

Tropikal Meyve Camu-Camu (*Myrciaria dubia*) Tohumlarının Anti-İnflamatuvar Etkileri

Kazunaga YAZAWA, Katsumi SUGA, Atsushi HONMA, Miyuki SHIROSAKI ve Tomoyuki KOYAMA

1. Nutrasötikler ve Fonksiyonel Gıdalar Bilim Laboratuvarı, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Enstitüsü, Tokyo Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Üniversitesi, Konan, Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japonya

2. Japonya Camu Camu Derneği, 4-25-7 Kamata, Ohta-ku, Tokyo 144-0052, Japonya (8 Temmuz 2010)

ÖZET : Tropikal meyve camu-camu tohumlarının metanolik ekstresi, karragenan kaynaklı pençe ödemi endüklenmiş model farelerde anti-enflamatuvar aktivitesi açısından tarandı. Ekstrakt, oral uygulama yoluyla farelerde ödem oluşumunu ve nitrik oksidin makrofaj türevli RAW 264.7 hücrelerinden in vitro salınımını önemli ölçüde bastırdı. Spektroskopik analizlerin sonuçlarına dayanarak, aktif bileşik, in vivo biyo-sayım güdümlü fraksiyonlama ile 3--hidroksi-lup-20 (29) -en-28-oik asit, anti-enflamatuvar triterpenoid olarak bilinen betulinik asit olarak tanımlandı. Bu bulgular, camu-camu çekirdeği ekstresinin, bağışıklık ile ilgili hastalıkların önlenmesi için bir betulinik asit kaynağı ve fonksiyonel bir gıda maddesi olarak potansiyel olarak faydalı bir materyal olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: camu-camu meyvesi tohumu *Myrciaria dubia*, farelerde anti-enflamatuvar etkiler, nitrik oksit salınımında baskılayıcı etki, betulinik asit

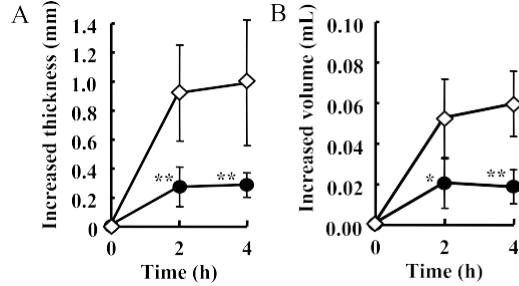
Camu-camu, Peru'ya özgü tropikal bir meyvedir ve zengin bir C vitamini (1, 2) ve antosiyanin (3) kaynağı olarak bilinir. Sıkılmış meyve özütü, Japonya'daki birçok tatlı ve içecek türünde de kullanılır. Bununla birlikte, camu-camu'nun diğer kısımları henüz kullanılmamıştır. Diğer meyvelerde, tohumlar çoğunlukla biyolojik aktiviteye sahip bileşenler içerir; örneğin, şeftalideki amigdalin (4, 5), nardaki polifenoller (6), üzümdeki (7) prosiyanidinler ve çarkıfelek meyvesindeki (8) antifungal proteinler tohum özütlerinden biyoaktif bileşikler olarak bildirilmiştir. Camu-camu'nun olası kullanımlarını belirlemeye yönelik çalışmalarımızda, karragenan kaynaklı ödem endüklenmiş model farelerde ve LPS ile muamele edilmiş RAW264.7 hücrelerinde, tohumun metanol ekstraktında anti-enflamatuvar aktivite tespit ettik. Camu-camu tohumunun ham ekstraktından in vivo biyoaktif güdümlü fraksiyonlamadan sonra, ana aktif bileşen saflaştırıldı ve spektroskopik analiz ile betulinik asit olarak tanımlandı.

MALZEMELER VE YÖNTEMLER

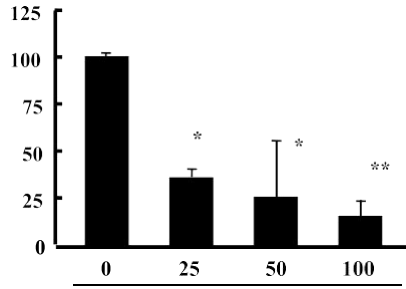
Örnek hazırlama: Taze camu-camu tohumları (92 g), 3 gün boyunca oda sıcaklığında 10 hacim MeOH ile özümlendi. Filtrasyon ve ekstraktın buharlaştırılması ile elde edilen soluk yeşil yağ (7.0 g), camu-camu tohumlarının ham ekstraktı olarak in vivo ve in vitro deneylerde kullanılmıştır. Hayvanlar: Japan SLC, Inc.'den (Hamamatsu, Japonya) erkek Std: ddY fareleri kullanıldı. 1 hafta hayvanları çevrelerine alıştırmak için oda, 12 saat aydınlık / karanlık döngüsünde $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de ve $\% 50 \pm 10$ nemde muhafaza edildi ve hayvanlar suya ve standart laboratuvar yemi, Labo MR stoğuna (Nosan, Japonya) serbest erişim sağladı. Hayvan çalışmaları, Japonya Çevre Bakanlığının 88 No'lu Bildirimi başlıklı 2006 kılavuzuna göre yapılmıştır.

Karragenan kaynaklı pençe ödemi endüklenmiş model fareler. Test, 9 haftalık farelerde Winter et al. (9) metodlarında küçük değişiklikler yapılarak yürütüldü. Numune çözeltisinin alımından 30 dakika sonra (1.0 mL / fare), fareler akut enflamasyonu uyarmak için sağ arka pençe içine deri altı enjeksiyonu ile 0.05 mL% 1 karragenan (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japonya) ile muamele edildi. Örnekler damıtılmış su veya% 10 DMSO içinde çözülür veya süspansiyona alındı. Kontrol grubuna taşıyıcı (distile su) verildi ve pozitif kontrol grubuna deksametazon (1.0 mg / kg, biyokimyasal kalite: % 98'den az olmayan saflık, Wako) verildi. İşlemden 2 ve 4 saat sonra, pençe ödeminin derecesi bir kalınlık ölçer (Peacock, Ozaki MFG. Co., Ltd., Tokyo, Japonya) ve sabit bir kaptan taşınan su hacmi ile değerlendirildi (ortak plastik tüp).

LPS kaynaklı inflamatuvar mediatörlerin in vitro salınımı. Bir fare makrofaj hücre çizgisi, RAW 264.7 (Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd., Osaka, Japonya), enflamatuvar mediatörlerin salınımındaki in vitro deneyler için kullanılmıştır (10). Hücreler% 5 CO₂ atmosferinde 37 ° C'de glutamin (1 mM) ve% 10 fetal sıgır serumu (FBS) ile desteklenmiş DMEM'de tutuldu.



Şekil 1. Oral CCS (2.000 mg / kg, kapalı daireler) ile ön muamelenin, farelerde% 1 karragenan (0.05 mL / pençe) tarafından indüklenen pençe ödemi üzerindeki etkileri. Ödem, indüksiyon sonrası pençenin hem kalınlığında (A) hem de hacmindeki (B) artış açısından değerlendirildi. Kontrol fareleri, damıtılmış suyla (açık elmaslar) ön işleme tabi tutuldu. Veriler, grup başına 6 hayvan için ortalama $\pm$ SE olarak ifade edildi. * p < 0.05 ve ** p < 0.01 kontrole kıyasla.



Şekil 2. CCS'nin RAW 264.7 hücrelerinde LPS kaynaklı NO üretimi üzerindeki etkileri. 24 saat boyunca LPS (500 ng / mL) ile uyarıldıktan sonra kültür süpernatantları izole edildi ve CCS'siz kontrolün bir% 'si olarak ifade edilen nitrat seviyeleri için analiz edildi. Değerler, üç ayrı deneyden elde edilen çift tespitlerin $\pm$ SE'sidir. * p < 0.05 ve ** p < 0.01 kontrole kıyasla.

Numuneler MeOH içinde eritildi ve 96 oyuklu bir plaka üzerinde her biri 100 μ L içinde ortamla seyreltilti ve sonra hücre çözeltisi (son 106 hücre / oyuk) eklendi. Son olarak, hücreler LPS çözeltisi (son 500 ng / mL) ile uyarıldı ve 24 saat süreyle inkübe edildi. Numunelerin varlığında veya yokluğunda uyarıldıktan sonra, kültür süpernatantına salınan araçlar aşağıda tarif edildiği gibi değerlendirildi.

Hücre kültürlerinde NO sentezi, Griess reaktifi ile işleminden sonra bir mikropilaka tahlil metodu ile ölçüldü. Diğer enflamatuvar mediatörler, TNF- α ve IL-1 α için Cosmo Bio Co. Aynı deneyde, NO seviyesindeki değişimin her deneydeki hücre sayısına bağlı olmadığını doğrulamak için hücre canlılığı MTT reaktifi ile kontrol edildi.

Biyoassay kılavuzlu fraksiyonlama ve yapı tayini. CCS'nin aktif bileşeni, in vitro NO salımına karşı inhibe edici aktiviteye dayanan bölme ve kolon kromatografisi teknikleriyle parçalandı. Saflaştırılmış bileşiğin yapısı daha sonra NMR deneyleri ile spektral verilere dayanılarak belirlendi. CDC13'teki NMR spektrumları, bir Bruker AV-400 spektrometresinde (Bruker, Tokyo, Japonya) elde edildi. FAB-MS, bir JMS-700'de (JEOL, Tokyo, Japonya) kaydedildi.

İstatistiksel analiz. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve bunu takiben çoklu karşılaştırmalar için post-hoc sonrası Tukey-Kramer testi, gruplar arasındaki verilerdeki farklılıkların önemini

belirlemek için yapıldı. p değerinin 0.05'ten küçük olması kayda değer kabul edildi. Değerler ortalama $\pm$ SE olarak ifade edilir.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

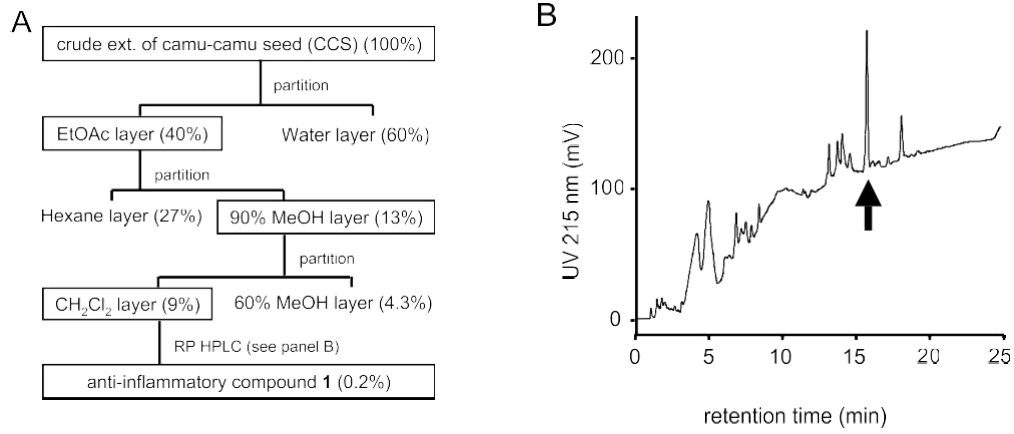
Camu - camu tohumlarının (CCS) ham ekstraktının anti-enflamatuar etkileri

Fare pençeleri, karragenan enjeksiyonundan sonra ödemli hale geldi ve ödem, kontrol grubunda 4 saatte zirvesine ulaştı. Pençe ödemindeki artış, deksametazonun (1.0 mg / kg) oral tedavisi ile % 0.1'den daha az oranda mükemmel bir şekilde bastırıldı. Öte yandan, CCS'li farelerin ön tedavisi (2.000 mg / kg), kanserli tedaviden 2 ve 4 saat sonra hem büyüklük (Şekil 1A) hem de hacim (Şekil 1B) açısından ödem oluşumunu önemli ölçüde azaltmıştır. CCS'nin inhibe edici etkileri dört bağımsız deneyde gösterilmiştir. Ortalama önleyici oran, karragenan ile muamele edilmiş farelerde 2 saatte pençe kalınlığının kontrol değerine karşı, 2,000 mg / kg'da % 35,7 $\pm$ 6,7, 1.000 mg / kg'da % 63,8 $\pm$ 7,3 ve 500 mg / kg'da % 85,1 $\pm$ 10,3 olarak hesaplandı. Karragenan, kemirgenlerde tamamen lokalize bir enflamatuar yanıtla ödem oluşturduğu gösterilmiştir (11). Sonuçlarımız, CCS ile oral ön tedavinin, farelerde lokalize enflamasyonun inhibe edilmesinin yol açtığı pençe ödem oluşumunu baskılayabileceğini ortaya koydu.

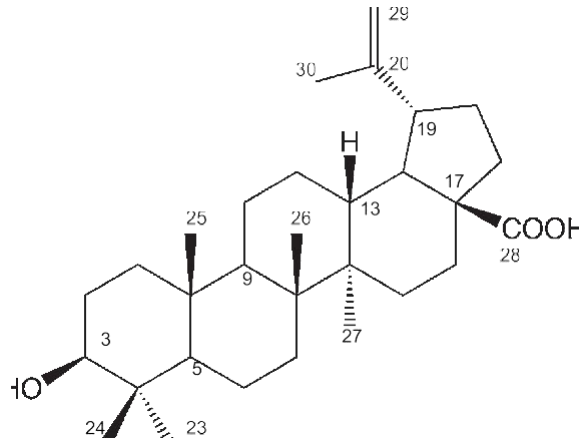
CCS'nin nitrik oksit (NO) sentezi üzerindeki etkileri RAW264.7 hücrelerinde incelenmiştir. LPS ile uyarılmış hücrelerin, LPS içermeyen normal hücrelere kıyasla önemli ölçüde artmış NO seviyeleri gösterdiği halde, bu uyarma CCS varlığında doza bağlı bir şekilde inhibe edilmiştir (Şekil 2). CCS'nin IC50 değeri bu koşullar altında 6.4 ug / mL'dir. Öte yandan, aynı hücre konsantrasyonlarında MTT tahlili ile ölçülen CCS işleminden hücre canlılığı etkilenmedi (veriler gösterilmemiştir).

Bu in vivo ve in vitro sonuçlar, CCS'nin, karragenan ile tedavi edilmiş farelerde lokalize NO üretimini inhibe ederek pençe ödeminin oluşumunu bastırdığını göstermektedir. Bioassay güdümlü fraksiyonlama

İndeks olarak NO üretimine yönelik inhibitör aktiviteye dayanarak, CCS'deki ana bileşen Şekil 3A'da gösterildiği gibi ayrılmıştır. Ham özüt (CCS, 5.0 g), etil asetat ve su (her biri 500 ml olan 3 kez) arasında çözücü bölümüyle bölünmüştür. Etil asetat-çözünür fraksiyon (2.0 g) kurutulmuş ve heksan-çözünür ve % 60 MeOH-çözünür fraksiyonlar çözücü bölümüyle ayrılmıştır (her biri 200ml 3 defa) aktif bir fraksiyon vermek için (CH₂Cl₂-çözünür fraksiyon, 0.45 g). Daha sonra aktif fraksiyon, bir silika jel kolonu (60 g) üzerinde 20 mL fraksiyona ayrıldı ve bir ODS kolonu (20 x 250 mm, Develosil ODS HG-5, Nomura Chem. Indus, Nagoya, Japonya) 30 dakika boyunca % 40 ila % 98 sulu MeOH içeren bir gradyan ile elüt edilmiştir (akış hızı, 5 mL / dakika; tespit, UV 215 nm), bileşik 1'i (tutma süresi: 15.7 dakika) vermek üzere NO üretimine yönelik inhibitör aktivite ile.



Şekil 3. Camu-camu tohumunun (CCS) ham ekstraktından elde edilen anti-enflamatuar bileşiğin saflaştırma işlemleri (A) ve HPLC modeli (B). C: Parantez içindeki rakamlar ham ekstrakttan elde etme oranlarını (% 100) ifade eder. Çerçevelli fraksiyonlar farelerde anti-enflamatuar aktivite göstermiştir. B: Diklorometanda çözünen fraksiyon, ters fazlı bir kolonda Develosil ODS-HG-5 (20 x 250 mm) üzerinde bir gradyan gradyanı (% 40 MeOH-H₂O MeOH, 5.0 mL / dak) ile 15 dakika boyunca 215 nm tespit edilerek ayrıldı. bir HPLC sistemi kullanarak (JASCO, Tokyo, Japonya).



Şekil 4. Camu-camu tohumundan izole edilen betulinik asidin (1) kimyasal yapısı.

Bioassay güdümlü fraksiyonlama sonunda beyaz kristaller (1,10.5 mg, tohumların% 0.015'i, HPLC analizinde tek bir tepe gösterdi (Şekil 3B).

Aktif bileşenin tanımlanması

Bileşik 1, m / z 457 [M + H]⁺ da pozitif bir FABMS moleküler iyon zirvesi gösterdi ve ¹H (CDC13, 400 MHz) ve ¹³C NMR (CDC13, 100 MHz) spektroskopik verilerine dayanarak bir C₃₀H₄₈O₃ moleküler formülü tahmin edildi. .

Kapalı proton sinyalleri ve karbonların çokluğu için yapılan atamalar 2D NMR spektrumuna dayandırılmıştır. Bu spesifik veriler 1'i bir lupen tipi triterpen olarak destekledi.

Hidroksil grubunun C-3'teki nispi stereokimyasının, NOESY korelasyonları 24-Me / 25-Me, 23-Me / H-3, H-3 / H-5 ve H-5 / 'e dayalı bir beta pozisyonu olduğu tespit edildi. H-9 ve H₂a /

H3 (J = 11.2 Hz) ve H2b / H3 birleştirme sabitleri (J = 4.9 Hz). Bu nedenle 1, 3p-hidroksi-lup-20 (29) -en-28-oik asit, betulinik asit olarak tanımlandı (Şekil 4). Bu spektral veriler 1 için literatürde bildirilenlere eşittir (12-15). Lupin tipi triterpen, Ziziphus mauritiana bitkisinin kök kabuğunda melanom spesifik sitotoksik bir bileşik olarak bulundu (16). Ayrıca karragenan ile muamele edilmiş farelerde ve LPS ile muamele edilmiş RAW264.7 hücrelerinde (17, 18) anti-enflamatuar aktiviteleri ve InB fosforilasyonu üzerindeki inhibe edici etkisinden dolayı NF- κ B aktivasyonunun inhibisyonu ile gösterilen antitümör aktivitelerini gösterir. (16, 19). Deneyimizde 20 μ g / mL 1 bastırılmış TNF-a (kontrol için $1.260.0 \pm 215.0$ pg / mL) ve IL-1 β (kontrol için 150.5 ± 27.3 pg / mL) sırasıyla % 39.5 $\pm$ 7.2 ve % 48.4 $\pm$ 1.5 olarak bulundu. . Enflamatuar mediatörlerin salınımına ilişkin bu sonuçlar, betulinik asit ile ilgili önceki çalışmaların sonuçları ile uyumluydu (17, 20).

Betulinik asit Şili guava Ugni molinae yaprakları (15), geleneksel Çin otu Zizyphi spinosi semen (17) ve Koreks Acanthopanax Acanthopanax gracilistylus kök kabuğu (21) gibi çeşitli bitkilerde bulunmuştur. Bununla birlikte, bu, camu - camu dahil olmak üzere, Myrciaria'nın doğal bir bileşeni olarak betulinik asidin ilk raporudur. Farelerde oral yoldan verilen CCS'nin anti-enflamatuar etkisinin, Betinik asidin sonucu olması gerektiğinden, camu-camu tohumunun, anti-enflamatuar etkiye sahip bir gıda maddesi olması beklenir. Bu raporda, CCS'nin oral yoldan uygulanmasının farelerde (1.000 ve 2.000 mg / kg) antienflamatuar bir etkisi olduğunu gösterdik. Bununla birlikte, camu-camu'nun meyve özü özü (1,000 mg / mL) farelerde anti-enflamatuar aktiviteye sahip değildi (yayınlanmamış veriler). Bizim gözlemlerimiz betulinik asidin tohumlarda bulunduğunu ve meyve posalarında bulunmadığını ortaya koydu. Öte yandan, pulpa, türevlerinin in vitro aldoz redüktaza karşı inhibe edici aktiviteye sahip olduğu gösterilen ellagik asit içerir (22). 7 gün boyunca camu-camu suyu ile yapılan klinik bir çalışmada oksidatif ve inflammatuar parametrelerde iyileşme gözlemlendi (23). Bu etkilerin, zengin C vitamini ve / veya özü içerisindeki tanımlanamayan diğer bileşenlerin işlevi nedeniyle olduğu düşünülmüştür. Camu-camu meyvesi bir bitki olarak dikkat çekmiştir .Ancak, birçok işlevsel içeriği hakkında yeterli bilgi yoktur. Bu sağlık gıdalarının çeşitli biyolojik aktivitelerini daha iyi anlamak için, fonksiyonel içerikleri ile ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada, bir camu-camu tohumu ekstraktının biyo-deneyisel fraksiyonlama ve spektroskopik analiz ile betulinik asit içerdiğini ve ekstrenin oral yoldan uygulanmasının farelerde deneysel ödem oluşumunu bastırdığını bulduk. Bu sonuçlar, camu-camu tohumunun, önemli bir sağlık gıda kaynağı olabileceğini göstermektedir.

Teşekkürler

Camu-camu tohumunun ekstraksiyonunu destekledikleri için Shin Takei ve Takao Kino'ya (KINOS Inc., Tokyo, Japonya) teşekkür eder. Ayrıca, MS verilerini sağladıkları için Daisuke Uemura'ya (Nagoya Üniv., Japonya) teşekkür ediyorlar.

REFERANSLAR

- 1) Maatta KR, Kamal-Eldin A, Torronen AR. 2003. Diyet dizili ve elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometrik (MS) tespiti olan meyvelerdeki fenolik bileşiklerin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) analizi: Ribes türleri. J Agric Food Chem 51: 6736-6744.
- 2) Justi KC, Visentainer Genel Başkanlığı, Evelázio de Souza N, Matsushita M. 2000. Besin bileşimi ve depolanan camu-camu (Myrciaria dubia) posasında C vitamini stabilitesi. Arch Latinoam Nutr 50: 405-408.
- 3) Zanatta CF, Cuevas E, Bobbio FO, Winterhalter P, Mercadante AZ. 2005. Camu-camu (Myrciaria dubia) 'dan antosiyaninlerin HPLC-PDA, HPLC-MS ve NMR ile belirlenmesi. J Agric Food Chem 53: 9531-9535.

- 4) Fukuda T, Ito H, Mukainaka T, Tokuda H, Nishino H, Yoshida T. 2003. *Prunus persica* tohumlarından glikoitlerin anti-tümör destekleyici etkisi. *Biol Pharm Bull* 26: 271-227.
- 5) Hwang HJ, Lee HJ, Kim CJ, Shim I, Hahm DH. 2008. Amigdalın'ın lipopolisakkarit ile indüklenbilir TNF-a ve IL-1 β mRNA ekspresyonu ve karragenen ile indüklenen sıçan artriti üzerindeki inhibitör etkisi. *J Microbiol Biotechnol* 18: 1641-1647.
- 6) Singh RP, Chidamdara M, Jayaprakasha GK. 2002. *Nar* (*Punica granatum*) kabuğu ve tohum ekstraktlarının antioksidan aktivitesi üzerine in vitro modeller kullanılarak yapılan çalışmalar. *J Agric Food Chem* 50: 81-86.
- 7) Cerpa-Calderón FK, Kennedy JA. 2008. Kırmızı şarap fermantasyonunda deri bütünlüğü ve proantosyanidinlerin tohum ve ekstraksiyonu. *J Agric Food Chem* 56: 9006-9014.
- 8) Lam SK, Ng TB. 2009. Passiflin, tutku meyvesi tohumlarından yeni bir dimerik antifungal proteindir. *Fitomedik* 16: 172-180.
- 9) Kış CA, Risley EA, Nuss GW. 1962. Anti-enflamatuar ilaçlar için bir tahlil olarak sıçanın arka pençesinde karragenandan kaynaklanan ödem. *Proc Soc Exp Biol Med* 111: 544-547.
- 10) Schmidt HHHW, Warner TD, Nakane M, Forstermann U, Murad F. 1992. RAW 264.7 makrofajlarında azot oksit sentezinin düzenlenmesi ve subelüler yerleşimi. *Mol Pharmacol* 41: 615-624.
- 11) di Rosa M, Sorrentino L. 1968. İrlanda yosununun enflamatuar etkisinin mekanizması. *Eur J Pharmacol* 4: 340-342.
- 12) Reyes CP, Núñez MJ, Jiménez IA, Busseroller J, Alcaraz MJ, Bazzocchi IL. 2006. Maytenus türlerinden lupan triterpenoidlerin nitrik oksit ve prostaglandin E2 inhibitörü olarak aktivitesi. *Bioorg Med Chem* 14: 1573-1579.
- 13) Ma, Hano, Qiu F, Chen Y, Nomura T. 2004. Fucofuranoside metodu ve ORD spektrumu ile lupan triterenoidlerin mutlak stereokimyası ulusu. *Tetrahedron Lett* 45: 3261-3263.
- 14) Ikuta A, Itokawa H. 1998. *Paeonia japonica* callus dokusunun Triterpenoidleri. *Fitokimya* 27: 2813-22815.
- 15) Aguirre MC, Delporte C, Backhouse N, Erazo S, Letelier ME, Cassels BK, Silva X, Alegría S, Negrete R. 2006. Ugni'nin yapraklarından toplanan 2a-hidroksi penisiklik triterpen asitlerinin topikal anti-enflamatuar aktivitesi molinae. *Bioorg Med Chem* 14: 5673-5677.
- 16) Pisha E, Chai H, Lee IS, Chagwedera TE, Farnsworth NR, Cordell GA, Beecher CW, Fong HH, Kinghorn AD, Kahverengi DM, Wani MC, Duvar ME, Hieken TJ, Das Gupta TK, Pezzuto JM. 1995. Apoptozun indüklenmesi ile çalışan, insan melanomunun seçici bir inhibitörü olarak betulinik asidin keşfi. *Nat Med* 1: 1046-1051.
- 17) Steinkamp-Fenske K, Bollinger L, Xu H, Yao Y, Horke S, Förstermann U, Li H. 2007. İnsan endotel hücrelerinde endotel nitrik oksit sentaz ve NADPH oksidazın karşılıklı düzenlenmesi. *J Pharmacol Exp Ther* 322: 836-842.
- 18) Reico MC, Giner RM, Manes S, Gueho J, Julien HR, Hostettmann K, Rios JL. 1995. Triterpenoidlerin steroid antiinflamatuar aktivitesinin Diospyros leucomelas'tan araştırılması. *Planta Medica* 81: 9-14.
- 19) Takada Y, Aggarwal BB. 2003. Betulinic acid, InBa kinaz ve p65 fosforilasyonunun inhibisyonu yoluyla kanserojen kaynaklı NF- κ B aktivasyonunu baskılar: siklooksijenaz-2 ve matris metaloproteaz-9'un kaldırılması. *J. Immunol* 171: 3278-3286.
- 20) Yun Y, Han S, E Parkı, Yim D, Lee S, Lee C-K, Cho K, Kim K. 2003. Proinflamatuar sitokinler üreterek ve makrofaj aktivasyonu ile betulinik asidin immünomodülatör aktivitesi. *Arch Pharm Res* 26: 1087-1095.
- 21) Yook C-S, Liu X-Q, Chang S-Y, Park S-Y, Nohara T. 2002. *Acanthopanax gracilistylus*'un yapraklarından Lupane-triterpen glikozitler. *Chem Pharm Bull* 50: 1383-1385.
- 22) Ueda H, Kuroiwa E, Tachibana Y, Kawanishi K, Ayala F, Moriyasu M. 2004. *Myrciaria dubia*'nın (H. B. & K.) McVaugh'un yapraklarından Aldose redüktaz inhibitörleri. *Fitomedik* 11: 652-626.
- 23) Inoue T, Komada H, Uchida T, Dügüm K. 2008. Tropikal meyveli camu-camu (*Myrciaria dubia*) antioksidan özelliği vardır