



T.C.

ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MOLEKÜLER BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA *ROSA DAMASCENA*' DAN ELDE
EDİLEN FİTOKİMYASALLAR ÜZERİNE KARŞILAŞTIRMALI İN VİTRO
ÇALIŞMALAR

Oya TÜRKMEN

Dr. Öğretim Üyesi Shirin TARBIAT

İSTANBUL- 2020

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NÖRODEJENARATİF HASTALIKLARDA *ROSA DAMASCENA*' DAN ELDE
EDİLEN FİTOKİMYASALLAR ÜZERİNE KARŞILAŞTIRMALI İN VİTRO
ÇALIŞMALAR**

Oya TÜRKMEN

Dr. Öğretim Üyesi Shirin TARBIAT

İSTANBUL- 2020

ÖZET

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA *ROSA DAMASCENA*' DAN ELDE EDİLEN FİTOKİMYASALLAR ÜZERİNE KARŞILAŞTIRMALI İN VİTRO ÇALIŞMALAR

Oksidatif stres ve önemli enzimlerin inhibisyonu, yaygın olarak alzheimer hastalığı, parkinson hastalığı, huntington hastalığı ve depresyon gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde ve tedavi edilmesinde rol oynar. Bu çalışmada Isparta, Türkiye'den beş farklı çeşit *Rosa damascena Mill* kurutulmuş yaprağı; *Rosa damascena* 'Bulgarica', *Rosa damascena* 'Faik', *Rosa damascena* 'Iranica', *Rosa damascena* 'Complex-35' ve *Rosa damascena* 'Complex-37' varyasyonları Asetilkolinesteraz (AChE) ve Monoamino oksidaz (MAO) inhibisyon aktivitesi, antioksidan kapasiteleri ve radikal uzaklaştırma aktiviteleri açısından incelenmiştir. Çalışma dört aşamada tasarlanmıştır: İlk aşama: *Rosa damascena* kurutulmuş yaprakları toz haline getirilmiş ve etanol çözücü içinde ekstre edilmiştir. İkinci aşama: antioksidan tayinleri Ferrik İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) ile değerlendirilmiş ve antioksidan aktivitesi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve hidroksil söndürme aktivite yöntemleri ile belirlenmiştir. Üçüncü aşama: Wistar sıçanının beyni, aktivite testi için enzim kaynağı olarak kullanılmıştır ve AChE aktivitesi Ellman yöntemi ile standardize edilmiştir. Bitkinin AChE inhibitör aktivitesi de ölçülmüştür. Dördüncü aşamada, Monoamino oksidaz aktivitesi standardize edilmiş ve yaprak özleri ile inhibisyonu incelenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak analiz edilmiş ve yorumlanmıştır.

FRAP değerleri, gram kuru ağırlığı (KA) başına E vitamini eşdeğeri olarak ifade edilir. E vitamini eşdeğerleri 0.11 mmol ila 0.22 mmol arasında değişmiştir. En yüksek değerler *R. bulgarica* için not edilmiştir.

Serbest radikal uzaklaştırma etkinliğine göre; *Rosa damascena*'nın DPPH radikal söndürücü aktivitesinin artan konsantrasyon ile birlikte arttığı görülmüştür. Standart olarak kullanılan askorbik asit, $IC_{50} = 0.37 \pm 0.48 \mu\text{g} / \text{ml}$ ile maksimum serbest radikal uzaklaştırıcı aktivite göstermiştir. *Rosa damascena*'nın etanolik ekstresi $1.09 \pm 0.20 \mu\text{g} / \text{ml}$ IC_{50} değeri ile ayrılır, diğer beş ekstrakt ile karşılaştırıldığında en güçlü DPPH radikal uzaklaştırıcı aktivitesini göstermiştir. Buna ek olarak, *R. bulgarica* yaprak ekstraktlarının

IC₅₀ = 0.921 ± 0.2 ile en yüksek hidroksil söndürme aktivitesi aktivitesini gösterdiği bulunmuştur.

Rosa damascena kurutulmuş yaprakları etanol ile elde edilen özütlerin beş örneğinin asetilkolinesteraz (15 µg, 25 µg, 50 µg / ml) ve Monoamin oksidaz inhibisyon potansiyeli (3 µg, 10 µg, 20 µg / ml) konsantrasyon aralıklarında belirlendi. Sonuçlar, AChE aktivitesinin bir konsantrasyonda inhibe edildiğini ortaya çıkardı. Negatif kontrol (sadece enzim, 0.87 U / mg) ve aynı pozitif kontrol konsantrasyonları (donepezil) ile karşılaştırıldığında

R. bulgarica > *R. iranica* > *R. faik* > *R. COM-37* > *R. COM-35*'e bağlı bir şekilde inhibe edildiğini gösterdi.

Monoamin inhibisyon aktivitesinin sonucu, *R. iranica* ekstresinin *R. bulgarica*, *R. COM-37*, *R. faik*, *R. COM-35*'ten daha yüksek bir MAO inhibitör aktivitesine sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Bu çalışma ile bu çalışmada kullanılan tüm yaprak örneklerinin anlamlı bir AChE ve MAO inhibitör potansiyeli ve radikal uzaklaştırma aktivite gösterdiğini ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde alternatif tedavi olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer, Asetilkolin, Asetilkolinesteraz, DPPH radikal uzaklaştırma aktivitesi, Monoamin oksidaz inhibisyon aktivitesi.

ABSTRACT

Oxidative stress and inhibition of important enzymes is commonly involved in the pathogenesis and treatment of various neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease and depression. In this study five different varieties of *Rosa damascena* dried leaves from Isparta /Turkey; *Rosa damascena* 'Bulgaria', *Rosa damascena* 'Faik', *Rosa damascena* 'Iranica', *Rosa damascena* 'Complex-35' and *Rosa damascena* 'Complex-37' varieties are examined for Acetylcholinesterase (AChE) and Monoamino oxidase (MAO) inhibition activity, their antioxidant capacity and radical scavenging activity. Study is designed in four stages: First stage: *R. damascena* dried leaves were powdered and extracted in ethanol solvent. Second stage: antioxidant determinations were evaluated by Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and Anti-oxidant activity were determined by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and hydroxyl radical scavenging activity methods. Third stage: Wistar rat's brain is used as enzyme source for AChE activity assay. AChE activity is standardized with Ellman method. The AChE inhibitory activity of plant are measured. In stage four, Monoamino oxidase activity is standardized and its inhibition by leaves extracts is examined. The results are analyzed statistically and they are interpreted.

The FRAP values, expressed as vitamin E equivalents per gram dry weight (DW). The vitamin E equivalents varied from 0.11 mmol to 0.22 mmol. The highest values were noted for *R. bulgarica*.

According to the free radical scavenging activity; it was seen that *Damascena's* DPPH radical scavenging activity was increased with increasing concentration. Ascorbic acid which used as standard exhibited maximum free radical scavenging activity with $IC_{50} = 0.37 \pm 0.48 \mu\text{g/ml}$. Ethanolic extract of *R. bulgarica* leaves with $1.09 \pm 0.20 \mu\text{g/ml}$ IC_{50} value, demonstrated the strongest DPPH radical scavenging activity with compared to the other five extracts. In addition, it was found that *R. bulgarica* leaves extracts showed the highest hydroxyl radical scavenging activity with $IC_{50} = 0.921 \pm 0.2$

Acetylcholinesterase (15 μg , 25 μg , 50 $\mu\text{g/ml}$), and Monoamino oxidase (3 μg , 10 μg , 20 $\mu\text{g/ml}$) inhibitory potential of five samples of *damascena* dried petals ethanolic extracts was determined in a range of concentration. The result revealed that AChE activity was inhibited in a concentration-dependent manner by

R. bulgarica > *R. iranica* > *R. faik* > *R. COM-37* > *R. COM-35*, when compared with negative control (only enzyme, 0.87 U/mg) and same concentrations of positive control (donepezil).

The result from Monoamine inhibition activity revealed that the *R. iranica* extract had a highest MAO inhibitory activity then *R.bulgarica*, *R. COM-37*, *R. faik*, *R. COM-35*.

This study suggests that all leaves samples used in this study showed a significant AChE and MAO inhibitory potential and radical scavenging activity and they may use as alternative therapy in treatment of neurodegenerative disease.

Key Words: Alzheimer, Asetylcholin, Asetylcholinesterase, DPPH Radical scavenging activity, Monoaminoxidase inhibition activity.

TEŞEKKÜR

Üsküdar Üniversitesi Moleküler Biyoloji bölümünde yürütmüş olduğum tez çalışmam sürecinde beni bilgi ve birikimi ile destekleyen saygıdeğer tez danışmanı hocam Dr. Öğretim Üyesi Shirin TARBIAT' a

Deneyimlerini ve görüşlerini benimle paylaşan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Muhsin KONUK, Prof. Dr. Sevim IŞIK, Doç. Dr. Korkut ULUCAN, Dr. Öğr. Üyesi Salih TUNCAY, Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur KURTOĞLU, tüm hocalarım ve Veteriner Hekim Burcu ÇEVRELİ'ye...

Yardımları için Süleyman Demirel Üniversitesi' nden Prof. Dr. Hasan ÖZÇELİK' e, GENESUZ firma sahibi Neslihan UZUN' a, İSAM Kütüphanesi' ne, tüm Üsküdar Üniversitesi Ailesine, sevgili Kübra ERGÜN ve tüm arkadaşlarıma...

Beni yalnız bırakmayan ve manevi desteğini her zaman hissettiren çok değerli aileme teşekkür ederim.

BEYAN FORMU

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, tarafımdan üretildiğini ve Üsküdar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim

Tarih

14.05.2020

Adı Soyadı

OYA TOKMEZ

İmza



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
BEYAN FORMU	vi
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ	4
2.1. Nörodegeneratif Hastalıklar	4
2.1.1. Parkinson.....	4
2.1.2. Depresyon.....	4
2.1.3. Alzheimer	4
2.2. Alzheimer Hastalığının Patolojisi	5
2.3. Nörodegeneratif hastalıklarla İlişkili Enzimler	7
2.3.1. Monoamin oksidaz (MAO EC 1.4.3.4.)	7
2.3.2. Asetil Kolin Esteraz (AChE; EC 3.1.1.7.).....	8
2.4. Serbest Radikaller ve Antioksidan Mekanizmaları	9
2.4. 1. Serbest Radikaller.....	9
2.4.1.1. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂).....	10
2.4.1.2. Hidroksil radikalleri (HO•).....	10
2.4.1.3 Süperoksid (O ₂ ⁻) Radikalleri	10
2.4.2. Antioksidanlar ve Oksidatif Stres ile İlişkisi	11
2.4.3. Antioksidan Savunma Mekanizmasının Etkisi.....	13

2.4.4. Antioksidanların sınıflandırılması	13
2.4.4.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)	14
2.4.4.1.2. Katalaz	14
2.4.4.3. Doğal antioksidanlar	15
2.4.4.3.1. Karetenoidler	15
2.4.4.3.2. Tokoferoller (E Vitamini)	16
2.4.4.3.3. Flavonoidler	17
2.4.4.3.4. Askorbik asit (C vitamini)	17
2.4.4.4. Sentetik antioksidanlar	17
2.5. <i>Rosa damascena</i>	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
Çalışmada kullanılan kimyasallar ve cihazlar aşağıda yer almaktadır	20
3.1. Kimyasal Maddeler	20
3.2. Cihazlar	21
3.3. Bitki Örneklerin hazırlanması	21
3.4. Ekstraksiyon (Özütleme) Metodu	22
3.5. Radikal bilgi metodlarıyla Antioksidan Aktivitesinin Hesaplanması	22
3.5.1. Demir indirgeyici antioksidan gücü (Frap)	22
3.5.2. 1,1-Difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) Radikal uzaklaştırma Aktivitesi	22
3.5.3 Hidroksil söndürme aktivitesi Aktivitesi	23
3.6. Nörodejeneratif Hastalıklar Bağlantılı Enzim İnhibitor Tahlilleri	23
3.6.1. Beyin analizi	23
3.6.2. Protein Hesaplamaları	24
3.6.3. Asetilkolinesteraz enzim analizi standardizasyonu	24
3.6.4. Asetilkolinesteraz İnhibisyon Analizi	24
3.6.5. Monoamin Enzim Analizinin Standardizasyonu	25
3.6.6. Monoamin Oksidaz (MAO-A) İnhibisyon Analizi	25

3.7. İstatiksel Analizlerin Yapılması.....	25
4. BULGULAR	26
4.1. Demir İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Sonucu	26
4.2. DPPH Radikal uzaklaştırma Deneyi Sonucu	28
4.3. Hidroksil söndürme aktivitesi Deneyi sonucu	30
4.4. Asetilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi Deney Sonucu.....	31
4.5. Monoamin Oksidaz İnhibisyon Aktivitesi Deney Sonucu.....	32
5.TARTIŞMA	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	36
7. REFERANSLAR.....	37
Ek1. Özgeçmiş	48
Ek2. Etik Kurul Onayı.....	49

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Oksijen ve nitrik oksitten oluşan başlıca reaktif türleri.

Tablo 2: Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar.

Tablo 3: *Rosa damascena* kurutulmuş yaprak etanolik ekstrakt örneklerinin DPPH serbest radikal uzaklaştırma aktivitesi için IC₅₀ değerleri (µg / mL).

Tablo 4: *Rosa damascena* kurutulmuş gül yaprakları örneklerinin etanolik özütleri OH serbest radikal süpürücü aktivitesi için IC₅₀ değerleri (µg / mL).



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Alzheimer hastalığının temel hedefleri.

Şekil 2: Alzheimer hastalığını etkileyen faktörler.



GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. *R. damascena* beş örneğinin etanolik ekstralarının antioksidan kapasitesi AA eşdeğer

Grafik 2. *R. damascena* beş örneğinin etanolik ekstralarının antioksidan kapasitesi E vitamini eşdeğer

Grafik 3. Standart olarak Askorbik asit kullanılarak, *R. damascena* yapraklarının beş örneğinin farklı konsantrasyonlarının inhibisyon yüzdesi ile temsil edilen DPPH radikal süpürücü aktivitesi.

Grafik 4. Standart olarak butil hidroksi toluen (BHT) kullanılarak beş *R. Damascena* gül yaprağı örneğinin farklı konsantrasyonlarının inhibisyon yüzdesi ile temsil edilen hidroksil söndürme aktivitesi

Grafik 5. Beş *Rosa damascena* örneği ile Asetilkolinesterazın inhibisyonu.

Grafik 6. Monoamin oksidazların (MAO) beş Rosa numunesi ile inhibisyonu.

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde oran
°C:	:Santigrat Derece
µg	:Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
AA	: Antioksidan Aktivite
kg	: Kilogram
mg	:Miligram
mL	: Mililitre
N	: Normalite
Na ₂ S ₂ O ₃	: Sodyumtiyosülfat
NaOH	: Sodyum Hidroksit
nm	: Nanometre
mM	: Milimolar
A•	: Aktif antioksidan molekülü
AH	: Alzheimer hastalığı
AO	: antioksidan molekülü,
H ₂ O ₂	:Hidrojen peroksit
HOCl	:Hipoklorik asit
LOOH	:Lipid peroksitleri
LOO•	: Lipid peroksit radikalleri
L•	: Lipid radikali

ROT	: Reaktif Oksijen
türleri A β	: Amiloid-beta
NFTs	: Nörofibriler yumağı
NO•	: Nitrik oksit
OH•	: Hidroksil radikali
O ₂ •	: Süperoksid
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DPPH	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
DPPH •	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil radikali
DPPH-H	: İndirgenmiş 1,1-difenil 2-pikril hidrazil
FRAP	: Demir (III) indirgeme kapasitesi
SOD	: Süperoksid dismutaz enzimi
TCA	: Triklorasetik asit
MAO	: monoaminoksidaz
MAOI	: monoaminoksidaz inhibitör
AchE	: Asetilkolinesteraz
AchEI	: Asetilkolinesteraz inhibitör

1. GİRİŞ

Demansın başlıca nedenlerinden biri olan alzheimer hastalığı (AH), özellikle beyni etkileyen, hafıza kaybına neden olan, dil ve yargı kapasitesinin bozulmasına yol açan kronik nörodejeneratif bir hastalıktır (Mizutani ve ark., 1990). İleri yaş nüfusunun önemli bir bölümü alzheimer hastası olmaktadır. Ayrıca hastalığın erken başlangıçlı formları genç nüfusu da etkileyebilmektedir (Borges ve ark, 2018). Alzheimer hastalığının etiyolojisi tam olarak anlaşılammakla beraber beynin belirli bölgelerindeki asetilkolin (ACh) seviyesinin azalmasına yol açan kolinerjik yolaktaki bozulmalar ile doğrudan ilişkilidir. Bu sebeple asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesinin inhibe edilmesi AH karşı uygun bir tedavi olarak kabul edilmektedir (Mrudula ve ark, 2012; Najla ve ark., 2016).

AH hastalarında, hastalığın seyri esnasında oksidatif strese maruz kalan beyin dokusuna dair çok fazla kanıt vardır. Oksidatif stres dengesi, reaktif oksijen türleri (ROT) ve anti-oksidatif savunmanın radikal üretiminde bir dengesizlik ile karakterize olması nedeniyle, her ikisi de yaşa bağlı nörodejenerasyon ve bilişsel gerileme sürecinde önemli bir rol oynamaktadır. AH'da oksidatif stresin kanıtı, yüksek seviyelerde oksitlenmiş proteinler, gelişmiş glukasyon ürünleri, lipid peroksidasyon ürünleri ve peroksitler, alkoller, aldehitler, serbest karboniller, ketonlar, kolestenon ve nükleer ve mitokondriyal DNA'da oksidatif modifikasyonlar gibi toksik türlerin oluşumu ile ortaya çıkar (Gsell ve ark.,1995). Anti-oksidatif savunma sistemi, oksidatif stresin, bir oksidanın potansiyel olarak zararlı etkilerini sentetik veya doğal bir madde olan anti-oksidanların üretimiyle ortadan kaldırmaya çalışır. Çalışmalar, antioksidanların AH'nın semptomlarını ve etki alanlarını azaltmak için önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya çıkmaktadır (Gella ve Nuria Durany,2009).

Monoamin oksidazlar (MAO) ise nörotransmitterin inaktivasyonunda rol oynar ve disfonksiyonunun bir dizi nörolojik bozukluktan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Monoamin oksidazlar, mono aminlerin, özellikle demono aminlerin oksidasyonunu katalizler özellikle yiyeceklerdeki monoaminlerin katabolizmasında önemlidir. Vücuttaki Çoğu hücre tipinde mitokondri dış membranına bağlı bulunmaktadır. Monoamin oksidaz inhibitörleri, depresyon tedavisi için reçete edilen önemli bir ilaç sınıfındandır (Sagar, 2014). Yapılan araştırmalara göre Parkinson hastalarında dopaminin, depresyon

hastalarında seratoninin önemsenecek bir oranda azaldığı hakkında veriler bulunmaktadır. MAO inhibitörleri MAO enzimin inhibe edilmesini sağlayarak bu aminlerin seviyesini yükseltmekte ve normal düzeye gelmesini sağlamaktadır (Çolakoğlu, 2008). Bu nedenle MAO inhibitörleri depresyon, demans, parkinson ve hatta alzheimer gibi hastalıkların tedavisinde kullanılabilirlerdir.

İlaç olarak kullanılabilen enzimlerin diğer ilaç türlerinden ayrılan iki önemli özelliği vardır. Enzimler hedeflerine büyük yakınlık ve özgüllük ile bağlanarak hareket etmektedir. Enzimler kataliktir ve birçok hedef molekülü istenen ürüne çevirmektedirler. Bu özellikler, çok çeşitli bozukluklar için pek çok enzim ilacının geliştirilmesine neden olmuştur. Örneğin, asetilkolinesteraz inhibitörleri alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (Copeland ve ark., 2007). Alzheimer hastalığının tedavisinde yaygın olarak kullanılan sentetik ilaçlar arasında donepezil, tacrine ve rivastigmine içeren asetilkolinesteraz inhibitörlerin yan etkileri nedeniyle kullanımları sınırlıdır. (Mimica ve Presecki, 2009). Bu nedenle, yeni çalışmalar, nörodejeneratif hastalıkların yönetiminde kullanılabilir çok az yan etkiye sahip veya hiç yan etkisi bulunmayan, ilgili enzim inhibitörlerinin doğal kaynakları olan bitki fitokimyasallarına odaklanmıştır. Araştırmacılar devamlı olarak daha az yan etkili yeni ilaçlar bulmaya çalışmaktadır. Çok sayıda çalışma bitkiler üzerinde uygulanmış ve bunlardan bazıları asetilkolinesteraz inhibe edici etki göstermiştir. Ayrıca daha ileri alzheimer çalışmaları için iyi bir aday olarak düşünülmüştür (Mimica ve presecki, 2009; Patel ve ark, 2018).

Özellikle doğal kaynaklar olarak kullanılan bitkiler, ilaç keşfi için çeşitli geniş substrat grubu sağlar. Bu nedenle AH ve antioksidanlar için yeni enzim hedefli ilaçların geliştirilmesinde büyük bir potansiyel sunar (Pietta, 2000). Bitkilerin tedavi edici yapıları fenoller, flavonoidler, steroller gibi antioksidan özelliğine sahip fitokimyasalların varlığından kaynaklanmaktadır. Gül yaprağının ekstratlarından yapılan ilk fitokimyasal testlerde karbonhidrat, flavonoidler, fenoller, steroidler ve tanen varlığını ortaya çıkartılmaktadır (Demir ve ark., 2014; ve ark., 2018).

Yaptığımız çalışma ile birlikte, Türkiye'den alınan farklı gül örneklerinin yapraklarının antioksidan özelliklerini araştırmayı amaçladık. Bitki bazlı tedaviler, birçok bozukluğun tedavisinde güçlü bir alternatiftir. AH' da ilgili enzimleri inhibe eden fitokimyasallarının antioksidan etkisi hakkında çok az bilgi mevcuttur. Bu araştırmamızda beş gül çeşidinin ekstrakte edilmesi fitokimyasallarının antioksidan ve

diğer biyolojik özelliklerinin karşılaştırılması yapılmaktadır. Ayrıca, gül yapraklarının AH' da ilgili enzimlerin inhibisyon kabiliyetlerinin olup olmadığı, *in vitro* olarak AH' da hangisinin en yüksek etkiye sahip olduğu saptanmaya çalışılmaktadır.



2. GENEL BİLGİ

2.1. Nörodejeneratif Hastalıklar

Alzheimer'ında içinde bulunduğu, parkinson, hungtington, amiyotrofik lateral skleroz, frontotemporal gibi çeşitli hastalıklar yaşlanma-beyin ilişkili nörodejeneratif hastalıklar olarak nitelendirilmektedir (Boland ve ark., 2018; Xie ve ark., 2019; Mao ve ark., 2018; Han ve ark., 2019). Bu nörodejeneratif hastalıklar, kolinerjik iletim kaybı (AChE enzim artışı), apoptoz ve inflamasyonun neden olabileceği nöronal hasar ile karakterizedir. Nöral hastalıklarda alternatif bir ilaç adayı olabilmektedir. (Koçancı, 2018)

2.1.1. Parkinson

Parkinson, titreme, postural bozukluk gibi çeşitli sorunlarla karakterize edilen bir nörodejeneratif hastalıktır. Bu hastalığın temel mekanizması dopaminerjik nöronların kaybı ile karakterize edilmektedir. Bu yüzden genellikle tedavilerinde dopamin oranını yükseltmeye bağlı olarak gerçekleştirilmektedir Bunlara ek olarak alzheimer ve parkinson gibi çeşitli hastalıkların patolojisinde oksidatif hasar rol oynamaktadır (Zhang ve ark., 2014; Lim ve ark., 2018).

2.1.2. Depresyon

Depresyon, ağrılı, huzursuzluk, değersizlik gibi çeşitli belirtilerin görüldüğü, biyolojik ve genetiksel gibi çeşitli nedenlere bağlı olarak gerçekleşen psikiyatrik bir hastalıktır. Çeşitli nöral hormonlar, endotel büyüme faktörü, sitokinler gibi faktörler hastalığın patogenezin de önemli rol oynamaktadır (Khan ve ark., 2020; Lange ve ark., 2016).

2.1.3. Alzheimer

Alzheimer hastalığı (AD), esas olarak yaşlı bireyler de görünen kronik nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu hastalık, kısa süreli hafıza sorunu, bilişsel aktivitede bozunma, akıl yürütme yeteneği, yargılama gibi çeşitli önemli noktalardaki denge kaybının yitirilmesine sebep olması ile ilişkilendirilmektedir (Boland ve ark., 2018; Xie ve ark., 2019; Jack Jr ve ark., 2010; Mao ve ark., 2018). Ayrıca Alzheimer, majör olarak bunamanın neden

olduğu önemli bir hastalıktır. Tüm bu bulgulara rağmen AH' nın patogenezi tamamen bilinmemektedir. Bilinen genel patolojisi; hipokampus ve korteks içindeki amiloid-beta (A β) ile hücre dışı senil plaklarının oluşumu, nöron ve sinapslara zarar vererek kaybına neden olan tau proteinlerinin hücre içinde birikmesi ile hücre içi nörofibriler yumağı (NFTs) oluşmaktadır (Şekil 1). Ayrıca ApoE4, APP, presenilin -1 gibi çeşitli önemli amiloid yolaklarda yer alan moleküller Alzheimer hastalığının etkilenmesi üzerinden ilişkilendirilmektedir (Şekil 2) (Xie ve ark., 2019; Singh ve ark., 2013).

2.2. Alzheimer Hastalığının Patolojisi

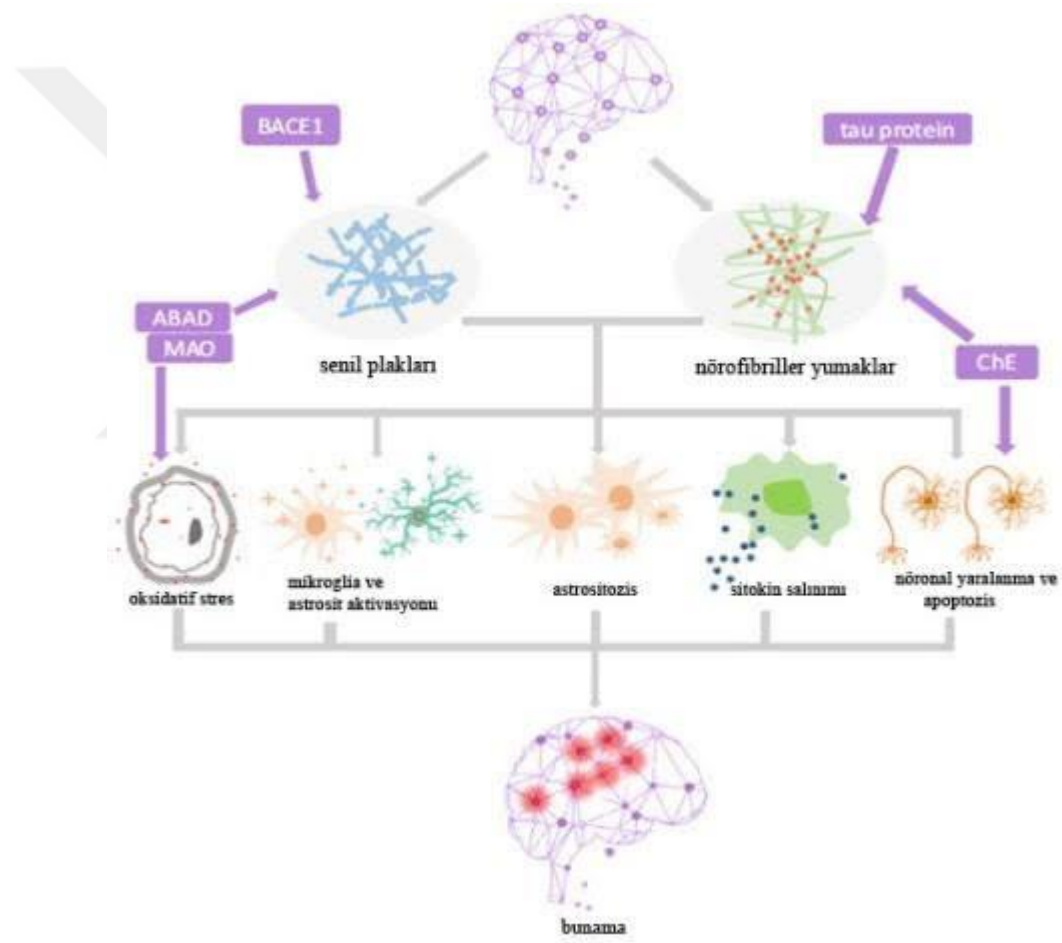
Alzheimer hastalığının hala açıklanamayan mekanistik ayrıntılarının dışında bilinen üç önemli hipotez üzerinde durulmaktadır. Bu patolojik hipotezler; kolinerjik, A β kaskatı ve tau protein kaskatı hipotezleri ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca mitokondriyel otofaji oksidatif stres'in işlevini yitirmesi, sinaptik ve nörotropik faktörlerin kaybı gibi çeşitli nedenlerle de ilişkilendirilmektedir (Şekil 1) (Xie ve ark., 2019; Lin ve Beal, 2006; Scheff ve ark., 2006; Singh ve ark., 2013; Cai ve Jeong, 2020). Bunların dışında yaşlanma, sigara kullanımı, baş yaralanması ve diyabet gibi çeşitli hastalıklarla da alzheimer ilişkilendirilmiştir (Şekil 2) (Singh ve ark., 2013).

Alzheimer hastalığının etiyolojisi tam olarak anlaşılammakla beraber beynin belirli bölgelerindeki asetilkolin (ACh) seviyesinin azalmasına yol açan kolinerjik yolaktaki bozulmalar ile doğrudan ilişkilidir. Bu sebeple molekülü istenen ürüne çevirmektedirler. Bu özellikler, çok çeşitli bozukluklar için birçok enzim ilacının geliştirilmesine neden olmuştur. Örneğin, asetilkolinesteraz inhibitörleri Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmıştır (Copeland ve ark., 2007). AH hastalarında, hafıza ve öğrenme süreci için gerekli bir nörotransmitter madde olan Asetilkoin'in konsantrasyonu ve fonksiyonu azalmaktadır. Asetilkolin, Asetilkolinesteraz enzimi tarafından parçalanmaktadır. Bu nedenle AChE enzimini inhibe ederek alzheimer hastalarının beyinlerindeki asetilkolin azaltımını engellemek Alzheimer hastalığının asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesinin inhibe edilmesi Alzheimer hastalığına karşı uygun bir tedavi olarak kabul edilmiştir (Mrudula vd., 2012; Najla ve ark., 2016).

AH' da tedavi seçenekleri sınırlıdır. Bu sebeple çoklu biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin terapötik etkinliklerinin anlaşılması hastalığın seyrini yavaşlatan veya durduran yeni ilaçların geliştirilmesi gereklidir. Bu nedenle bilimsel çalışmalarda faydalı etkileri olan toksisitesi düşük bitkilere yönelinmiştir (Santos ve ark., 2006).

Kolinerjik Hipotezi: Bu hipotez; kolinerjik nöronların, erken AD' nı etkilemesi üzerinedir. Ön beyinin bazal bölgesinde asetilkolin sentezi sonucu işlevsel bozukluğun olması kolinerjik fonksiyon bozukluğuna sebep olmaktadır (Xie ve ark., 2019; Sharma ve ark., 2019; Singh ve ark., 2013).

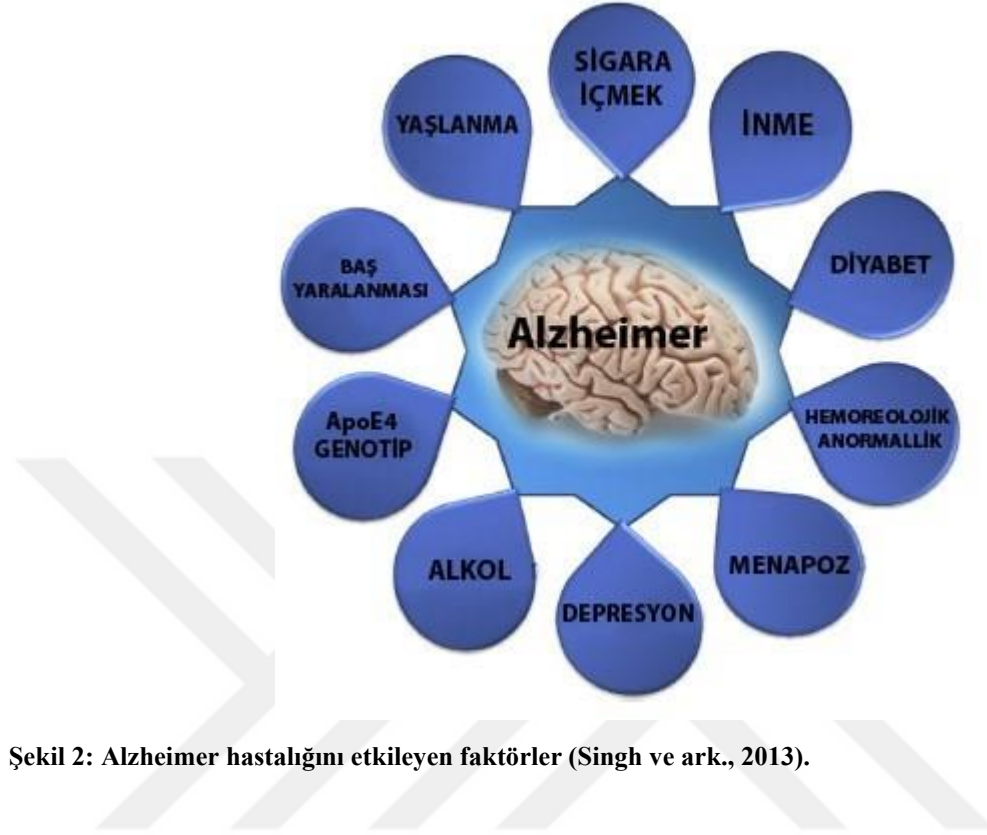
A β Kaskatı Hipotezi: β -amiloid plaklarının ortam da birikmesi ile birlikte nöronlar için nörotoksik durum oluşur ve nörodejenerasyon oluşarak alzheimer hastalığına neden olmaktadır. Ayrıca oksidatif dengesizlik, β -amiloid üretiminde değişikliğe sebep olarak hastalığın erken noktalarında önemli etkilere sebep olmaktadır (Singh ve ark., 2013; Hardy ve Selkoe, 2002; Selkoe ve Schenk, 2003; Terry, 1963; Cai ve Jeong, 2020).



Şekil 1: Alzheimer hastalığının temel hedefleri (Xie ve ark., 2019).

Tau protein kaskatı hipotezi: Alzheimer hastalığında; tau proteinleri anormal glikolizasyon ve fosforilasyon ile birlikte konformasyonel değişim yaşarlar fakat Normal fonksiyonlarını kaybetmezler. Bu kontrol dışı değişim, nörofibriller yumak biçimi

oluştururken aynı zaman da nöronal mikrotubul yapılarının yıkımını da tetikler (Xie ve ark., 2019; Khatoon ve ark., 1995; Cai ve Jeong, 2020).



Şekil 2: Alzheimer hastalığını etkileyen faktörler (Singh ve ark., 2013).

2.3. Nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili Enzimler

2.3.1. Monoamin oksidaz (MAO; EC 1.4.3.4.)

Monoamin oksidaz (MAO), MAO-A ve MAO-B olmak üzere iki tip izoformu bulunmaktadır. Bu izoformlar, memeli dokularda farklı düzeylerde sentezlenmektedir. (Iacovino ve ark., 2018; Tipton, 2018).

Mitokondrial monoamin oksidaz FAD içeren ve mitokondri zarına bağlı konumda bir enzim olan nörotransmitter aminlerin konsantrasyonunu monomin oksidatif deaminasyonunu katalizleyerek değiştirmektedir. Birbirlerinden farklı inhibitor, amino asit dizisi ve substrat seçicilikleriyle farklılaşırlar. MAO-A nor-epinefrin ve serotoninini okside etmekte ve klorgilin tarafından inhibe edilmektedir. Monoamino oksidaz (MAO) tip B ise beyinde dopaminin yıkımından sorumludur. İnhibisyonunda sinaptosomal dopamin konsantrasyonunda artış söz konusu olmaktadır. MAO B inhibitörleri ile ilişkili semptomatik ve nöroplektif etkileri olduğuna dair veriler bulunmaktadır MAO aktivitesinde meydana gelen farklılaşmalar parkinson, depresyon ve çeşitli psikiyatrik

hastalıklara sebep teşkil etmektedir (Çolakoğlu,2008).

Monoamin oksidazlar, monoaminlerin, özellikle demonoaminlerin oksidasyonunu katalizler özellikle yiyeceklerdeki monoaminlerin katabolizmasında önemlidir. Vücuttaki Çoğu hücre tipinde mitokondri dış membranına bağlı bulunmaktadır. Nörotransmitterin inaktivasyonunda rol oynar. MAO disfonksiyonunun bir dizi nörolojik bozukluktan sorumlu olduğu düşünölmektedir. Monoamin oksidaz inhibitörleri, depresyon tedavisi için reçete edilen önemli bir ilaç sınıfındandır (Sagar, 2014).

2.3.2. Asetil Kolin Esteraz (AChE; EC 3.1.1.7.)

Asetilkolin, bilişsel, öğrenme ve bellek gibi önemli noktalarda bağlantısı olan çok önemli bir nörotransmitterdir. Yapısı, katalitik ve çevresel anyonik bölgesi olmak üzere iki bölgeden oluşmaktadır. Katalitik bölgede; esteratik lokus (sinir ajanları), anyonik lokus (tacrine gibi) ve hidrofobik bölge olmak üzere üç majör domain içermektedir. Ayrıca çevresel anyonik bölgesi ise; iyi tanımlanmış bir alan değildir. Periferik anyonik bölgenin ligand işğali sıklıkla aktif merkezin konformasyonunu değiştirmektedir (Singh ve ark., 2013; Thompson ve ark., 2012; Xie ve ark., 2019). AChE nörotransmitter bir madde olan asetilkolinin, (ACh) kolin ve asetik aside hidrolizinden sorumlu bir enzimdir. AChE aktivitesinin engellenmesi durumunda parasempatik ve sempatik motor sinirler ve merkezi sinir sistemi çalışması aksamaktadır. Asetilkolineteraz, Kolinerjik nörotransmisyonu katılarak asetilkolini hidrolizlemesiyle nörotransmisyon işlemini sonlandırır (Ballard, 2005).

AH, çeşitli tedavi yöntemleri ile tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Tacrine gibi çeşitli Asetilkolin esteraz inhibitörlerinin (AChEI) kullanılması önemli bir tedavi yolunu geliştirmektedir. AChEI'leri ile birlikte hastalığın ilerlemesi yavaşlatılmaktadır (Xie ve ark., 2019; Thompson ve ark., 2012; Rosenberry, 1976). Alzheimer hastalığı için Tau bazlı, oksidatif stresle başa çıkma, anti inflamatuvar terapi gibi kullanılan çeşitli yöntemler de bulunmaktadır (Singh ve ark., 2013).

AH' da tedavi seçenekleri sınırlıdır. Bu sebeple çoklu biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin terapötik etkinliklerinin anlaşılması hastalığın seyrini yavaşlatan veya durduran yeni ilaçların geliştirilmesi gereklidir bu nedenle bilimsel çalışmalarda faydalı etkileri olan toksisitesi düşük bitkilere yönelinmiştir (Santos,2006).

2.4. Serbest Radikaller ve Antioksidan Mekanizmaları

2.4. 1. Serbest Radikaller

Serbest radikal en basit bir anlatımla atom ya da moleküllerin tek elektron olarak kalmış kısımlarının genel adıdır. Bu sebeple moleküllerle elektron alışverişi kolay olmaktadır. (Çavdar ve ark., 1997). Çıkış yollarına bakıldığında; kovalent bağlı bir molekülün yıkılmasıyla oluşmaktadır. Bölünmeden sonra her bir parçada geriye ortak elektronlardan biri kalır ve diğer bir oluşum süreci de molekülün tek bir elektron almasıyla meydana gelmektedir. Bu radikaller, pozitif, negatif ya da nötral yüklerden oluşabilmektedir. Temel oluşum mekanizmaları en çok elektron geçişleri ile oluşmaktadır (Akkuş, 1995). Serbest radikal tepkimeleri, immun sistemi hücrelerinden olan nötrofil, makrofaj için gerekli moleküllerdendir ancak serbest radikallerin normal seviyelerdeki üretiminin dışına çıkarak aşırı üretimi doku hasarı ve hücre ölümü gibi istenmeyen sonuçlar ortaya çıkabilmektedir (Halliwell ve ark., 1992).

Serbest oksijen radikallerin ortaklanmamış elektronları olması sebebiyle bu radikaller oldukça reaktif atom ve moleküllerdir. Lipid peroksidasyonu Serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu doku hasarının en önemli mekanizmasıdır. Normalde çok düşük seviyelerdeki lipid peroksidasyonun artışı, serbest oksijen radikallerinden kaynaklanan doku hasarının varlığını ortaya koymaktadır (Yarıktaş ve ark., 2003).

Serbest radikaller besinle alınabildikleri gibi organizmadaki metabolik faaliyetler neticesinde oluşabilirler. Radyasyon, ultraviyole ışınları, kimyasallar sigara dumanı, enfeksiyonlar, stres, bazı metabolizma toksik ürünleri, pestisitler ve bunlar gibi daha birçok dış ve iç etkenler vücutta serbest radikal birikimine sebep olmaktadır. Strese bağlı olarak veya vücuttaki zararlı nedenleri etkisiz hale getirmek için bağışıklık sistemi tarafından oluşturulan serbest radikaller vücutta bir denge halinde bulunurlar. Eğer serbest radikal üretimi fazla olur ve buna karşılık koruyucu etkili antioksidanlar yetersiz kalırsa vücutta hasarlar ortaya çıkması ile sonuçlanmaktadır. Serbest radikallerin DNA moleküllerindeki varlığı kanser hastalığına neden olurken, pankreastaki artışı yoğunlaşarak şeker hastalığına, kalp ve dolaşım sisteminde kardiovasküler hastalıklara neden olabilmektedir. Metabolizmada biriken serbest radikaller kronik yorgunluk halsizlik şeklinde kendini gösterebilmektedir. Organizma serbest radikallerin oluşturduğu bu hasarlara karşı beslenme veya metabolik sistem ile bunun önüne geçerek birtakım tedbirler almaktadır. Alınacak tedbirlerle bu maddeler en az zarara indirgenebilir. Burada

devreye giren en önemli bileşiklerden bir de antioksidanlardır. Antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu engellemekte ya da ortamda var olan serbest radikalleri zararsız hale getirmektedir (Baykal ve ark., 2002).

2.4.1.1. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Yapısal olarak ortaklanmamış elektron içermez. Hidrojen peroksit radikal ve reaktif sınıflandırmaya dahil değildir. H₂O₂ 'nin oksitleyici yapısından dolayı canlı sistemlerde çok önemli bir yer teşkil etmektedir. Katalaz ve peroksidaz gibi antioksidanlarla hemen ortamdan uzaklaştırılmalıdır. Hidrojen peroksitin oluşumu, oksijenin indirgenmesi veya süperoksitlerin enzimatik ve nonenzimatik dismutasyon reaksiyonlarıyla meydana gelmektedir. Bununla birlikte, geçiş metal iyonları ile reaksiyona girmesi sonucu hidroksil radikallerini oluşturmaktadır. Hücrelerde antioksidan olarak fonksiyon yapan katalaz ve peroksidaz enzimleriyle hemen ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir (Ak, 2006; Uğuzlar, 2009).

2.4.1.2. Hidroksil radikalleri (HO•)

Hidroksiller reaktif ve kısa ömürlü radikal sınıfındandır. Oksijeninin su ile olan reaksiyonu sonucunda (ROOH)'in parçalanması ve Hidroperoksitler oluşabilmektedirler. HO• DNAYA ve çoğu moleküllere saldırarak zara verebilmektedirler. Hücre membrana saldırarak membranı parçalar ve hücrelerin stabilitesini bozarlar. Damar tıkanıklığı, akciğer rahatsızlıkları ve kanser antioksidan bileşikler ise bazı kanser türlerini ve damar hastalıklarının gelişmesini engellemede fonksiyonel olan ve çoğu toksik etkileri azaltılabilmekte ya da ortamdaki oksijen radikallerini indirgeyebilmektedir (Ak, 2006).

2.4.1.3 Süperoksit (O₂•-) Radikalleri

Süperoksit radikalleri ya nonenzimatik elektron transferleri sonucu ya da enzim tarafından oluşturulabilen radikallerdir. Solunum zinciri reaksiyonları sonucunda çok miktarda oluşabildiği gibi Ksantin oksidaz gibi diğer birçok enzim tarafından üretilmektedir. Toksikitesi yüksek olan süperoksit radikalleri mikroorganizmalara saldırır ve onları ortadan kaldırır. Fagositlerde patojenlerin savunma mekanizmalarını durdurmak için NADH oksidaz enzimi tarafından çok miktarda üretilmektedir. Süperoksit anyon radikalleri selektif reaktiviteli oksijen merkezli radikallerdir. Sulu çözeltilerde askorbik asiti oksitleyebilme özelliği vardır. Bununla beraber sitokrom c ve ferriketilendiamintetraasetik asit (Fe³ + EDTA) gibi belirli demir komplekslerini indirgeme yetenekleri de vardır. Ayrıca Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, O₂•-' in

peroksit ve oksijen olarak dönüşümü katalizlerler (Ak, 2006). Hücresel koşullarda üretilen süperoksit hem oksitleyici hem indirgeyicidir. Aldığı elektronu metal iyonuna, sitokrom c'ye veya bir radikale verirse tekrar oksijene oksitlenir. Bir elektron daha almasıyla peroksi anyonuna indirgenmesiyle biyolojik moleküllerin oksidasyonuna sebep olur. Aerobik canlılarda süperoksitlerin hidroksile çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek enzim süperoksit dismutaz aracılığıyla katalizlenmektedir.



Bu tepkime, dismutasyon tepkimesi olarak adlandırılmakta, SOD tarafından katalizlenmektedir. Asidik koşullarda SOD varlığına ihtiyaç duymadan kendiliğinden dismutasyonla da H_2O_2 'e çevrilebilmektedir. Süperoksit dismutaz enzimin yüksek katalitik olmasından dolayı hücrelerde süperoksit birikimini engeller. Bazı patolojik durumlarda süperoksit üretimi çoğalmasıyla süperoksitide ait bazı tepkimeler görülür: Süperoksitin metal iyonlarını indirgemesiyle bağlı bulunduğu proteinlerden salınımına neden olur. Böylelikle hidroksil radikallerinin oluşmaları hızlanır, kofaktörler oksidasyon düzeyi bozulur (Uğuzlar, 2009).

Tablo1: Oksijen ve nitrik oksitten oluşan başlıca reaktif türleri (Aruoma ve Cuppett, 1997).

Tür Adları	
1O_2	Singlet Oksijen
$O_2^{\bullet-}$	Süperoksit
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HO^{\bullet}	Hidroksil radikali
ROO^{\bullet}	Peroksil radikali
$ROOOH$	Hidroperoksit
RO^{\bullet}	Alkosil radikalli

2.4.2. Antioksidanlar ve Oksidatif Stres ile İlişkisi

Biyolojik sistemlerde sürekli fizyolojik olarak; enzimler, hormonlar ve iz elementleri tarafından yönetilen oksidasyon, indirgeme tepkimelerinden gerçekleşen bir sistem olmaktadır. Bu redoks dengesinin işleyişinde olabilecek bir aksaklık, hücre ve dokusal faaliyetlerin düzensizliğine sebebiyet verebilir. Temel olarak antioksidan maddelerin her biri çeşitli oksidasyon tepkimelerinin işleyişini kontrol etmekte ve dokularda doğal olarak bulunmaktadır. Bununla beraber antioksidatif moleküller veya bu

sistemdeki bileşenlerin endojen sentezinde meydana gelebilecek bir eksiklik ya da azlık, pek çok hastalık çeşitlerini oluşturmaktadır. Organizmada normal oksijen metabolizmasından kaynaklanan toksik etkilere karşı kendi kendisini savunması için hücrelerde çok sayıda savunma mekanizmasına ihtiyaç vardır (Fridovich, 1976).

Canlı sistemlerde serbest radikal molekülleri ile antioksidan savunma gücü bir denge halini koruduğu sürece faydalıdır. Metabolizmada Serbest radikaller apoptozun habercisi, tetikleyicisi ve efektörü olarak fonksiyon yaparlar. Böylelikle; fazla hücre çoğalmasına önlem olarak homeostazide yer alırlar. Serbest radikaller transkripsiyon faktörlerine etki eder, hücreler arası haberleşmeyi sağlar Hücrenin büyümesini sağlayan olayları kontrol eder, Mitokondride ve sitozolde üretilen serbest oksijen radikali, proteinlerin sistein kalıntılarının redoksunu ve proteinlerin yapı ve işlevinin düzenlenmesine katkı sağlarlar (Aruoma, 1998; Kurutas ve ark., 2004).

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkileri olmadan ortadan kaldıran çok güçlü savunma sistemleri vardır. Bu hız dengede olduğu müddetçe bu bileşikler organizmayı etkilemektedir. Savunma azalır ya da oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, dengenin bozulmasıyla serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaya başlar. Serbest radikaller doku ve hücrelerde oksidatif stres olarak hasar vermektedir (Çolak, 2011).

Antioksidan savunma sisteminde organizmada sürekli olarak serbest radikal gibi birçok bileşik oluşmaktadır. Ancak bu radikallerin organizmaya hasar vermesi güçlü bir sistemin var olması sebebiyle engellenmektedir. Böylece serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızı dengesi önem kazanmaktadır. Bu kurulmuş denge bozulduğunda serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkması ile çeşitli organ ve sistemler hasar görmektedir (Zerin ve ark., 2004).

Normal metabolik faaliyetler ya da çevre kirliliği, radyasyon gibi dış etkenler insanmetabolizmasında serbest radikallerin oluşumuna yol açtığı gibi başka moleküllerle reaksiyona girerek, vücut hücrelerinde DNA, lipitler ve proteinlerin işleyişini olumsuz etkilemektedir (Kasnak ve ark., 2015). Antioksidanlar endojen olarak vücut tarafından sentezlendiği gibi, eksojen olarak doğal besinlerin tüketimiyle de metabolizmaya katılabilmektedir. Yaşlanmayla beraber vücutta antioksidan üretimi yavaşlamaktadır. Dolayısıyla; antioksidan bakımından yüksek değerli diyet çok önem taşımaktadır.

Antioksidan miktarının vücutta anormal düşmesi ciltte kırışıklık, hızlı yaşlanma, diyabet, kanser, alzheimer, parkinson ve kalp-damar hastalıkları gibi patolojik rahatsızlıklara neden olmaktadır (Moure ve ark., 2001).

Normalde radikallerin detoksifikasyonunu gerçekleştiren antioksidanlar arasında kurulu bir denge vardır. Kurulu dengenin oksidanlar yönünde bozulmasıyla oksidatif stres gerçekleşmekte ve bu oksidatif stres birçok hastalığın etyopatogenezinde önemli rolü olduğu günümüzde yapılan araştırmalarla, ispatlanmıştır. Kanser, diyabet, katarakt, romatoid artrit ve yaşlanma gibi çeşitli hastalıklar en başta gelmektedir. SOD, CAT, 6P gibi enzimatik ve melatonin, bilirubin, ürik asit gibi non-enzimatik endojen antioksidanlar yetersiz kaldığı şartlarda organizmanın eksojen antioksidanlarla desteklenir bu şekilde oksidatif stres oluşumu engellenmektedir. Dışarıdan metabolizmaya dahil olan (eksojen) antioksidanlar ise çoğunlukla gıdalarla ve son yıllarda bazı özel preparatlarla alınabilir. Çoğunlukla bu moleküller antioksidan sistemine direkt ya da indirekt katıldığından dolayı hem biyolojik materyallerdeki hem de gıdalardaki antioksidan etkili bileşenlerin oran (miktar) ve (aktivite) fonksiyon yönünden değerlendirilmesi son derece önemlidir (Prior, 1999).

2.4.3. Antioksidan Savunma Mekanizmasının Etkisi

Antioksidanlar etki mekanizmaları çeşitli yollarla olabilmektedir;

- 1) Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun engellenmesi
- 2) Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu katalizleyen metal iyonlarının bağlanması
- 3) Serbest radikallerin antioksidan enzimler aracılığı ile veya doğrudan temizlenmesi. (Yok edici antioksidanlar)
- 4) Zedelenmiş hücresel yapıların hasar sonrası tamir edilmesi veya temizlenmesi. (Tamir özelliğine sahip antioksidanlar) (Halliwell ve ark., 1984).

2.4.4. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanları yapılarına, kaynaklarına, çözünürlüklerine ve yerleşim yerlerine göre farklı sınıflandırmak mümkündür. Yapılarına göre: Enzim olan antioksidanlar enzim olmayan antioksidanlar. Kaynaklarına göre: Endojen antioksidanlar ve Eksojen antioksidanlar. Çözünürlüklerine göre: Yağda çözünen antioksidanlar ve suda çözünen

antioksidanlar. Yerleşimlerine göre: Hücre içinde bulunan antioksidanlar ve plazmada, diğer ekstraselüler sıvılarda bulunan antioksidanlar şeklinde sınıflandırabiliriz (Baykal, 1998).

2.4.4.1. Enzim yapılı olan antioksidanlar

2.4.4.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD, süperoksit radikalinin (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve molekuler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen bir antioksidan enzimdir. SOD, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda intraselüler olarak fonksiyon göstermektedir. Ekstraselüler etkinliği yoktur. Ayrıca fagosite edilen bakterilerin hücre içinde yok edilmesinde de rolü vardır. Tepkime sonucu meydana gelen H_2O_2 'nin uzaklaştırılması için GSH peroksidaz ile katalaz (CAT) birlikte çalışır (Ceballos ve ark., 1992). Bu enzim aerobik hücrelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Fizyolojik pH'da $O_2^{\bullet-}$ 'nin dismutasyonunu katalizlemek suretiyle lipid peroksidasyonuna karşı hücreleri korur. $O_2^{\bullet-}$ 'nin spontan dismutasyonuna nazaran SOD katalizinde dismutasyonu neredeyse 10 000 kat daha hızlıdır. İnsan vücudunda iki tip SOD bulunur, biri sitoplazmada bulunan ve içeriğinde bakır ve çinko (Cu-Zn) içerir, diğeri ise mitokondride bulunur ve manganez (Mn) içerir. Metabolizmanın normal seviyelerde olması durumunda hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit oluşsa da bu enzim aktivitesi ile hücre içi süperoksit seviyeleri düşük tutulur. Hücre içi aktiviteleri yüksek, hücre dışı aktiviteleri düşüktür (Çıkrıkçıoğlu, 2001)

2.4.4.1.2. Katalaz

Katalaz yapısında hem grubu içerdiğinden dolayı, bir hemoprotein olarak kabul edilmiştir (Smith ve ark., 1983. Mukoz zarlarda böbrek, karaciğer, kan ve kemik iliğinde çok bulunmaktadır (Murray ve ark., 1991). Katalaz, hidrojen peroksiti indirgeyebilen enzimlerdendir. Yapısında dört hem grubu bulundurur ve peroksizomlarda bulunan katalaz enzimi, hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalar. Esas olarak peroksizomlarda ve daha az miktarlarda da hücrenin sitozol ve mikrozomal kısımlarında mevcuttur. En yüksek aktiviteye peroksizomal içeriğe sahip dokularda (böbrek veya karaciğerde) rastlanır (Halliwell ve ark., 1989).

2.4.4.2. Enzim yapısında olmayan antioksidanlar

Hücre dışı sıvılarda enzimatik olan antioksidanların aktivitesi çok sınırlı ve düşük oranda olması sebebiyle hücre dışı ortamlarda enzimatik olmayan antioksidanlar aktifleşmektedir. C vitamini başta olmak üzere farklı işlev ve etki alanları olan glutatyon, ürat, sistein, albümin, bilirubin, seruplazmin, transferin ve laktoferin, ferritin, ebselen, sitokininler, demir şelatörleri, oksipürinol, mannitol ve probukol gibi enzimatik olmayan antioksidanlar vardır. Çoğunlukla enzim yapısında olan antioksidanlar, hücre içinde, enzim yapısında olmayan antioksidanlar hücrenin dışında aktif ve etkilidirler (Palabıyık, 2014).

Askorbik asit (C vitamini) suda çözünme özelliği göstermektedir. Lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırarak, lipidleri oksidasyona karşı korur. Antiproteazların oksidan maddeler ile etkisiz hale getirmektedir. E vitaminin yeniden üretilmesinde, tokoferoksil radikalının α -tokoferole indirgenmesinde işlev görmektedir. LDL oksidasyonunu etkin bir şekilde engellemisi E vitamini aracılığı ile olmaktadır. C Vitamini, fagositoz için de çok önemli bir yeri vardır. Vücutta kemotaktik cevabı arttırmaktadır. Oksidatif patlamayla birlikte etrafa yayılan tepkimesel bakterisidal moleküllerin, hücre içi konsantrasyonlarında herhangi bir azalma oluşturmadan, oksidatif parçalanma ürünlerinin zarar veren etkilerini uzaklaştırdığı saptanmıştır. Bütün bunlara ilave olarak organizmada fenton tepkimesinde, ferri demiri ferro demire indirger ve hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun özellikte olan süperoksit radikalının oluşmasına neden olur. Askorbik asit bu etkisi nedeniyle pro-oksidan olarak kabul edilmektedir (Burton,1989)

Antioksidan bileşikleri sentetik ve doğal antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

2.4.4.3. Doğal antioksidanlar

2.4.4.3.1. Karotenoidler

Yapısal nitelikleri yönünden karotenoidler, singlet moleküler oksijen ve peroksil radikallerini çok iyi uzaklaştırıcı bir etkiye sahiptirler. Bu işlemde, karotenoid radikal ile tepkimeye girmesiyle yapısındaki konjuge çift bağ sistemi bozulmaktadır. Karotenoidler de tokoferol ile sinerjistik olarak etkileşim göstermektedirler. Aynı zamanda karotenoidlerin karışımları; tek başına olan bileşiklerden daha etkili olmaktadır.

Karotenoidlerin kanser, metabolik hastalık ve kardiyovasküler hastalık gibi oluşturan birtakım hastalıklara karşı koruma sağladığı bilinmektedir (Jomova ve Valko,2013).

Karotenoidler özellikleri bakımından bitkilerde sentezlenen, açık sarı renk tonlarından kırmızı renk tonlarına kadar olabilen, çoğu bitkilerde ve hayvanlarda bulunan ve azot bulundurmeyen pigmentlerdir. Suda çözünmeyen karotenoidler organik solventlerde ve yağlarda çözünürler. Domates, havuç ve mısır gibi birçok meyvede bol miktarda bulunmakla birlikte süt, yumurta sarısı, tereyağı gibi birçok hayvansal kaynaklı ürünlerde de bulunmaktadır. Sıklıkla kullanılan karotenoid β -karoten'dir (A-provitamin) (Karademir, 2005).

Epidemiyolojik çalışmalarda elde edilen bulgulara göre kan plazmasında ve diyetinde β -karoten miktarı yüksek olan bireylerde akciğer kanseri riskini büyük ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra sigara kullananların yüksek dozda beta-karoten kullanılması durumunda kanser riskinin de arttığı bulunmuştur (Mukhopadhyay, 2000; Uğuzlar, 2009).

2.4.4.3.2. Tokoferoller (E Vitamini)

E vitamini α , β , γ , δ olmak üzere dört farklı formu vardır. d- α -tokoferol en yaygın ve en aktif tokoferol şeklidir. Anaerob ortamlarda asit ve sıcaklığa karşı dayanıklıdır. İçerdiği hidroksil grubu ile eşleşmemiş elektronlarla reaksiyona girer ve elektronları indirgeyebilir. Radikal tepkimeleri sırasında zincir kırıcı olarak işlev görür. Glutasyon ve C vitamini (askorbik asit) ile birlikte antioksidan etkisinde artışa neden olur (Tadmouri ve ark., 2001). Tokoferollerin antioksidatif etkisi; kimyasal yapısıyla birlikte konsantrasyon miktarına bağlı olarak değişebilmektedir. Yaygınlık ve aktiflik özelliklerine göre α - > β - > γ - > δ - olarak sıralayabiliriz (Shahidi, 2000; Uğuzlar, 2009).

E vitamini yağda çözünen, özellikle hücre zarları ve lipoproteinlerde önemli işlev gören bir antioksidandır (Uğuzlar, 2009). Dünyada çoğu ülkede yapılan klinik çalışmalar sonucunda, E vitamini düzenli olarak alan bireylerde kardiyovasküler, şeker, erken yaşlanma ve kanser türleri gibi çeşitli hastalıkların oluşumunu engellemesinde önemli katkı sağladığı bildirilmiştir (Shahidi, 2000; Uğuzlar, 2009). Karaciğer, karotenoid ve tokoferollerin depolandığı temel organımız olmakla birlikte yağ doku, akciğer ve böbrek gibi yapılarda da depolandığı bildirilmiştir (Surai ve ark., 1998; Ak, 2006).

2.4.4.3.3. Flavonoidler

Flavonoidler, önemli metal şelatörleri olmakla beraber serbest radikal temizleyicisi gibi görev yapmaktadırlar. Çeşitli sebze ve meyvelerde bulunan polifenol grubu bileşiklerdir. Antioksidan, antiarteriyosklerotik, antitrombojenik, antiinflamatuvar, antitümör, antiviral, antialerjik etkileri vardır. Kateşinler, flavonlar, flavonoller flavanonlar; isoflavonlar, antosiyanidinler olmak üzere altı grup olarak incelenirler. Flavonoidlerin inhibe edilebildikleri ve temizledikleri reaktif oksijen ürünleri; süperoksit anyonları ve alkol, peroksil, hidroksil, perhidroksi radikalleridir. Bu Flavonoidler, radikalın reaktif bölümleriyle etkileşime girerek reaktif oksijen ürünlerinin stabilizasyonuna sebep olurlar (Nijveldt ve ark., 2001).

2.4.4.3.4. Askorbik asit (C vitamini)

Suda çözünebilen C vitamini, lipid peroksidasyonun oluşumunu başlatan serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırarak, lipidlerin oksidasyonunu engellerler. Antiproteazların oksidan maddeler ile etkisiz hale getirmektedir. E vitaminin yeniden üretilmesinde ve tokoferoksil radikallerinin α -tokoferole indirgenmesinde işlev görmektedir. LDL oksidasyonunu etkin bir şekilde engellenmesi E vitamini aracılığı ile olmaktadır. C Vitamininin, fagositoz için de çok önemli bir yeri vardır. Vücutta kemotaktik cevabı arttırmaktadır. Oksidatif patlamayla birlikte etrafa yayılan tepkimesel bakterisidal moleküllerin, hücre içi konsantrasyonlarında herhangi bir azalma oluşturmadan, oksidatif parçalanma ürünlerinin zarar veren etkilerini uzaklaştırdığı saptanmıştır. Bütün bunlara ilave olarak organizmada fenton tepkimesinde, ferri demiri ferro demire indirger ve H_2O_2 ile tepkimeye girmeye uygun özellikte olan süperoksit radikalının oluşmasına neden olmaktadır. Askorbik asit bu etkisi nedeniyle pro-oksidan olarak kabul edilmektedir (Burton, 1989).

2.4.4.4. Sentetik antioksidanlar

Gıda sanayinde en yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlar; PG (propil gallat), BHA (bütil hidroksianisol), BHT (bütil hidroksitoluen) ve TBHQ (tersiyer bütilhidrokinon)'dır.

BHA: Beyaz renkli ve mumsu katı bir yapıya sahiptir. Bitkisel ve hayvansal yağlarda kullanılmaktadır. Bu iki izomer bileşimi, yağda çözünmekte olup suda çözünmemektedir.

Hayvansal yağlarda gösterdiği antioksidatif etki, bitkisel yağlarda gösterdiği etkisine göre daha fazladır (Uğuzlar, 2009).

BHT: Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), BHA gibi ısıya oldukça dayanıklı olan bu antioksidan beyaz renkli kristal yapıdadır. Gıda dayanıklılığında katkıda bulunduğu için gıdalarla ilgili bazı işlemlerde kullanılır (Yanishlieva, 2001; Uğuzlar, 2009).

(BHT) yağ ve yağlı gıdalarda oksidatif bozulmayı önlemek için kullanılan sentetik bir antioksidandır. BHT'nin yanı sıra bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) da 1950'lerden beri kullanılan en yaygın iki sentetik antioksidandan biridir. BHA ve BHT, birçok ticari gıdada az miktarda bulunurlar ve bu nedenle birçok insanın beslenmesinin küçük bir kısmını oluştururlar. Fakat gıda ürünlerinde yaygın kullanımı ve dolayısıyla insanların bu sentetik katkı maddelerine uzun süreli ve yaygın olarak maruz kalması nedeniyle, potansiyel sağlık risklerinin araştırılması önemlidir (Botterweckve ark., 2000).

Tablo 2: Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar (Temür, 2005)

Enzimatik antioksidanlar	Enzimatik olmayan Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Vitamin C	Melatonin
Selenyum bağımlı Glutasyon peroksidaz (GPx)	Flavonoidler	Albümin
Glutatayon-S-transferaz (GST)	Vitamin E	Sistein
	Vitamin A	Ferritin

2.5. Rosa Damascena

Rosa L. (gül) cinsi yaklaşık 200 tür ve 18000' i aşkın çeşidiyle en önemli bitkilerden biridir. Ülkemizde 24' ü doğal olmakla birlikte 50' ye yakın türü bulunan gül ülkemizin her yerinde yayılış göstermektedir. *Damascena Mill.* 'in çiçek kısımları gül yağı yapımında kullanılmaktadır. Bu melez gül, parfümeri ve kozmetik sanayinde, bazı pomatlar ile beraber galenik preparatların kokusunun değiştirilmesinde kullanılmaktadır. Tarihçesine bakıldığında, İslam ülkelerinde gülün, Hz. Muhammed'e ait bir koku olduğu belirtilmektedir. Gülsuyunun bileşiminde bulunan feniletal alkolün, antiseptik özellik gösterdiği ve bu gösterdiği etkiden dolayı İslam Aleminde kullanıldığı bilinmektedir. Göz ve mide hastalıklarının tedavisiyle birlikte, alerji ve hararet karşı olarakta kullanıldığı, psikolojik rahatsızlığa sahip kişilere önerildiği, hatta Atatürk'ün rahatsızlığında gülden yapılan sirkeden fayda gördüğü de bilinmektedir. Gülün çiçek kısmında bulunan taç

yaprakları uçucu yağ, gallik asit, tanen, siyanin, kuarsitrin, şeker ve mum gibi önemli maddeler içermektedir. Taze çiçeklerin distilasyonu ile sitranelol, nerol, geraniol, metil öjenol, öjenol ve feniletıl alkol içeren Gül esans yağı elde edilmektedir. Bu maddeler antiseptik özelliğinden dolayı boğaz ve bademcik iltihaplarının tedavisinde kullanılmaktadır. Gözde oluşan kanlanmalar ve göz nezlesinin tedavisinde de etkili olmakla beraber müshil etkisi de vardır. Osmanlı devrinde aromaterapi yöntemiyle gül kokusunun psikolojik hastaların tedavisinde kullanıldığı ve tıbbi bakımdan araştırma ve değerlendirilmelerin arttırılması gereken tıbbi ve aromatik bitki olarak yerini almaktadır (Özçelik ve ark., 2011).

Petal yapraklarındaki nektar (balözü, şekerli sıvı) bazı böcekler için önemli bir besin kaynağıdır. Taze gövde yaprakları, pedisel ve çiçek kısımlarının tamamında birçok hayvan grubu için çok önemli ve cezbedici koku (uçucu yağ) sentezleyen salgı bezleri C vitamini ve omega yağ asitleri bakımından zengin meyveleri de aynı zamanda birçok hayvan için gıda ve ilaçtır.

Hastalık amilleri önce güllerde görülür, gülde çoğalır ve diğer bitkilerde de yayılmaya başlar. Bitki zararlısı (yaprak biti) ve diğer zararlı organizmalar en fazla güllere zarar verir. Bu tabiat olayı güllerin ekolojik sistem, yabani meyve ağaçları biyo dağılım için önemini ifade etmektedir. Afitlerin yönelimi, kokulu güllerdir. Ayrıca uğurböceklerinin dağılımı ile yaprak bitlerinin dağılımı arasında bir bağlantı mevcuttur Uğur böceklerinin fazla miktarda olduğu yerlerde yaprak bitlerinde bir düşüş gözlemlenir bu bazı tür böceklerin yaprak bitleriyle beslenmesinden kaynaklanır. Güle önem veren kadim medeniyetimizde eskiden insanlar kimyasal kullanmadan basınçlı su kullanarak doğal bir yöntemle başka hiçbir canlıya zarar vermeden zararlılarla mücadele etmiştir. Çoğunlukla güller vejetatif olarak çoğalma gösterirler. Doğada güller küçük kümeler halinde bulunur. *R. damascena'* nın ışığa ihtiyacının fazla olması ve uzun gün bitkisi olması bu bitkinin önemli özellikleri arasındadır (Özçelik, Korkmaz 2015).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve cihazlar aşağıda yer almaktadır

3.1. Kimyasal Maddeler

- 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)
- Demir (III) klorür (FeCl_3),
- Trikloro asetik asit (TCA),
- Potasyum ferrisiyanid $\{\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6\}$
- Deoksiriboz
- EDTA
- Potasyum fosfat
- Etanol
- Tiyobarbitürik (TBA)
- HCl
- Sodyum di Fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Sodyum mono Fosfat $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- Folin reaktif
- Sodyumpotasyum tartarat
- Potasyum ferrisiyanid
- Ferrik klorid
- Tris
- CuSO_4
- Na_2CO_3
- Bovin serum albümin
- Sodyum hidroksit
- Butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT)
- Vitmin C (Askorbik asit)
- Vitamin E
- Serum albümin
- Asetil kolin iodide
- İburamin
- Hidrojen peroksit (H_2O_2)
- Sodyum karbonat (Na_2CO_3)

- Enzim MAO-A
- Asetilkolin (fare beyininden homojenize)
- Fluoksetin (Depreks 20mg)
- Butanol
- Tiyobarbitürik Asit
- 5,5 '- ditiobis (2-nitrobenzoik) asit (DTNB)
- Kinuramin
- Donepezil
- Folin–Ciocalteu reaktifi

3.2. Cihazlar

- Hassas Tartı (RADWAG/AS 220.R2)
- Terazi (RADWAG/AS220/C/2)
- Homojenizatör (ISOLAB/62L1L001)
- Santrifüj (BECKMAN COULTER/Allegra X-30R Centrifuge)
- Isıtıcı-Karıştırıcı (ISOTEX)
- Distile Su Cihazı (Thermo Scientific)
- Rotary Evaporatör (Dolph, laborota 4002WB\G3)
- Spektrofotometri
- Dondurucu (Bosch)
- PHmetre

3.3. Bitki Örneklerin hazırlanması

Bitki örnekleri Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi kampüs alanından Mayıs 2018 tarihinde toplanıp ve örneklenerek Prof. Dr. Hasan Özçelik tarafından botanik tanımlanması ve adlandırılması yaptırıldı. Bitki örnekleri tanımlanması yapıldıktan sonra distile su ile yıkanarak kirlerinden arındırıldı. Temizlenen örnekler gölgede kurutulduktan sonra ile blendır ile pudra edilerek analize hazır hale getirildi.

3.4. Ekstraksiyon (Özütleme) Metodu

Kurutulmuş ve pudra edilmiş 50 g *R.iranica*, *R. faik*, 35 nolu *R. damascena cera miller kompleks*, 37 nolu bademin dip kökü, *R. damascena bulgarica* bitki örneklerinden % 96 etil alkolle 1 gün karıştırma cihazında ısı olmadan aralıklı olarak karıştırıldı. Özüt filtre kağıdıyla süzüldükten sonra su ve etanol, rotary evaporatörde 40 °C' de vakum altında buharlaştırıldı ve 45°C'de 72 saat inkübatörde bekletildi. Elde edilen madde (İranica 4.015 g, Faik 3.482, 35 no 5.041,37 no 1.678 g, Bulgarica 1.56 g) kazınarak tartıldı. Kapalı tüplerde folyolanarak -21°C' de saklanarak analizlere hazır hale getirildi.

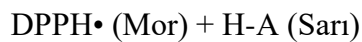
3.5. Radikal bilgi metodlarıyla Antioksidan Aktivitesinin Hesaplanması

3.5.1. Demir indirgeyici antioksidan gücü (Frap)

Yaprağın etanolik özütünün indirgeyici güç analizi ferrisiyanür metodu (Oyaizu 1986) ile bakıldı. İndirgenme potansiyeli olan maddeler, potasyum ferrisiyanür (Fe^{+3}) ile reaksiyona girerek potasyum ferrosiyanüre (Fe^{+2}) dönüşmektedir. Ferrosiyanür daha sonra ferrik klorür ile reaksiyona girerek 700 nm soğurma derecesine sahip olan ferrik ferröz kompleksini oluşturmaktadır. 0.1-1.5 mg arasında farklı konsantrasyon derecelerine sahip özütler, 1 mL su içerisinde 2.5 mL fosfor tamponu ile karıştırılır. Karışım 50°C'de 20 dakika inkübe edildi. 3000 rpm'de 10 dakika sentrifuj edilmiş trikloro asetik asit alikotları (2.5 mL) karışıma eklendi. Çözeltinin üst kısmı (2.5 mL), damıtılmış su (2.5 mL) ve yeni hazırlanmış ferrik klorür çözeltisi (0.5 mL) ile karıştırıldı. (Oluşan yeşil renkli çözeltilerin absorbansı) 700 nm'de soğurma dereceleri ölçüldü, askorbik asit ve E vitamin (0.1-1.0 mg) standart olarak kullanıldı. Reaksiyon karışımının artan soğurma derecesi, artan indirgenme gücünü belirtmektedir.

3.5.2. 1,1-Difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) Radikal uzaklaştırma Aktivitesi

DPPH• ve antioksidan (H-A) madde arasındaki süpürücü reaksiyon aşağıdaki gibidir;



Antioksidan, stabil bir serbest radikal olan DPPH• ile reaksiyona girerek DPPH'ye indirgenir. Bunun sonucunda soğurma derecesi, DPPH• radikalinden DPPH-H formuna kadar düşmektedir. Özütlerin antioksidan bileşiklerinin süpürme potansiyeli, hidrojen bağışlama yeteneği açısından, renk değiştirme derecesini belirtir. Analiz, (Villano ve ark.,

2007) metodu ile belirtildiği gibi uygulandı; etanol içinde yapılan 4 ml özüt çözeltisi, 1 ml DPPH• çözeltisine (1mM) eklendi. Karışım çalkalandı ve 20 °C'de 30 dakika beklemeye bırakıldı. Elde edilen çözeltinin absorpsansı, spektrofotometre ile 517 nm olarak ölçüldü.

Bu değerlerden ve DPPH'ın kalibrasyon eğrisinden yararlanarak her bir bitki için DPPH serbest radikalının yarısının uzaklaştırıldığı zamandaki bitki ekstraktı konsantrasyonu (IC₅₀) değerleri hesaplanarak sentetik antioksidan olan BHT ve BHA ile kıyaslandı.

% DPPH radikal uzaklaştırma aktivitesi = (Kontrolün absorpsans değeri – örneğin absorpsans değeri) / kontrolün absorpsans değeri X 100

3.5.3 Hidroksil Söndürme Aktivitesi

Bir demir-EDTA kompleksinin (H₂O₂) ile askorbik asit varlığında reaksiyona girmesiyle üretilen hidroksil radikalleri düşük pH' da tiobarbitürik asitle ısıtıldıktan sonra pembe kromojen veren ürünler oluşturmak için deoksiriboza saldırmaktadır. Antioksidan eklenir ve bu, kromojen oluşumunu azaltır. Reaksiyon, Halliwell ve arkadaşlarının (1987) prosedürüne göre gerçekleştirilmektedir. Reaksiyon karışımının toplam hacmi, 3.5 ml'dir ve 100-200 µg bitki özü , Deoksiriboz 15 mM, hidrojen peroksit 1mM, FeCl₃ 100 µM, EDTA100 µM , Askorbik asit 100 µm içermesi gerekmektedir. Bunlar potasyum fosfat tamponu pH 7.4, (0.022 M) içinde karıştırıldı ve 37 ° C' de 1 saat boyunca inkübe edildi. Deoksiriboz yıkımı ekstraktı TBA reaksiyonu ile ölçüldü. Yukarıdaki reaksiyona karışım, 1 ml % 1 TBA (Tiyobarbuturik asit) ve 1 ml % 2.8 TCA ilave edildi daha sonra kaynar su banyosunda 30 dakika ısıtıldı. OD 532 nm' de okundu. Deney ayrıca bitki özü yerine 0, 100, 200 µg BHT % 2.4 g (sentetik antioksidan) ile yapıldı. Kontrol, BHT veya bitki ekstraktının olmadığı yerdir (Halliwell ve ark.,1987).

3.6. Nörodejeneratif Hastalıklar Bağlantılı Enzim İnhibitor Tahlilleri

3.6.1. Beyin analizi

Enzim eldesi için sıçan beyinleri kullanıldı beyin eldesi için su aşamalardan geçirildi; Sıçan beyin mikrozomları hazırlandı. Kısacası, sıçan servikal dislokasyon ile öldürüldü ve beyin hemen eksize edildi. 0.02 M EDTA içeren soğuk Tris-HCl tamponuna (pH 7.4, 100 mM) yerleştirildi. Beyin bir 3.5 mL / gm olacak şekilde tartıldı ve homojenize edildi. Homojenat, 10 dakika boyunca 12.000 x g' de santrifüjlendi.

Süpernatant daha sonra 1 saat 60,000 g'de santrifüjlendi. Elde edilen çökelti, 0.02 M EDTA ihtiva eden 100 mM Tris HCl tamponu pH 7.4 ile yeniden çözündürüldü ve analiz için -20°C 'de donduruldu.

3.6.2. Protein Hesaplamaları

Protein miktarı, standart olarak sığır serum albümini alınıp Lowry yöntemini kullanarak hesaplandı (Lowry ve ark., 1951).

Metot bakır iyonlarının alkalın ortamda peptit bağları ile verdiği tepkimeler (Biüret testi) ile aromatik protein birimlerinin yükseltgenmesini kombine etmektedir. Lowry metodu, peptit bağları tarafından indirgenmiş olan Cu^{+1} iyonlarının Folin–Ciocalteu reaktifi (Folin–Ciocalteu reaksiyonundaki fosfotungisitik asit ve fosfomolibdik asitin bir karışımı) ile reaksiyonu temeline dayanmaktadır. Tepkime mekanizması çok iyi anlaşılmamıştır ama Folin–Ciocalteu reaktifinin indirgenmesini ve aromatik birimlerin yükseltgenmesini (başlıca triptofan ve tirozin) içerdiği bilinmektedir. Deneyler aynı zamanda sisteinin reaktif ile tepkime verdiğini göstermiştir. Buna bağlı olarak sistein birimleri de muhtemelen Lowry tahlilinde gözlenen absorbansa katkıda bulunmaktadır (Everette ve ark., 2010).

3.6.3. Asetilkolinesteraz enzim analizi standardizasyonu

AChE aktivitesi, 200 μL AChE çözeltisi (0.1 M fosfat tamponu içinde 0.415 U.mL⁻¹, pH 8.0), NaHCO_3 (6 mM) içeren 100 μL 5,5 '-ditiobis (2-nitrobenzoik) asit (DTNB) (0.1M fosfat tamponlu solüsyonda, pH 7.0'da 3.3 mM)) ve 500 μL fosfat tampon çözeltisi, pH 8.0 içeren bir karışımda belirlendi. Substrat olarak 100 μL 0.05 mM asetilkolin iyodür çözeltisi eklendi ve AChE aktivitesi, 25°C 'de 3 dakika boyunca 412 nm'de ölçülen absorbans değişikliği spektrofotometre kullanılarak hesaplandı (Ellman ve ark., 1961)

3.6.4. Asetilkolinesteraz İnhibisyon Analizi

AChE aktivitesi, 200 μL AChE çözeltisi (0.1 M fosfat tamponu içinde 0.415 U/mL, pH 8.0), NaHCO_3 (6 mM), *R. damascena*'nın etanolik özütünün farklı konsantrasyonları içeren 100 μL 5,5 '- ditiobis (2-nitrobenzoik) asit (DTNB) (0.1M fosfat tamponlu solüsyonda, pH 7.0'da 3.3 mM) ve 500 μL fosfat tampon çözeltisi, pH 8.0 içeren bir karışımda belirlendi. 25°C 'de 20 dakika inkübe edildikten sonra, 100 μL 0.05 mM asetilkolin iyodür çözeltisi substrat olarak eklendi ve AChE aktivitesi, 25°C 'de 3 dakika

boyunca 412 nm'de ölçülen absorbans değışikliği spektrofotometre kullanılarak ölçüldü ve hesaplandı. Bu analiz, *R. damascena*'nın beş çeşidinin her bir etanolik özütü için uygulanarak üç kez tekrar edildi (Ellman ve ark., 1961).



3.6.5. Monoamin Enzim Analizinin Standardizasyonu

4 mM 5 BHT ve 250 µL Mitokondriyal fraksiyon, içeren karışıma 710 µL Sodyum ilave edildi. Ardından Fosfat tamponu (pH = 7.4) ilave edildi. Bir dakika vortekslendi ve 37 ° C'de 60 dakika inkübe edildikten sonra reaksiyonu durdurmak için 1 M HCl eklendi. Reaksiyon ürünü, 5 mL n-butil asetat ile özümlendi. Organik faz 242 nm' de ölçüldü. Standart olarak fluoksetin kullanıldı (Sagar, 2014).

3.6.6. Monoamin Oksidaz (MAO-A) İnhibisyon Analizi

4 mM 5 BHT ve 250 µL Mitokondriyal fraksiyon, içeren karışıma 710 µL Sodyum ilave edildi. Fosfat tamponu (pH = 7.4) ilave edildi. *R. bulgarica*, *R. iranica*, *R. COM35*, *R. COM37*, *R. faik* bitkilerinin farklı konsantrasyonlarındaki özütleri de eklendi. Bir dakika vortekslendi ve 37 ° C'de 60 dakika inkübe edildikten sonra reaksiyonu durdurmak için 1 M HCl eklendi. Reaksiyon ürünü, 5 mL n-butil asetat ile özümlendi. Organik faz 242 nm' de ölçüldü. Standart olarak fluoksetin kullanıldı (Sagar, 2014).

3.7. İstatiksel Analizlerin Yapılması

Üç tekrarlı deneyin sonucu toplandı ve ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edildi (Zar, 1984). Duncan çoklu testi kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Pozitif analiz yapıldı. Anlamlılık $P \leq 0.05$ ' te kabul edildi.

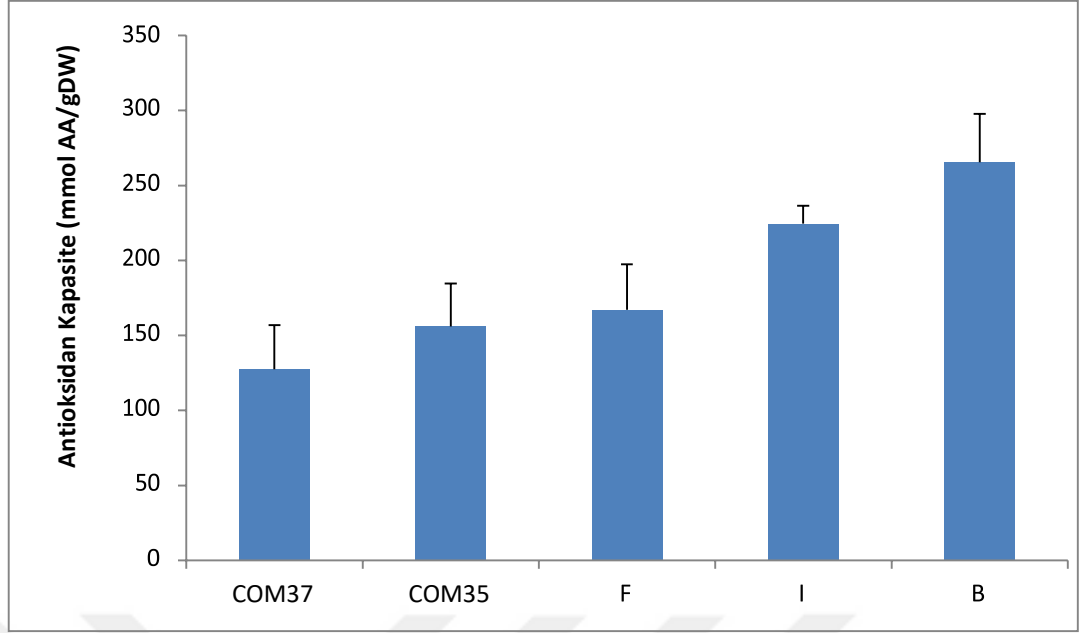
4. BULGULAR

Bu çalışmamızda nörodejeneratif hastalıklar üzerindeki etkisi 5 farklı türdeki *Damascena*'nın farklı konsantrasyonlarda incelenmiştir. Önemli bir etki mekanizması olarak kabul edilen antioksidan aktiviteleri analiz edilmiştir. Mevcut çalışmamız da DPPH• ve hidroksil radikalının uzaklaştırma etkisi, demir indirgeme gücü aktiviteleri (Frap), MAO ve AchE enzimleri inhibisyon deneyleri yapılmış ve etanol çözücüsünde farklı konsantrasyonlarda belirlenmiştir. Antioksidan ve antiradikal yöntemlerde bulunan sonuçlara göre bitkimiz antioksidan, antiradikal ve yüksek indirgeme gücü özelliklerine sahiptir. Deney sonuçları; birer sentetik antioksidan olan BHT, C vitamini (Ascorbik asit), E vitamini, enzim (AchE, MAO) ile kontrol ve ilaç (donapezil, fluoksetin) pozitif kontrol ile kıyaslamalar yapılarak sonuçlandırılmıştır.

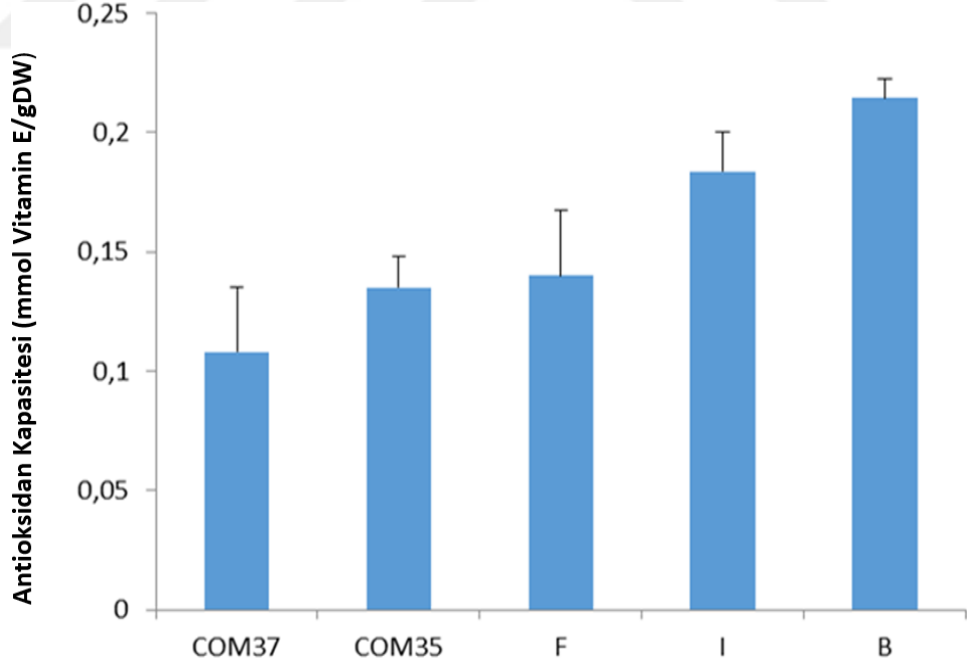
4.1. Demir İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Sonucu

İndirgenme potansiyeli olan maddeler, potasyum ferrisiyanür (Fe^{+3}) ile reaksiyona girerek potasyum ferrosiyanüre (Fe^{+2}) dönüşmektedir. Ferrosiyanür daha sonra ferrik klorür ile reaksiyona girerek 700 nm soğurma derecesine sahip olan ferrik ferröz kompleksini oluşturmaktadır. Reaksiyon karışımının artan soğurma derecesi, artan indirgenme gücünü belirtmektedir.

Beş *R. damascena* örneğinin etanolik özütleri için FRAP deneyi kullanılarak ölçülen antioksidan kapasitesi, grafik 1' de gösterilmektedir. Gram başına kuru ağırlığı (KA) askorbik asit (A) eşdeğeri olarak ifade edilen FRAP değerleri 127.41 mmol ila 265.41 mmol arasında ve g (KA) başına E vitamini (B) eşdeğeri 0.108 mmol ile 0.21 4 mmol arasında değişmiştir. Her iki deneyde de en yüksek FRAP değerleri *R. bulgarica* için kaydedilmiştir, bunu *R. iranika*, ardından *R. faik*, *R. complex-35* izlemiş, en düşük değerler *R. Complex-37*' de tespit edilmiştir. Örnekler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.



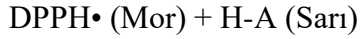
Grafik 1. *R. damascena* beş örneğinin etanolik ekstralarının antioksidan kapasitesi (FRAP) *R. bulgarica* (B), *R. faik* (F), *R. iranica* (I), *R. Complex-35* (COM35) ve *R. Complex-37* (COM37); \pm SD (n = 3); (KA) kuru ağırlık. AA: (Askorbik asit eşdeğeri) anlamına gelir. *R. damascena* örnekleri arasındaki antioksidan potansiyel farklılıklar, $p < 0.05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı bulundu.



Grafik 2. *R. damascena* beş örneğinin etanolik ekstralarının antioksidan kapasitesi (FRAP) *R. bulgarica* (B), *R. faik* (F), *R. iranica* (I), *R. Complex-35* (COM35) ve *R. Complex* (COM37); \pm SD (n = 3); (KA) kuru ağırlık. B: E vitamini eşdeğeri) anlamına gelir.

4.2. DPPH Radikal Uzaklaştırma Deneyi Sonucu

Bitki ve mikrobiyal gibi doğal kaynakların antioksidan aktivitesini değerlendirebilmek için 1,1-difenil-2 pikrilhidrazil (DPPH) yaygın olarak kullanılmaktadır. Proton radikal uzaklaştırma aktivite eylemi, DPPH radikal uzaklaştırma deneyi ile ölçülen antioksidanların önemli bir özelliğidir. Protonlanmış DPPH radikal, 517 nm' de proton radikal atma ile azalan karakteristik absorbans maxima'ya sahip olmaktadır. Antioksidan moleküllerin hidrojen bağış kabiliyeti kendi serbest radikal temizleyicisine katkıda bulunmaktadır.

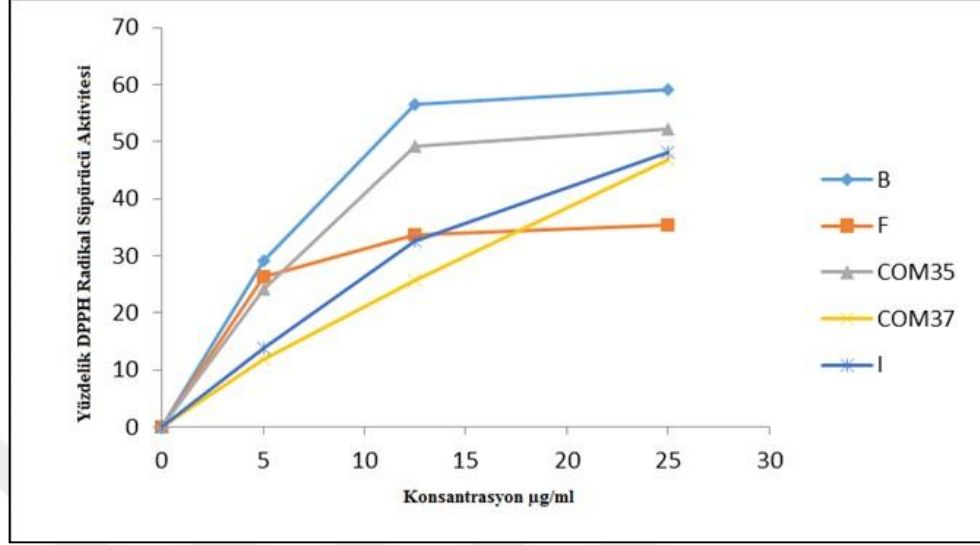


Antioksidan, stabil bir serbest radikal olan DPPH• ile reaksiyona girerek DPPH'ye indirgenir. Bunun sonucunda soğurma derecesi, DPPH• radikalinden DPPH-H formuna kadar düşer. Özütlarin antioksidan bileşiklerinin potansiyeli, hidrojen bağışlama yeteneği açısından, renk değıştirme derecesini belirtir (Villano ve ark., 2007). Bu değerlerden ve DPPH' in kalibrasyon eğrisinden yararlanarak her bir bitki için DPPH serbest radikalinin yarısının uzaklaştırıldığı andaki bitki ekstraktı konsantrasyonu (IC₅₀) değeri hesaplandı. Sentetik antioksidan olan BHT ile kıyaslanmasıyla da sonuçlar elde edildi.

Kurutulmuş gül yapraklarının etanolik ekstraktları, kararlı radikal DPPH' in sarı renkli difenilpikrilhidrazine indirgenmesinde etkili olmuştur. Bunu takiben ekstraktların DPPH radikalini temizleyebildiğini göstermektedir. (Grafik 3 ve Tablo.3). Standart Askorbik asit, IC₅₀ = 0.37 ± 0.48 µg / ml ile maksimum serbest radikal uzaklaştırıcı aktivite göstermektedir. *R. bulgarica* yapraklarının etanol özütü (IC₅₀ = 1.09 ± 0.20 µg / ml), diğer dört ekstraktan (*R. Faik* IC₅₀ = 2.44 ± 1.39 µg / ml, *R. iranica* IC₅₀ = 1.43 ± 0.67 µg / ml, *R. Complex-35* IC₅₀ = 1.25 ± 0.24 µg / ml, *R. Complex-37* IC₅₀ = 1.5 ± 0.28µg / ml.) daha güçlü bir DPPH radikal uzaklaştırma aktivitesi göstermektedir.

Damascena'nın etanolde yukarıda belirtilen konsantrasyon aralıklarında artan konsantrasyon ile DPPH• radikalinde süpürülme oranının da arttığı görüldü ve Damascena ekstraktları askorbikasit standardı ile *R. bulgarica* > *R.COM-35* > *R. Iranica* > *R.COM-37* > *R.faik* olmak üzere DPPH• radikali uzaklaştırma aktivitesi sergiledi. Bu şekilde

beş *Damascena* türünün etanol ekstraktının standart antioksidanlara eşdeğer radikal uzaklaştırma aktivitesi gösterdiği gözlenmiştir.



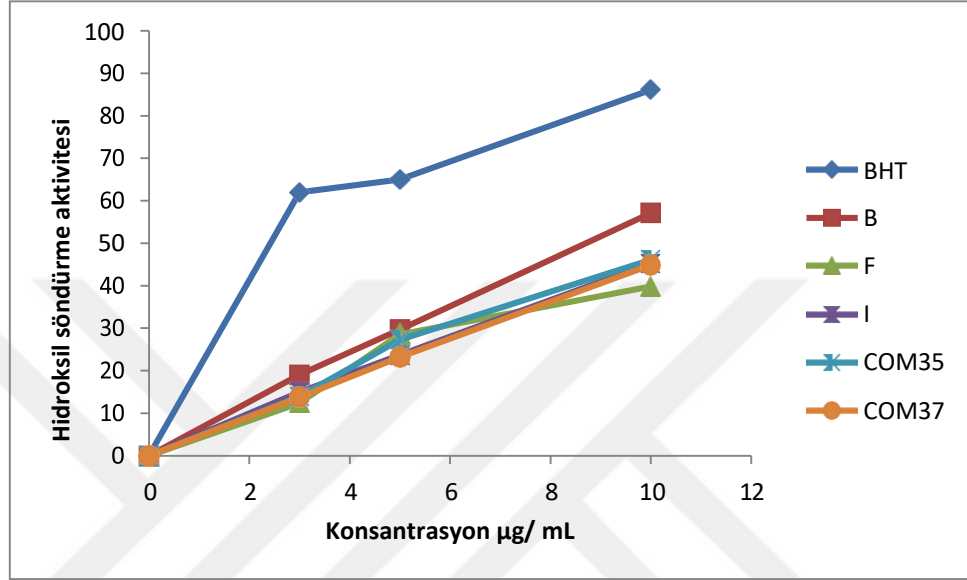
Grafik 3. Standart olarak Askorbik asit kullanılarak, *R. damascena* yapraklarının beş örneğinin farklı konsantrasyonlarının inhibisyon yüzdesi ile temsil edilen DPPH radikal uzaklaştırma aktivitesi. Üç değer için tüm değerler ortalama \pm SD olarak ifade edildi.

Tablo 3: *Rosa damascena* kurutulmuş yaprak etanolik ekstrakt örneklerinin DPPH serbest radikal uzaklaştırma aktivitesi için IC_{50} değerleri. Sonuçlar ortalama \pm SD'dir (n = 3)

<i>R. damascena</i> örnekleri	IC_{50} µg/ml
Bulgarica	1.09 ± 0.2
Complex-35	1.25 ± 0.24
İranika	1.43 ± 0.67
Complex-37	1.5 ± 0.28
Faik	2.44 ± 1.39
Vitamin C	0.37 ± 0.48

4.3. Hidroksil Söndürme Aktivitesi Deneyi sonucu

Hidroksil radikali biyolojik sistemlerde oluşan reaktif serbest radikaldır ve serbest radikal patolojide canlı hücrelerin zararlı biyomoleküllerinde son derece zararlı bir türdür. Hidroksil radikali DNA ipliği kopmasına neden olma kapasitesine sahiptir. Bu durumda nörolojik hasara ve karsinogenez mutajenez ve sitotoksositeye katkıda bulunmaktadır.



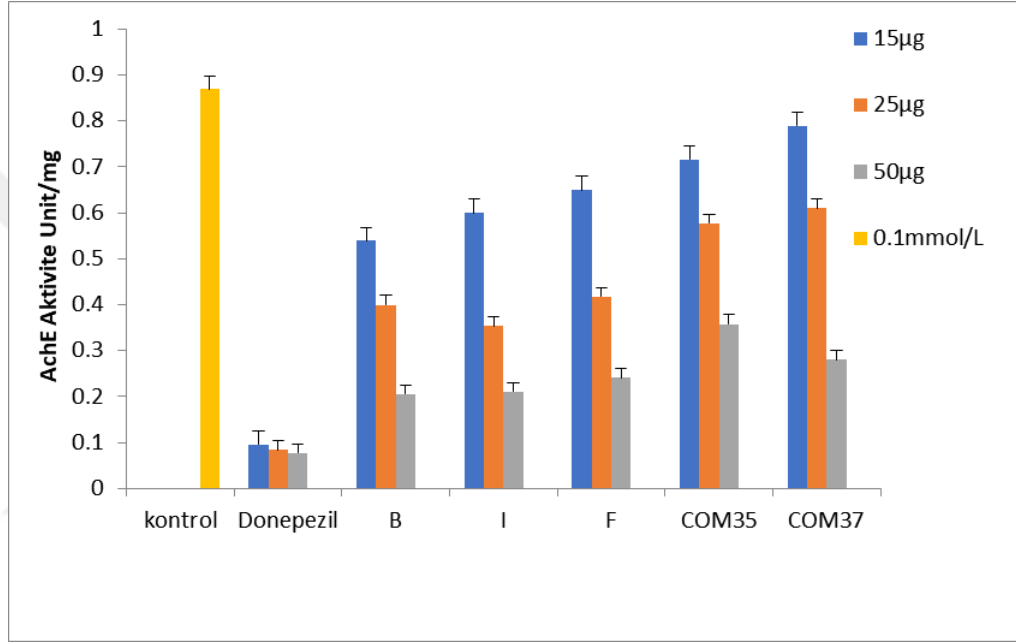
Grafik 4. Standart olarak bilinen bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) kullanılarak beş *R. damascena* gül yaprağı örneğinin farklı konsantrasyonlarının inhibisyon yüzdesi ile temsil edilen hidroksil radikal uzaklaştırma aktivitesi. Tüm değerler üç belirleme için ortalama \pm SD olarak ifade edilir.

Tablo 4: *Rosa damascena* kurutulmuş gül yaprakları örneklerinin etanolik özütleri OH serbest radikal söndürme aktivitesi için IC_{50} değerleri (μ g / mL). Sonuçlar ortalama \pm SD'dir (n = 3). E IC_{50} değerleri (μ g / mL) Buna göre *R. Damascenanın* 5 türünde hidroksil radikal söndürme aktivitesi kapasitesi *R. bulgarica* > *R. complex-35* > *R. iranica* > *R.complex-37* > *R. faik* olarak gözlemlenmiştir.

<i>R. damascena</i> Numuneleri	IC_{50} µg/ml
<i>R. bulgarica</i>	0.921 \pm 0.2
<i>R. kompleks-35</i>	1.061 \pm 0.24
<i>R. iranica</i>	1.097 \pm 0.67
<i>R. kompleks-37</i>	1.099 \pm 0.28
<i>R.faik</i>	1.172 \pm 1.39
BHT	0.281 \pm 0.48

4.4. Asetilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi Deney Sonucu

Asetilkolinesteraz, farklı ekstraktların konsantrasyonlarının yokluğunda ve varlığında yöntemlerde tarif edildiği gibi analiz edildi. Sonuçlar ortalama \pm SD'dir (n = 3) her bir Rose damascena numunesinin ekstresinin artan konsantrasyonu ile, kontrol (sadece enzim) ve Pozitif kontrol (Donepezil) ile karşılaştırıldığında enzimin inhibisyonunda bir artış olmuştur.



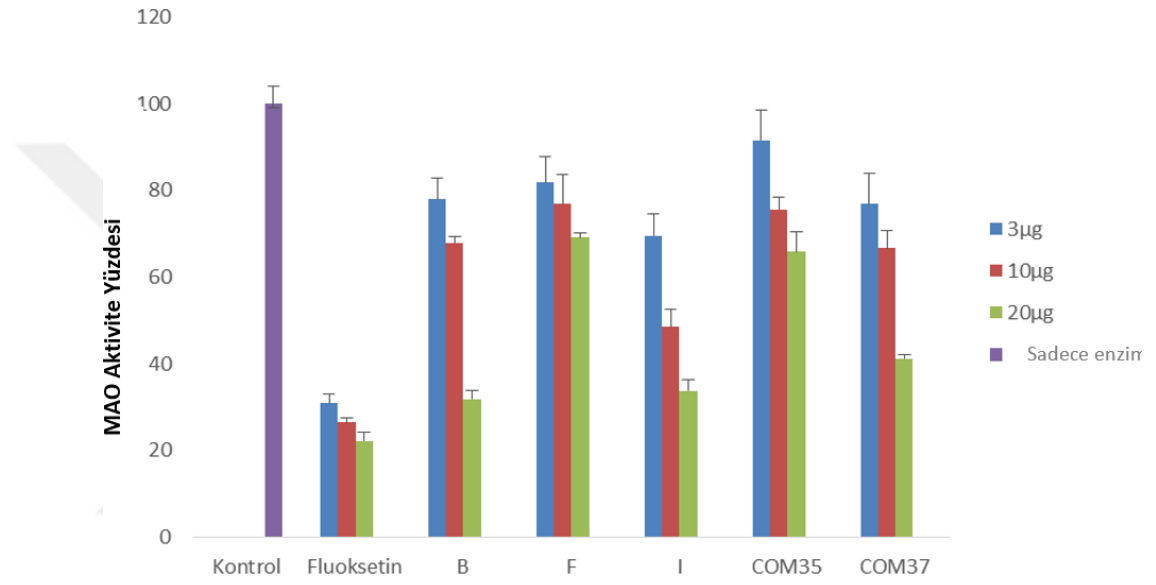
Grafik 5. Beş *R. damascena* örneği ile Asetilkolinesterazın inhibisyonu. Asetilkolinesteraz *R. damascena* yaprakları farklı özütlerin artan konsantrasyonlarının yokluğunda ve varlığında yöntemlerde tarif edildiği gibi analiz edildi. Sonuçlar ortalama \pm SD'dir (n = 3)

Her gül ekstraktın konsantrasyonun yükselmesiyle enzim inhibisyonunda Pozitif kontrol (donepezil) ve kontrole (sadece enzim) kıyasla bir artış var. *R. damascena* örnekleri arasındaki baskılayıcı potansiyel farklılıklar, $p < 0.01$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Her üç konsantrasyon için asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi (15µg-25µg-50µg için) *R. bulgarica* > *R. iranica* > *R. faik* > *R.COM-37* > *R.COM-35* olarak gözlemlenmiştir.

4.5. Monoamin Oksidaz İnhibisyon Aktivitesi Deney Sonucu

Bu çalışmamızda MAO-A enzimlerinin iyi inhibitörleri olduğu gözlemlendi. Ayrıca artan konsantrasyona bağlı olarak antioksidan aktivite sergiledi. Pozitif kontrol (Fluoksetin) ile karşılaştırıldığında enzimin inhibisyonunda bir artış olmuştur. Ayrıca bu bitki özlerinin aktif prensiplerini incelemesi ve hareketinin çalışma şekli ve daha ileri değerlendirme potansiyel antioksidanlar olarak etkinlikler önerilmektedir.



Grafik 6. Monoamin oksidazların (MAO) beş *R. damascena* numunesi ile inhibisyonu. Her üç konsantrasyon için Monoamin inhibisyon aktivitesi (3µg -10 µg -20 µg için). *R. damascena* örnekleri arasındaki baskılayıcı potansiyel farklılıklar, $p < 0.05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı bulundu. *R. iranica* > *R. bulgarica* > *R. COM-37* > *R. faik* > *R. COM-35* olarak gözlemlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Bitkilerin iyileştirici özellikleri, genellikle fenoller, flavonoidler, glikosidler, steroller ve alkaloidler gibi ikincil metabolitler olarak antioksidan özelliğine sahip fitokimyasalların varlığından kaynaklanmaktadır. Gül yaprağının ekstratlarından yapılan ilk fitokimyasal testlerde karbonhidrat, flavonoidler, fenoller, steroidler ve tanen varlığı ortaya çıkartılmaktadır (Demir ve ark., 2014; Tania ve ark., 2018).

Bitkilerin antioksidan potansiyelinin değerlendirilmesi için bir dizi teste tabi tutulması gerekir. Aralığın belirlenebilmesi için total antioksidan kapasitesi, DPPH radikal uzaklaştırma aktivitesi ve enzim inhibisyonu gibi testler takip edilmektedir. Antioksidanlarca zengin bitki ekstraktları nutrasötiklerin kaynağı olarak hizmet etmektedir. Bu kaynak oksidatif stresi azaltır ve dejeneratif hastalıkları önlemekte veya yavaşlatmaktadır (Shahwar ve ark., 2010; Amato ve ark., 2019). Bu çalışma, beş adet Rosa örneklerinin total antioksidan kapasitelerini göstermektedir. R. damascena kurutulmuş yapraklarının etanolik ekstraktları: R. bulgarica, R. iranica, R. faik, R. Complex-35, R. Complex-37, FRAP yöntemi ile birlikte askorbik asit ile karşılaştırılarak görüntülenmiştir. Buna karşın, Vitamin E ile karşılaştırıldığında sonuçlar büyüklük sıralamasının değiştiğini göstermiştir. Bu sonuç, R. damascena türünden gelen beş örneğin aralarındaki fitokimyasalların farklı tiplerinin varlığı nedeni ile olmuş olabileceğini göstermektedir.

Gülden ayrılan etanolik ekstraktların, oksidatif hasarı önledikleri görülmüş ve ayrıca DPPH radikal uzaklaştırma yöntemi için kayıt edilen raporlarda serbest radikalleri teşvik etmiştir. DPPH radikal uzaklaştırma aktivitesi için IC₅₀ değerleri azalan sıraya göre R. bulgarica > R. Complex-35 > R. iranica > R. Complex-37 > R. faik olarak görülmektedir.

R. Complex-37 ve R. faik' in antioksidan aktivitesi diğer örneklerle karşılaştırıldığında çok yüksek görülmemektedir. Bu durum, örneklerin ekstraktların konsantrasyonlarındaki ve içindeki antioksidan bileşenlerinin içeriğindeki tiplerin farklılıklardan kaynaklanabilir. R. bulgarica'nın yapraklarında yüksek bir serbest radikal uzaklaştırma aktivitesi görüntülenmiştir. Ekstraktların antioksidan aktivitesinin geniş aralığı, doğal antioksidan kaynağı olan gül yapraklarının potansiyelini gösterir ve sağlık yararları ile birlikte oksidatif stresi azaltmak için potansiyel uygulamaya sahip olabilir.

Hidroksil radikal söndürme deneyinin sonucunda radikal söndürme aktivitesi için

IC50 değerleri azalan sıraya göre *R. bulgarica* > *R. complex-35* > *R. iranica* > *R. complex-37* > *R. faik* Şeklinde gözlemlenmektedir.

Çeşitli araştırmalar, AChE ve onların arasındaki inhibisyon için yeni bileşenlerin bulunmasına bağlı olmuştur. Bitkisel bileŐenler Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan ilginç bir uygulamadır. Yeni alıŐmalar ise, ikincil metabolit olan flavonoidler ve fenolik bileşenlerinin AChE' yi inhibe ettiğini kanıtlamaktadır (Shahwar ve ark., 2010; Oluwafemi ve ark., 2018). Antioksidan içeren bu bileşenlerinin sınıfını ve asetilkolinesteraz enziminin inhibitör aktivitesi AH'nın tedavisinde etkili olabilir (Uriarte ve Calvo 2011). Onların birçoğu güçlü antioksidan ajanlardır ve bazıları AchE' yi inhibe edebilir. Bu nedenle gl türleri gibi bu bileŐenleri içeren bitkilerin, AH' nın tedavisi için alternatif tedavi olarak düŐünülebilirler. Jazayeri ve ark. yaptığı diğer bir çalışmada, İnan da yaygın olarak kullanılan bazı bitki ilaçlarının asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesi değerlendirilmektedir. Sonuçlara göre ise *R. damascena* ieğinin ekstraktının AChE inhibitör aktivitesi bulunmuştur (IC₅₀ = 93.10 µg/ml).

Bu alıŐmada, *R. damascena'* nin beş örneğinin etanolik ekstraktlarının, konsantrasyona bağlı Şekilde AChE inhibitör etkisi önemli ölçüde gösterilmiştir. Aslında etanol fraksiyonlar genellikle fenolik ve flavonoid'ler gibi polar bileŐenleri içerirler. Bitkinin enzim inhibisyon aktivitesi esas olarak türün fenolik ve flavonoid bileŐenlerine bağlı olabileceği sonucuna varılabilir. Örnekler arasında *R. bulgarica*, *R. faik* ve *R. iranica'* nin inhibitör etkisine benzer olarak ve en yüksek antioksidan kapasitesine sahip olurken en yüksek inhibitör etkisini göstermiştir. Bu durum sekonder metabolitlerin etkisinin varlığına neden olabilir ve daha fazla analize gereksinim olmasına karşın onların çok iyi bir AChE enzimi üzerine inhibitör etkisi olabileceği görülmektedir.

Sancheti ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Kore'de geleneksel bir bitkisel ilaç olan Terminalia chebula (*T. chebula*) meyvelerinin anlamlı derecede AChE ve butirilkolinesteraz (BChE) inhibitörleri olduğu gösterilmiştir. Ayrıca anlamlı derecede AChE ve BChE'de inhibitör etkisi (sırasıyla 29.9 ± 0.3 µM ve 27.6 ± 0.2 µM IC₅₀ değerleri) gösteren 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl-β-D- glucose izole ederler. Bu çalıŐmayı takiben (Kim ve ark., 2018), kolinerjik sistem ve anti-oksidan etkisiyle ilişkili mümkün olan mekanizma araŐtırılmıŐtır.

Monoamin oksidaz, mono aminleri oksidasyonlarını katalizleyen ve özellikle yiyeceklerle alınan katabolizma içerisinde önemli olan bir enzimdir. Bu enzimler, vücut

içerisinde çoğu hücre tipindeki mitokondri dış membranında bağlı olarak bulunmaktadır. Ayrıca nörotransmitter' in inaktivasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. MAO disfonksiyonu ilk olarak nörolojik hastalıkları için tepkiyi oluşturduğu düşünülmektedir (Mallajosyula ve ark., 2008).

Monoamin oksidaz inhibitörleri, depresyon tedavisi için reçetede edilen başlıca ilaçların major sınıflarından biridir. Bu nedenle, şimdiki çalışmalara bakıldığında MAO enzim inhibisyonunda potansiyel olan *Damascena* bitkilerinde tanımlanan beş örnek tasarlanmıştır. Bu çalışmada, *R. bulgarica* ve *R. iranica* diğer üç örnekle karşılaştırıldığında yüksek inhibitör aktivitesine sahiplerdir. Polifenoller gibi çeşitli fitokimyasallar antioksidan olarak davranmaktadır. Ayrıca hücreleri, vücutta doku hasarına sebep olan reaktif atomları ve serbest radikallerin sebep olduğu vücut kimyasallarına karşı hasarlardan korurlar. Örneğin; Density Lipo-protein (LDL) kolesterol oksitlendiği zaman arterlere yapışır ve koroner kalp hastalığına neden olmaktadır ve ayrıca kanser büyümesinde ihtiyaç olan enzim aksiyonunu durdurur ve kanserin büyümesi için gerekli olan maddeleri devre dışı bırakmaktadır. Polifenoller, kanseri önleyen epigallocatechin-3-gallate ile ilişkilidir. Polifenoller model sistemlerinde in vitro olarak non-hem demir ile bağlıdır ve bu durum muhtemelen emilimini azaltmaktadır. *R. bulgarica* diğer dört ekstraktla karşılaştırıldığında, polifenolik içeriği nedeni ile antioksidan kapasitesine sahiptir (Kampa ve ark., 2007).

Bu çalışma, geleneksel ilaçların paha biçilemez doğal eczacılık kaynağı olduğu görüşünü desteklemektedir. Çalışmamızın, üç bitki türünde anlamlı derecede antioksidan aktivitesi sergilediği gösterilmiştir. *R. bulgarica* ve *R. iranica*, sırasıyla Alzheimer ve Depresyon hastalığında önemli olan AchE ve MAO enzimleri için iyi bir inhibitör olduğu bulunmuştur. Beş örneğin ekstraktlarının tümünde antioksidan aktivasyonuna bağlı konsantrasyonlar gösterilmiştir. Ayrıca, bu bitki özlerinin aktif prensiplerinin taranması, çalışma şekli ve klinik deneylerle potansiyel antioksidanlar olarak etkinliğinin değerlendirilmesi de önerilmektedir.

Bizim ekstraktlarımızın, konsantrasyonlara bağlı şekilde AchE ve MAO enzimlerinin inhibisyonu gerçekleştirilerek nörodejeneratif hastalıkların potansiyel bir tedavisi olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca ekstraktta bulunan fitokimyasallar nedeniyle radikal uzaklaştırma kabiliyeti sergilemiştir. Bu nedenle, oksidatif stres ile ilişkili olan nörodejeneratif hastalıkların riskinin azaltılmasında yardımcı olabilir (Maya Mathew ve Sarada Subramanian 2014).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Birincil tarama süreci ile birlikte; Isparta, Türkiye’den gelen *Damascena*’nın AChE inhibitör özellikleri ve antioksidan özelliği incelenmiştir. Bu çalışma ile birlikte, çalışmada kullanılan tüm yaprak örneklerinin AChE ve MAO için anlamlı ölçüde inhibitör potansiyelinin ve serbest radikal uzaklaştırma aktivitesinin olduğu gösterilmiştir. Bu raporda aralarında seçilen bitkilerden olan *R. Bulgarica*’nın, AChE ve MAO üzerinde inhibitör özelliği ile en çok aktif bileşenlere sahip olduğu görülmektedir.

Daha ileri araştırmalar için, in vitro ve in vivo çalışmalar da dahil olmak üzere bu bitkisel özlerin kimyasal bileşimi ve etki mekanizması hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

7. REFERANSLAR

Alejandro Gella* and Nuria Durany, Oxidative stress in Alzheimer disease, 2009 Landes Bioscience, 3:1, 88-93

Ak, 2006. Curcumin'in Antioksidan ve Antiradikal Özelliklerinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 1-16.

Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları Konya38, sağlık dizi 1995;(5)

Alharby H., Abdelati T., Rizk M., Youssef E., Moghazy K., Gaber N. , Yafei S., (2019). Association of lipid peroxidation and interleukin-6 with carotid atherosclerosis in type 2 diabetes. Cardiovascular Endocrinology & Metabolism, 8, 73-76.

Amato Antonella, Simona Terzo and Flavia Mulè. Natural COMpounds as Beneficial Antioxidant Agents in Neurodegenerative Disorders: A Focus on Alzheimer's Disease. Antioxidants (Basel). 2019 Nov 30;8(12). pii: E608. doi: 10.3390/antiox8120608.

Anson R. M., Bohr V. A., (2000). Mitochondria, oxidative DNA damage, and aging. Journal of the American Aging Association, 23, 199.

Aruoma O. I., Cuppett S. L., (1997). Antioxidant methodology: in vivo and in vitro concepts, The American Oil Chemists Society

Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease, J American Oil Chem. 1998;75(2):199-212.

Ballard C. G., Greig N. H., Guillozet-Bongaarts A. L., Enz A., Darvesh S., (2005). Cholinesterases: roles in the brain during health and disease. Current Alzheimer Research, 2, 307-318.

Baykal A. Serbest radikaller. Seminer notları III. 1998-1999 Öğretim Yılı Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yay. Kars. 1998

Baykal, Y., Gök, F., Erikçi, S., 2002. Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. Sendrom Aylık Tıp Dergisi, 14 (1):94-100.

Boland B., Yu W. H., Corti O., Mollereau B., Henriques A., Bezard E., Pastores G. M., Rubinsztein D. C., Nixon R. A., Duchon M. R., (2018). Promoting the clearance of neurotoxic proteins in neurodegenerative disorders of ageing. *Nature reviews Drug discovery*, 17, 660-688.

Borges M. K., Lopes T. N., Biella M. M., Siqueira A., Mauer S. , Aprahamian I., (2018). Early-Onset Alzheimer Disease (EOAD) with aphasia: a case report. *Frontiers in psychiatry*, 9, 469.

Botterweck, A.A.M., Verhagen, H., Goldbohm, R.A., Kleinjans, J., Avan den Brandt, P., 2000, Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study, *Food and Chemical Toxicology*, 38 (7), 599-605.

Burton GW. Antioxidant action of carotenoids. *Journal of Nutrition*. 1989; 119(1): 109-11

Cai Q., Jeong Y. Y., (2020). Mitophagy in Alzheimer's Disease and Other Age-Related Neurodegenerative Diseases. *Cells*, 9, 150.

Ceballos L, Triver JM, Nicole A: Age corralated modifications of cupper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activies in human erythrocytes. *J. Clin. Chem.* 36: 66-70,1992

Copeland R.A., Harpel M.R and Tummino P.J., Targeting enzyme inhibits in drug discovery. *Expert Opin. Targets* 11: 967 – 978, 2007.

Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T, 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve Antioksidan savunma, *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4, 92-95.

Çıkrıkçıoğlu M, Duran E. Koroner dolaşım, iskemi ve reperfüzyon. *İnsizyon*, 2001; 4(4): 119- 122.

Çolak E. Karbon tetrakloridin (CCL4) indüklediği karaciğer hasarı ve oksidatif stres üzerine *Cynara scolymus L.* yaprağı ekstraktının etkileri [Yüksek Lisans Tezi 127 s]. Eskişehir: ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2011.

Demir N., Yildiz O., Alpaslan M., Hayaloglu A., (2014). Evaluation of volatiles, phenolic COMpounds and antioxidant activities of rose hip (*Rosa L.*) fruits in Turkey. *Lwt-food science and technology*, 57, 126-133.

Ellman, George L., Courtney, K. Diane., Andres , Valentino., Featherstone M. Robert., A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity (1961). *Biochemical Pharmacology Volume 7*, 88-90

Ergin S. Ö., (2019). Nar Meyvesi (*Punica granatum L.*) ile Farklı Nar Ürünlerinin Antioksidan Özellikleri. *Akademik Gıda*, 17, 243-251.

Everette, J. D.; Bryant, Q. M.; Green, A. M.; Abbey, Y. A.; Wangila, G. W.; Walker, R. B. (28 Temmuz 2010). "Thorough Study of Reactivity of Various COMpound Classes toward the Folin–Ciocalteu Reagent". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58 (14). ss.8139–8144. doi:10.1021/jf1005935. PMID 20583841

Ewa Niedzielska, Irena Smaga,1 Maciej Gawlik, Andrzej Moniczewski, Piotr Stankowicz, Joanna Pera, and Małgorzata Filipcorresponding, Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases, *Mol Neurobiol*. 2016; 53(6): 4094–4125.

Francis A., Baynosa R., (2017). Ischaemia-reperfusion injury and hyperbaric oxygen pathways: a review of cellular mechanisms. *Diving and hyperbaric medicine*, 47, 110-117.

Fridovich, I., 1976. Biological effects of superoxide radical. *Archives of biochemistry and Biophysics*, 247, 1-11.)

Gsell W, Conrad R, Hickethier M, Sofic E, Frölich L, Wichart I, et al. Decreased catalase activity but unchanged superoxide dismutase activity in brains of patients with dementia of Alzheimer type. *J Neurochem* 1995; 64:1216-23

Halliwell B, Gutteridge JM: Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet* 1:1396-7, 1984

Halliwell B, Gutteridge JMC, Arnoma OL, The deoxyribose method: A simple test tube assay for the determination of rate constant for reaction of hydroxyl radical, *Anal Biochem*, 165, 1987, 215-219.

Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free Radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1992; 119(6): 598-620.)

Halliwell B., (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free radical research*, 31, 261-272.

Haruhiko Akiyama, Steven Barger, Scott Barnum, Bonnie Bradt, Joachim Bauer, Greg M. Cole, Neil R. Cooper, Piet Eikelenboom, Mark Emmerling, Berndt L. Fiebich, Caleb E. Finch, Sally Frautschy, W.S.T.

Han D., Dong X., Zheng D., Nao J., (2019). MiR-124 and the underlying therapeutic promise of neurodegenerative disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 10.

Hardy J. , Selkoe D. J., (2002). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297, 353-356.

Harraan D., (1955). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry.

Jack Jr C. R., Knopman D. S., Jagust W. J., Shaw L. M., Aisen P. S., Weiner M. W., Petersen R. C., Trojanowski J. Q., (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *The Lancet Neurology*, 9, 119-128.

Jazayeri Seyed Behzad, Amanlou Arash, Ghanadian Naghmeh, Pasalar Parvin, Amanloucorresponding Massoud. A preliminary investigation of anticholinesterase activity of some Iranian medicinal plants COMmonly used in traditional medicine *Daruv Journal of Pharmacological science*.22(1); 2014 PMC3896674

Jomova, K., Valko, M., 2013, Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 70, 102-110.

Kampa M, Nifli A, Notas G, Castanas E (2007) Polyphenols and cancer cell growth. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 159:79-113

Kasnak, C., Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Türk Tarım*, 3(5), 226-234.

Kehrer J. P., Klotz L.-O., (2015). Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for health. *Critical reviews in toxicology*, 45, 765-798.

Khan Q. U., Zaffar S., Rehan A., Rashid R. R., Ashraf H., Hafeez F., (2020). Relationship of Major Depression with Body Mass Index and Salivary Cortisol. *Cureus*, 12.

Kim Min-Soo, Lee Dong Young, Lee Jun, Kim Hyun Woo, Sang Hyun Sung, Jung-Soo Han and Won Kyung Jeon. Terminalia chebula extract prevents scopolamine-induced amnesia via cholinergic modulation and anti-oxidative effects in mice. *BMC COMplement Altern Med*. 2018, 2;18(1):136. doi: 10.1186/s12906-018-2212-y.

Khatoon S., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., (1995). Guanosine Triphosphate Binding to β -Subunit of Tubulin in Alzheimer's Disease Brain: Role of Microtubule-Associated Protein τ . *Journal of neurochemistry*, 64, 777-787.

Koca N., Karadeniz F., (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 16, 32-37.

Kurutas EB, Güler FD, Kılınç M. Serbest radikaller. *Arçiv*. 2004; 13:120-32.

Kontoghiorghes G. J., Kontoghiorghe C. N., (2019). Prospects for the introduction of targeted antioxidant drugs for the prevention and treatment of diseases related to free radical pathology. *Expert opinion on investigational drugs*, 28, 593-603.

Lange C., Storkebaum E., De Almodóvar C. R., Dewerchin M., Carmeliet P., (2016). Vascular endothelial growth factor: a neurovascular target in neurological diseases. *Nature Reviews Neurology*, 12, 439.

Lim J., Bang Y., Choi H. J., (2018). Abnormal hippocampal neurogenesis in Parkinson's disease: relevance to a new therapeutic target for depression with Parkinson's disease. *Archives of pharmacal research*, 41, 943-954.

Lin M. T., Beal M. F., (2006). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*, 443, 787-795.

Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L.; Randall, R. J. (1951). "Protein measurement with the Folin phenol reagent" (PDF). *Journal of Biological Chemistry*. 193 (1). ss. 265–75. PMID 14907713.

Mallajosyula J. K., Kaur D., Chinta S. J., Rajagopalan S., Rane A., Nicholls D. G., Di Monte D. A., Macarthur H., Andersen J. K., (2008). MAO-B elevation in mouse brain astrocytes results in Parkinson's pathology. *PloS one*, 3.

Mathew M., Subramanian S., (2014a). In vitro evaluation of anti-Alzheimer effects of dry ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extract.

Mathew M., Subramanian S., (2014b). In vitro screening for anti-cholinesterase and antioxidant activity of methanolic extracts of ayurvedic medicinal plants used for cognitive disorders. *PloS one*, 9

Mao N., Liu Y., Chen K., Yao L., Wu X., (2018). COMbinations of multiple neuroimaging markers using logistic regression for auxiliary diagnosis of Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurodegenerative Diseases*, 18, 91-106.

Mimica N, Presecki P, Side effects of approved antidementives, *Psychiatr Danub*. 2009 ;21(1):108-13.

Mizutani T, Amano N, Sasaki H, Morimatsu Y, Mori H, Yoshimura M, Yamanouchi H, Hayakawa K, Shimada H, Senile dementia of Alzheimer type characterized by laminar neuronal loss exclusively in the hippocampus, parahippocampus and medial occipitotemporal cortex, *Acta Neuropathol*. 1990;80(6):575-80.

Mrudula Giri, Vrushabendra Swamy BM, KN Jayaveera, Evaluation of Nootropic Activity of leaves of *Borago officinalis*, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical science*, 2012 Volume 3 Issue 3 Page No.405

Moure, A., Cruz J.M., Franco, J.D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J., Parajo, J.C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 172, 145-171.

Mukhopadhyay, M. 2000. Naturel extracts using supercritical carbon dioxide, CRC Press Murray MT., 1996. *Encyclopedia of Nutritional Supplements*. California, Prima Publishing, 1, 320-331.

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harpers Biochemistry. 2nd edition. Typo. 1991:342–354.

Najla O. Zarmouh¹, Samia S. Messeha¹, Faisal M. Elshami¹, and Karam F. A. Soliman, Natural Products Screening for the Identification of Selective Monoamine Oxidase-B Inhibitors, European J Med Plants. 2016 May; 15(1): doi:10.9734/EJMP/2016/26453

Nijveldt R.J, Noad E, Hoarn D.E.C, Boelens P.G, Norren K, Leeuwen P.A.M. Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. Am J Clin Nutr. 2001; 74:418-425.

Ojo O. A., Ojo A. B., Ajiboye B. O., Oyinloye B. E., Akinyemi A. J., Okesola M. A., Boligon A. A., de Campos M. M. A., (2018). Chromatographic fingerprint analysis, antioxidant properties, and inhibition of cholinergic enzymes (acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase) of phenolic extracts from *Irvingia gabonensis* (Aubry-LeCOMte ex O'Rorke) Baill bark. Journal of basic and clinical physiology and pharmacology, 29, 217-224

Oyaizu M. Studies on product of browning reaction prepared from glucoseamine. Japan J Nutr 1986; 44:307-315

Özçelik ve ark., Isparta Yağgülü (*Rosa x damascena* Mill.) Yağı ve Çiçeklerinin Strese Bağlı Nörolojik ve Psikiyatrik Hastalıklara Etkileri Demirel Üniversitesi, Fen-Edb. Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 32200, ISPARTA 2 S. 2011

Özçelik, Korkmaz 2011 IN VITRO PRORAGATION OF DAMASK ROSE (*Rosa dam* SDU Journal of Science (E-Journal), 2015, 10 (2):1-26

Palabıyık AA. Experimental Tiroid Disfonksiyonlu Rat Karaciğerinde Total Oksidan ve Total Antioksidan Status Parametreleri Üzerine Egzersizin Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum: Atatürk Ün. Sağlık Bil. Enst. Tıbbi Biyokimya ABD, 2014.

Parameshwaran K., Irwin M. H., Steliou K. , Pinkert C. A., (2010). D-galactose effectiveness in modeling aging and therapeutic antioxidant treatment in mice. Rejuvenation research, 13, 729-735.

Prior R. L., Cao G., (1999). In vivo total antioxidant capacity: COMparison of different analytical methods¹. *Free Radical Biology and Medicine*, 27, 1173-1181.

Patil P. S., Tatke P. A., Gabhe S. Y., (2015). In vitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Extracts of Damascena Flower Petals. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 589-601.

Pires T. C., Dias M. I., Barros L., Calhelha R. C., Alves M. J., Oliveira M. B. P., Santos-Buelga C., Ferreira I. C., (2018). Edible flowers as sources of phenolic COMpounds with bioactive potential. *Food Research International*, 105, 580-588

Roberts R. A., Smith R. A., Safe S., Szabo C., Tjalkens R. B., Robertson F. M., (2010). Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology*, 276, 85-94.

Rosenberry T. L., (1976). *Acetylcholinesterase. The enzymes of biological membranes*. Springer.

Rubio-Perez J. M., Albaladejo M. D., Zafrilla P., Vidal-Guevara M. L. , Morillas-Ruiz J. M., (2016). Effects of an antioxidant beverage on biomarkers of oxidative stress in Alzheimer's patients. *European journal of nutrition*, 55, 2105-2116.

Sagar K, Invitro inhibition of MAO-A and PLA Enzymes and antioxidant activity of important mesdicinal plants extracts (2014). *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*. ISSN2250-3137 vol.3, No. 4

Sancheti. S, Sancheti. S, B.-H. Um ,. Seo. S.-Y. 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-glucose: A cholinesterase inhibitor from Terminalia chebula. *South African Journal of Botany* 76 (2010) 285–288

Sanità, Viale, Regina Elena, Cyclooxygenase-2 (COX-2) in inflammatory and degenerative brain diseases, *J Neuropathol Exp Neurol*. 2004 Sep;63(9):901-10

Santos-Neto L. L. d., de Vilhena Toledo M. A., Medeiros-Souza P., de Souza G. A., (2006). The use of herbal medicine in Alzheimer's disease—a systematic review. *Evidence-based COMplementary and alternative medicine*, 3, 441-445.

Scheff S. W., Price D. A., Schmitt F. A., Mufson E. J., (2006). Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiology of aging*, 27, 1372-1384.

Selkoe D. J., Schenk D., (2003). Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 43, 545-584.

Shahidi, F. 2000. Antioxidants in Food and Food Antioxidants, *Nahrung*, 44,158-163.

Sheikh A. Saeed, Muhammad A. Mesaik, J. Quadri, S. Tasneem, A. Motiwala, U. Khalid, Syed U. Ali, Faisal Hussain and Muhammad I. Choudhary, Interactions of Cyclooxygenase Inhibitors with Reactive Oxygen Species, *Journal of Pharmacology and Toxicology*, Volume 1 (2): 115-125, 2006

Sharma P., Tripathi A., Tripathi P. N., Singh S. S., Singh S. P. , Shrivastava S. K., (2019). Novel Molecular Hybrids of N-Benzylpiperidine and 1, 3, 4-Oxadiazole as Multitargeted Therapeutics to Treat Alzheimer's Disease. *ACS chemical neuroscience*, 10, 4361-4384.

Shahwar D., Rehman S. U., Raza M. A., (2010). Acetyl cholinesterase inhibition potential and antioxidant activities of ferulic acid isolated from *Impatiens bicolor* Linn. *J. Med. Plant Res*, 4, 260-266.

Singh M., Kaur M., Kukreja H., Chugh R., Silakari O., Singh D., (2013). Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: from nerve toxins to neuroprotection. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 70, 165-188.

Smith EL, Hill RL, Lehmal R. *Principle of biochemistry*. 7nd-McBraw Hill edition USA. 1983: 382- 383.

Surai, P.F., Ionov, I.A., Kuchmistova, E., Noble R.C. and Speake, B.K., 1998. The relationship between the levels of α -tocopherol and carotenoids in the maternal feed, yolk and neonatal tissues: COMparision the chicken, turkey, duck and goose. *J. Sci. Food Agric.*, 76, 593-598.

Taviano M. F., Marino A., Trovato A., Bellinghieri V., La Barbera T. M., Güvenç A., Hürkul M. M., Pasquale R. D., Miceli N., (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of branches extracts of five *Juniperus* species from Turkey. *Pharmaceutical biology*, 49, 1014-1022.

Temür N. (2006). Çam, kavak, söğüt ve armut ağaçları üzerinde yetişen ökse otu (*Viscum album* L.) bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Tadmouri G.O, Başak A.N. B-thalassemia in Turkey; A review of the clinical epidemiological molecular and evolutionary aspects. *Hemoglobin*. 2001;25(2):227-239.

Terry R. D., (1963). The fine structure of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease.

Thompson P., Wright D., Counsell C. E., Zajicek J., (2012). Statistical analysis, trial design and duration in Alzheimer's disease clinical trials: a review. *International psychogeriatrics*, 24, 689-697.

Uriarte-Pueyo I, I Calvo M., (2011). Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors. *Current medicinal chemistry*, 18, 5289-5302.

Uğuzlar H. (2009). Antalya'da yetişen *Areceae* arum *dioscorides* tohumlarının antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde tayini. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Villaño D, Fernández-Pachón MS, Moyá ML, Troncoso AM, García-Parrilla MC, Radical scavenging ability of polyphenolic COMpounds towards DPPH free radical, *Talanta*, 15;71(1), 2007, 230-5.

Wang C., Shen Z., Yu J., Yang J., Meng F., Jiang X., Zhu C., (2019). Protective effects of enzyme degradation extract from *Porphyra yezoensis* against oxidative stress and brain injury in D-galactose-induced aging mice. *British Journal of Nutrition*, 1-29.

Xie J., Liang R., Wang Y., Huang J., Cao X., Niu B., (2019). Progress in Target Drug Molecules for Alzheimer's Disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry*.

Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M. 2001. Satbilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 103: 752–767.

Yarıktaş, M., Döner, F., Doğru, H., Aynalı, G., Yönden, Z., Delibaş, N., 2003. Başboyun malign tümörlerinde malondialdehit düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, Isparta, 2003:10-(4) / 65 – 67.

Zar, J.H. (1984) Biostatistical Analysis. 2nd Edition, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, 718 p.

Zerin M, Karakılçık AZ, Nazlıgül Y, Bitiren M, Özardalı HĖ, Musa D. Protective role of Nigella sativa oil on experimental liver injury in rats. TK J Med Sci. 2004;24(6):598602.

Zhang X. D., Liu X. Q., Kim Y. H., Whang W. K., (2014). Chemical constituents and their acetyl cholinesterase inhibitory and antioxidant activities from leaves of *Acanthopanax henryi*: potential COMplementary source against Alzheimer's disease. Archives of pharmacal research, 37, 606-616.

Zhao H., Li J., Zhang J., Wang X., Hao L., Jia L., (2017). Purification, in vitro antioxidant and in vivo anti-aging activities of exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea*. International journal of biological macromolecules, 102, 351-357.

Ek1. Özgeçmiş

Adı Soyadı : Oya TÜRKMEN
Doğum Yeri ve Tarihi : ANKARA 02\09\1974
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 05436640389
E-Posta : trkmnoya@gmail.com

Eğitim Durumu : Üniversite
Lise : Özel Tercüman Lisesi
Lisans : İstanbul Fen fakültesi biyoloji
Yüksek Lisans : Üsküdar Üniversitesi

İş Tecrübesi : Biyoloji öğretmenliği

Ek2. Etik Kurul Onayı

T.C.

Üsküdar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ÜÜ-HADYEK)

Sayı: 2020-01



Konu: ÜÜ-HADYEK

37. kurul toplantısı

17.01.2020

Sayın Oya Türkmen

“Nörodejeneratif Hastalıklarda Rosa Domascena’ dan Elde Edilen Fitokimyasallar Üzerine Karşılaştırmalı İn Vitro Çalışmalar” adlı projeniz üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Prof. Dr. İsmail Tayfun UZBAY
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

Prof. Dr. İsmail Tayfun UZBAY
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı
MDBF / Dekan / Moleküler Biyoloji ve Genetik -
Bölüm Başkanı

Prof. Dr. Muhsin KONUK
Rektör Yardımcısı / MDBF / Moleküler Biyoloji ve
Genetik (İngilizce) - Bölüm Başkanı / Fen Bilimleri
Enstitüsü Müdürü / BİYOTEKMER Müdürü /
PARGE Koordinatörü

Burcu ÇEVRELİ
Veteriner Hekim
Nöropsikofarmakoloji Uygulama ve Araştırma
Merkezi

Doç. Dr. Mesut KARAHAN
SHMYO / Biyomedikal Cihaz Teknolojisi

Dr. Öğr. Üyesi Emel
SERDAROĞLU KAŞIKÇI
Biyokimya Uzmanı
MDBF / Moleküler Biyoloji ve Genetik

Dr. Öğr. Üyesi Fadime CANBOLAT
Uzman Farmakolog
SHMYO / Gıda Teknolojisi

Yelda İBADI
Araştırma Görevlisi
İTBF / Psikoloji (İngilizce)

Mustafa ALPER
Sivil Toplum Örgütü Üyesi

Akif GÜZTOKLUSU
Sivil Üye