part I. Toxicity. *Planta Med.*1981; **43**, 1:105–120.
- [118] Schimmer, O., Hafele, F. ve Kruger, A. The mutagenic potencies of plant extracts containing quercetin in Salmonella typhimurium TA98 and TA100. *Mutat. Res.*1988; **206**, 2:201–208.
- [119] Aronson, J. K. *Meyler's Side Effects of Herbal Medicines*. Elsevier, 2009.
- [120] Dökmeci, İ. *Farmakoloji Temel Kavramlar*. İstanbul: Nobel Kitabevi, 2000.
- [121] Akira, S., Hirano, T., Taga, T. ve Kishimoto, T. Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). *FASEB J.* 1990. **4**, 11, 2860–2867.
- [122] Doğan, A., Doğan, L. A., Canpınar, H. ve Demirpençe, E. Hidroksiürenin Lökositlerin Mikrobisid Fonksiyonlarına Etkileri. *Turk J Biochem*, 2004;**29**,3,232–236.
- [123] Davies, M. J. Myeloperoxidase derived oxidation : mechanisms of biological damage and its prevention.*J.Clin.Biochem.Nutr.*2011;**48**, 1: 8–19.
- [124] Marnett, L. J. Lipid peroxidation — DNA damage by malondialdehyde,*Mutat. Res.* 1999;**424**:83-95.
- [125] Eker, B. Serbest radikal hasarının göstergesi olarak idrarda malondialdehit ölçümü. Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, 2011.
- [126] Liu, P., Kallio, H. ve Yang, B. Phenolic compounds in hawthorn (*Crataegus grayana*) fruits and leaves and changes during fruit ripening. *J. Agric. Food Chem.*2011; **59**,20, 11141–11149.

- [127] Gao, G., Feng, Y., Beuscher, N., Ehret, L. ve Gerke, H. Identification and quality comparison of German and Chinese hawthorn. *Chin Pharm. J*, 1995;**30**: 589–591.
- [128] Zhang P. C. ve Xu, S. X. Chemical constituents from the leaves of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N.E.Br. *Acta phamaceutica Sin.*, 2001;**36**,10,754–757.
- [129] Liu, P., Yang, B. ve Kallio, H. Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major*) fruit by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chem.* 2010; **121**, 4: 1188–1197.
- [130] Bahri-sahloul, Ben Fredj, R., Boughalleb, N., Shriiaa, J., Saguem, S., Hilbert, J., Trotin, F., Ammar, S., Bouzid, S. ve Harzallah-skhir, F. Phenolic Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts Obtained from *Crataegus azarolus* L. var. *aronia* (Willd.) Batt. *Ovaries Calli. J Bot.* 2014;1-11.
- [131] Ho, E., Karimi, K., Liu, C., Bhindi, R. ve Figtree, G. A. Redox Biology Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biol.*, 2013;**1**,1:483–491.

## ETİK KURUL KARARI



T.C  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2013/ 91

29 / 07 / 2013

Sayın: Doç. Dr. Gülay MELİKOĞLU  
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

**Karar No** :2013/91

**Başvuru** :22.07.2013

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen **Araş.Gör. Sezin KURTOĞLU**'na ait "Türkiye'de Yetişen *Cratagus aronia* (L.) Bosc.Ex DC Varyeteleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	20
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi		02.09.2013/02.09.2015

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ  
İÜ HADYEK Başkanı

Prof.Dr. Mehmet YALDIRIK  
İÜ HADYEK Başkan Yardımcısı

Prof.Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK  
Üye

Prof.Dr. Ufuk ÇAKATAY  
Üye

Doç.Dr. Alper OKYAR  
Üye

Yard.Doç.Dr. Altan ARMUTAK  
Üye

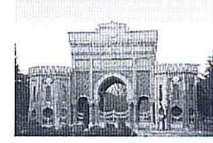
Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ  
Üye

Yard.Doç.Dr..Burak OLGUN  
Üye

Avukat Selma DEMİR  
Üye



T.C  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı:2015/49  
Konu:

05 /11 /2015

Sayın Doç. Dr. Gülay MELİKOĞLU  
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Farmakognozi Anabilim Dalı

**İLGİ:**03.11.2015 tarihli dilekçeniz.

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, **Doktora öğrencisi Sezin KURTOĞLU**'na ait 29.07.2013 tarih ve 2013/91 sayı ile etik kurul onayı almış bulunan "Türkiye'de Yetişen Crataegus aronia (L.) Bosc. Ex DC Varyeteleri Üzerinde Farmakognozیک Araştırmalar" adlı çalışmanızın başlığında, adı geçen "Crataegus" türünün revizyona girmesiyle tür adının değiştiği belirtilmektedir. Çalışmada kullanılacak olan bitkisel materyaller ile proje başlığının "**Crataegus Petrodavisii Dönmez, Crataegus Peshmenii Dönmez ve Crataegus Christensenii DÖNMEZ Türleri Üzerine Farmakognozیک Araştırmalar**" olarak değiştirilmesi ve proje bitiş tarihinin **31.12.2015 tarihine kadar uzatılması** yönündeki teklifleriniz, daha önce aldığınız etik kurul kararı geçerli olmak üzere Kurulumuzca uygun bulunmuştur.

Gereği için bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ  
İÜ HADYEK Başkanı