



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BAZI ASTRAGALUS L. TAKSONLARININ FENOLİK BİLEŞİK VE
BİYOAKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRMALI İNCELENMESİ**

**Hazırlayan
Onur KAYA**

**Danışman
Doç. Dr. Sevil ALBAYRAK**

Yüksek Lisans Tezi

**Ekim 2016
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BAZI *ASTRAGALUS* L. TAKSONLARININ FENOLİK BİLEŞİK VE
BİYOAKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRMALI İNCELENMESİ**

**Hazırlayan
Onur KAYA**

**Danışman
Doç. Dr. Sevil ALBAYRAK**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
FYL-2014-5072 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ekim 2016
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmada verilen tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.



Onur KAYA

YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Bazı *Astragalus* L. Taksonlarının Fenolik Bileşik ve Biyoaktivitelerinin Karşılaştırmalı İncelenmesi” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.



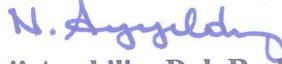
Tezi Hazırlayan

Onur KAYA



Danışman

Doç. Dr. Sevil ALBAYRAK



Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

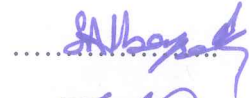
Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Doç. Dr. Sevil ALBAYRAK danışmanlığında **Onur KAYA** tarafından hazırlanan “**Bazı Astragalus L. Taksonlarının Fenolik Bileşik ve Biyoaktivitelerinin Karşılaştırmalı İncelenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

28.10.2016

JÜRİ:

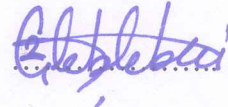
Danışman : Doç. Dr. Sevil ALBAYRAK



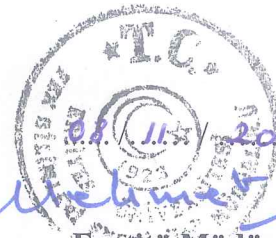
Üye : Doç. Dr. Fatma Öztürk KÜP



Üye : Doç. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ

**ONAY:**

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun 08.11.2016 tarih ve 2016/48-37 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Mehmet AKKURT

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve bu günlere gelmemde en büyük katkı sahibi olan danışman hocam sayın Doç. Dr. Sevil ALBAYRAK'a teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Ahmet AKSOY, Arş. Gör. Bayram ATASAGUN'a, arkadaşım İsmail Bayram GÜLLÜ'ye desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tezin yapılma aşamasında katkıları olan Genom ve Kök Hücre Merkezi çalışanlarından Dilek CEYLAN'a çalışma sürecindeki desteklerinden ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışması boyunca bana verdikleri maddi ve manevi destekler için anneme, babama ve kardeşim Beyza Nur KAYA'ya teşekkür ederim.

Onur KAYA
Kayseri, 2016

BAZI *ASTRAGALUS* L. TAKSONLARININ FENOLİK BİLEŞİK VE BİYOAKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRMALI İNCELENMESİ

ONUR KAYA

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi

Ekim, 2016

Tez Danışman: Doç. Dr. Sevil ALBAYRAK

ÖZET

Bu çalışmada Türkiye florasında yer alan ve özellikle Kayseri’de yayılış gösteren *Astragalus* (Fabaceae) cinsine ait 3’ü endemik olan 5 takson toplanmıştır. Toplanan örnekler Soxhlet ekstraksiyon cihazı kullanılarak metanol ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstratların Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (LC-MS) ile fenolik bileşik analizi, toplam fenolik ve flavanoid madde miktarları, *in vitro* antioksidan, antiradikal, hidrojen peroksit giderme, metal şelatlama, toplam indirgeyici güç tayini, demir iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli (FRAP), bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi (CUPRAC), antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Ekstrelerde klorojenik asit, epikateşin, kateşinhidrat, kersetin, sirinik asit, kamferol, sinnapik asit, kaffeik asit, rutin ve ferulik asit tespit edilmiştir. Elde edilen ekstratların Folin-Ciocalteu kolorimetrik yöntemi ile belirlenen toplam fenolik madde miktarının 4,59–13,49 mg gallik asit eşdeğeri/g ekstre, Alüminyum klorid kolorimetrik yöntemi ile toplam flavonoid miktarlarının 0,76–5,88 mg kersetin eşdeğeri/g ekstre arasında olduğu tespit edilmiştir. Ekstrelerin fosfomolibdenyum yöntemi ile belirlenen toplam antioksidan aktivitelerinin 108,40–178,25 mg askorbik asit eşdeğeri/g ekstre arasında olduğu bulunmuştur. DPPH yönteminde, *A. microcephalus* ($IC_{50} = 86,67 \mu g/ml$) en yüksek antiradikal aktiviteye sahip iken, *A. acmophyllus*’un ($IC_{50} = 253,88 \mu g/ml$) en düşük antiradikal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Demir iyonu indirgeyici antioksidan potansiyeli (FRAP) yönteminde, *A. microcephalus* (0,97 mM/l) en yüksek indirgeyici güce sahipken, *A. argeus* (Toprak altı)’un en düşük (0,49 mM/l) aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri 14 bakteri ve 1 mayayı içeren toplam 15 mikroorganizmaya karşı araştırılmıştır. Test edilen ekstratların sadece *Pseudomonas aeruginosa*’ya karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ekstratların test

edilen *Candida albicans* üzerine etkisi görülmemiştir. Ekstrelerin 24 ve 48 saat süre ile MCF-7 (İnsan göğüs kanser hücre hatları) ve fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik etkisi MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Ekstreler içerisinde *A. talasseus*'un MCF-7 hücreleri üzerinde sitotoksik etkisinin en yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma sonuçlarının Anadolu'da tıbbi özellikleri bakımından halk tarafından kullanılan *Astragalus* bitkisi ile ilgili literatürdeki önemli bir boşluğu dolduracağına, aynı zamanda gıda başta olmak üzere birçok endüstriyel alanda doğal antioksidan ve antimikrobiyal bileşiklerin kullanımına yönelik son zamanlarda artan araştırmalara katkı sağlayacağına inanılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Astragalus*, Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite, CUPRAC, FRAP, LC-MS, Sitotoksikite

COMPARATIVE INVESTIGATION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND THE BIOACTIVITIES OF SOME *ASTRAGALUS* L. TAXA

ONUR KAYA

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M.Sc. Thesis, October: 2016

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sevil ALBAYRAK

In this study, 5 taxa, 3 of which are endemic, belongs to *Astragalus* (Fabaceae) genus were collected. Collected taxa are belongs to Turkish flora and especially spread in Kayseri. The collected samples were extracted with methanol by using a Soxhlet extraction device. Phenolic compound analysis with liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), The total phenolic and flavonoid contents, *in vitro* antioxidant, anti-radical, hydrogen peroxide scavenging, metal chelating, total reducing power, iron ion reducing antioxidant potential (FRAP), copper (II) ions reducing antioxidant capacity (CUPRAC), antimicrobial and cytotoxic activities of the obtained extracts were investigated. The chlorogenic acid, epicatechin, catechin hydrate, quercetin, syringic acid, campherol, sinnapic acid, caffeic acid, rutin, and ferulic acid in the extracts have been identified. It is determined that the total phenolic contents of the extracts by Folin-Ciocalteu method ranged from 4,59 to 13,49 mg gallic acid equivalent /g extract. It is determined that the total flavonoid contents of the extracts by aluminum chloride colorimetric method ranged from 0,76 to 5,88 mg kuersetin equivalent/g extract. It has been found that the total antioxidant activities determined by phosphomolybdenum method of extracts ranged from 108,40 to 178,25 mg ascorbic acid equivalent/g extract. While *A. microcephalus* ($IC_{50} = 86,67 \mu\text{g/ml}$) showed the highest antiradical activity, *A. acmophyllus* ($IC_{50} = 253,88 \mu\text{g/ml}$) showed the least antiradical activity in DPPH method. While *A. microcephalus* (0.97 mM/l) had the highest reducing power, *A. argaeus* (underground) (0.49 mM/l) had the least reducing power in ferric ion reducing antioxidant potential (FRAP) assay. All of the extracts were investigated for antimicrobial activities against 15 species of microorganisms containing 14 bacteria and 1 yeast. The tested extracts have been only found to be effective against *Pseudomonas*

aeruginosa. All of the extracts didn't show activity against *Candida albicans*. The cytotoxic effects of extracts tested on MCF-7 (human breast cancer cell lines) and fibroblast cells during 24 and 48 hours were determined by MTT method. Among the extracts, *A. talasseus* showed the highest cytotoxic activity on MCF-7.

As a result, it is believed that the results of this study will fill a significant gap in existing literature about *Astragalus* plant which used by folk in terms of medicinal properties in Anatolia and also will contribute to research recently increasing for the use of natural antioxidant and antimicrobial compounds in many industrial fields including food.

Keywords: *Astragalus*, Antimicrobial activity, Antioxidant activity, FRAP, CUPRAC, LC-MS, Cytotoxicity

İÇİNDEKİLER

BAZI *ASTRAGALUS* L. TAKSONLARININ FENOLİK BİLEŞİK VE BİYOAKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRMALI İNCELENMESİ

Sayfa

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
KISALTMALAR	xiv
TABLolar LİSTESİ	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xvi
GİRİŞ.....	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Etnobotanik Bilgiler	4
1.2. Bitkisel Sekonder Metabolitler	5
1.2.1. Polifenolik Bileşikler.....	5
1.2.1.1. Flavanoidler	6
1.2.1.2. Fenolik asitler	7
1.2.1.3. Fenolik polimerler (Tanenler).....	7

1.2.2. Karotenoidler	8
1.3. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	8
1.4. Taksonomik Bilgiler	10
1.4.1. Fabaceae	10
1.4.2. <i>Astragalus</i> (Geven) Cins	11
1.4.2.1. <i>Astragalus argaeus</i> Boiss & Balansa	12
1.4.2.2. <i>Astragalus gummifer</i> LAB	14
1.4.2.3. <i>Astragalus microcephalus</i> WILLD	15
1.4.2.4. <i>Astragalus acmophyllus</i> BUNGE	16
1.4.2.5. <i>Astragalus talasseus</i> BOISS. ET BAL	17
1.4.3. <i>Astragalus</i> Cinsinin Kimyasal İçeriği ve Farmakolojik özelliği	18
1.4.4. <i>Astragalus</i> cinsi ile daha önce yapılan çalışmalar.	20

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEMLER

2.1. Araştırma Materyallerinin Temini	25
2.2. Toplanan <i>Astragalus</i> Türlerinin Ekstraksiyonu	25
2.3. Sıvı Kromatografisi (LC-MC) ile Fenolik Bileşik Analizi	27
2.4. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi	27
2.5. Toplam Flavanoid Miktarının Belirlenmesi	28
2.6. Toplam Antioksidan Miktarının Belirlenmesi	28
2.7. β -karoten Beyazlatma Yöntemi	29
2.8. Antiradikal Aktivitenin Belirlenmesi	29
2.9. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi	30
2.10. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi	30
2.11. Toplam İndirgeyici Güç Tayini	30

2.12. Demir İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP)	31
2.13. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi (CUPRAC).....	31
2.14. Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi	31
2.15. MTT Hücre Sitotoksite Yöntemi.....	33
2.16. İstatiksel Analizler	33

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Ekstrelerin Verimleri	34
3.2. Sıvı Kromatografisi (LC) ile Elde Edilen Fenolik Bileşik Bulguları	35
3.3. Ekstrelerin Toplam Fenolik Madde Miktarı	35
3.4. Ekstrelerin Toplam Flavonoid Madde Miktarı	37
3.5. Ekstrelerin Toplam Antioksidan Aktiviteleri	39
3.6. Ekstrelerin β -Karoten-Linoleik Asit Oksidasyonu İnhibe Etme Aktiviteleri...	40
3.7. Ekstrelerin Antiradikal Aktiviteleri	42
3.8. Ekstrelerin DPPH Yöntemine ile Elde Edilen IC ₅₀ Değerleri	44
3.9. Ekstrelerin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi.....	45
3.9.1. <i>A. argaeus</i> (T.A)'a Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi.....	47
3.9.2. <i>A. argaeus</i> (T.Ü)'a Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi.....	47
3.9.3. <i>A. gummifer</i> 'e Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi .	48
3.9.4. <i>A. microcephalus</i> 'a Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi.....	49
3.9.5. <i>A. talasseus</i> 'a Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi ...	49
3.9.6. <i>A. acmophyllus</i> 'a Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi	50

3.10. Ekstrelerin Hidrojen Peroksit Giderme Yöntemi ile Elde Edilen IC ₅₀ Değerleri.....	51
3.11. Ekstrelerin Metal Şelatlama Aktiviteleri	52
3.12. Ekstrelerin İndirgeyici Gücü	53
3.13. Demir İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP)	55
3.14. CUPRAC Yöntemi Sonuçları	57
3.15. <i>Astragalus</i> Taksonlarına Ait Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	58
3.16. <i>Astragalus</i> Ekstrelerinin Sitotoksik Aktiviteleri	59
3.16.1. <i>A. argaeus</i> (T.A)'a Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi	59
3.16.2. <i>A. argaeus</i> (T.Ü)'a Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi.....	60
3.16.3. <i>A. gummifer</i> 'e Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi	61
3.16.4. <i>A. microcephalus</i> 'a Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi.....	62
3.16.5. <i>A. talasseus</i> 'a Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi	63
3.16.6. <i>A. acmophyllus</i> 'a Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi	64
3.16.7. <i>A. argaeus</i> (T.A)'a Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi.....	65
3.16.8. <i>A. argaeus</i> (T.Ü)'a Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi.....	66
3.16.9. <i>A. gummifer</i> 'e Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi	67
3.16.10. <i>A. microcephalus</i> 'a Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi	68

3.16.11. <i>A. talasseus</i> 'a Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi.....	69
3.16.12. <i>A. acmophyllus</i> 'a Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisi.....	70

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Tartışma Sonuç ve Öneriler.....	72
KAYNAKLAR	82
ÖZGEÇMİŞ	92

KISALTMALAR VE SİMGELER

var	Varyete
End.	Endemik
Subsp (spp)	Alttür
%	Yüzde
δ	Delta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
$^{\circ}$	Derece
m	Metre
nm	Nanometre
mm	Milimetre
g	Gram
mg	Miligram
ml	Mililitre
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
mM	Milimolar
Tris-HCL	Tris Hidroklorik Asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
GAE	Gallik asit eşiti
AAE	Askorbik asit eşiti
QE	Kersetin eşiti
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
CUPRAC	Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi
FRAP	Demir iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli
LC-MS	Sıvı kromatografisi-Kütle spektrometresi

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Toplanan <i>Astragalus</i> cinslerine ait türlerin lokalite bilgileri	26
Tablo 3.1. <i>Astragalus</i> taksonlarına ait metanollü ekstre verimleri (g ekstre/100 g bitki)	34
Tablo 3.2. <i>Astragalus</i> ekstralarında bulunan fenolik bileşikler.....	36
Tablo 3.3. <i>Astragalus</i> ekstraların toplam fenolik madde miktarları.....	36
Tablo 3.4. Ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarları.	38
Tablo 3.5. Ekstrelerin toplam antioksidan aktiviteleri.	39
Tablo 3.6. Ekstrelerin β - Karoten-Linoleik asit yöntemi ile elde edilen % İnhibisyon değerleri.....	41
Tablo 3.7. Ekstrelerin antiradikal aktiviteleri.....	43
Tablo 3.8. Ekstrelerin DPPH yöntemi ile belirlenen IC ₅₀ değerleri.	44
Tablo 3.9. <i>Astragalus</i> örneklerinin hidrojen peroksit giderme aktivitesi.	46
Tablo 3.10. Ekstrelerin hidrojen peroksit giderme yöntemi ile belirlenen IC ₅₀ değerleri.	51
Tablo 3.11. Ekstrelerin metal şelatlama aktivitesi.....	53
Tablo 3.12. Ekstrelerin indirgeyici güç yöntemi ile elde edilen absorbans değerleri.	54
Tablo 3.13. Ekstrelerin demir iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli.	56
Tablo 3.14. Ekstrelerin bakır iyonunu indirgeme gücü.	57
Tablo 3.15. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi.....	59

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1.	<i>Astragalus argaeus</i> Boiss. & Balansa yayılış alanı	13
Şekil 1.2.	<i>Astragalus argaeus</i> Boiss. & Balansa bitkisinin genel görünüşü	13
Şekil 1.3.	<i>Astragalus gummifer</i> LAB. yayılış alanı.....	14
Şekil 1.4.	<i>Astragalus gummifer</i> LAB. bitkisinin genel görünüşü	15
Şekil 1.5.	<i>Astragalus microcephalus</i> WILLD. yayılış alanı.....	16
Şekil 1.6.	<i>Astragalus microcephalus</i> WILLD. bitkisinin genel görünüşü	16
Şekil 1.7.	<i>Astragalus acmophyllus</i> yayılış alanı	17
Şekil 1.8.	<i>Astragalus talasseus</i> yayılış alanı	18
Şekil 3.1.	Ekstrelerin % verim grafiği	35
Şekil 3.2.	Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları.	37
Şekil 3.3.	Ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarları	38
Şekil 3.4.	Ekstrelerin toplam antioksidan aktiviteleri.	40
Şekil 3.5.	Ekstrelerin β - Karoten-linoleik asit yöntemi ile elde edilen % inhibisyon değerleri.....	41
Şekil 3.6.	Ekstrelerin DPPH yöntemi ile elde edilen antiradikal aktiviteleri.	42
Şekil 3.7.	Ekstrelerin DPPH yöntemi ile belirlenen IC ₅₀ değerleri.	45
Şekil 3.8.	Ekstrelere ait hidrojen peroksit giderme aktivitesi.....	46
Şekil 3.9.	<i>A. argaeus</i> (T.A)'a ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi.....	47
Şekil 3.10.	<i>A. argaeus</i> (T.Ü)'a ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi.....	48
Şekil 3.11.	<i>A. gummifer</i> 'e ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi ..	48
Şekil 3.12.	<i>A. microcephalus</i> 'a ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi.	49
Şekil 3.13.	<i>A. talasseus</i> 'a ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi.	50
Şekil 3.14.	<i>A. acmophyllusa</i> 'a ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi	50
Şekil 3.15.	Ekstrelerin hidrojen peroksit giderme yöntemi ile elde edilen IC ₅₀ değeri	52
Şekil 3.16.	Ekstrelerin metal şelatlama aktivitesi.....	53
Şekil 3.17.	Ekstrelerin indirgeyici güç yöntemi ile elde edilen absorbans değerleri	55
Şekil 3.18.	Ekstrelerin demir iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli	56
Şekil 3.19.	Ekstrelerin bakır iyonunu indirgeme gücü	58
Şekil 3.20.	<i>A. argeus</i> (T.A)'a ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi sitotoksik aktivitesi	60

Şekil 3.21. <i>A. argaeus</i> (T.Ü)'a ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi sitotoksik aktivitesi	61
Şekil 3.22. <i>A. gummifer</i> 'e ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi sitotoksik aktivitesi	62
Şekil 3.23. <i>A. microcephalus</i> 'a ait MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi ekstrenin sitotoksik aktivitesi	63
Şekil 3.24. <i>A. talasseus</i> 'a ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi sitotoksik aktivitesi	64
Şekil 3.25. <i>A. acmophyllus</i> 'a ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi	65
Şekil 3.26. <i>A. argaeus</i> (T.A)'a ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi	66
Şekil 3.27. <i>A. argaeus</i> (T.Ü)'a ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi	67
Şekil 3.28. <i>A. gummifer</i> 'e ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi	68
Şekil 3.29. <i>A. microcephalus</i> 'a ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi	69
Şekil 3.30. <i>A. talasseus</i> 'a ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi	70
Şekil 3.31. <i>A. acmophyllus</i> 'a ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi	71

GİRİŞ

İnsanoğlu tarih boyunca besin, ilaç, yağ ve diğer pek çok kullanışlı ürünü elde etmek amacıyla bitkisel ürünleri kullanmıştır. Meyve ve sebze gibi bitkisel ürünlerin tüketiminin yüksek olduğu bir diyet ile pek çok kronik hastalık riskinin azalması arasında bir ilişki bulunduğu belirtilmektedir [1, 2]. Bitkisel ürünlerin tüketiminin artmasının sağlık açısından faydalı olduğu çok eski çağlardan beri bilinmesine rağmen bu faydalı etkiden hangi bileşenlerin sorumlu olduğu pek bilinmemektedir. Ancak günümüzde bitkilerin bileşiminde bulunan birçok ürün daha fazla ilgi çekmekte, faydaları ve kullanım alanlarının araştırıldığı çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Bitkiler lipidler, karbohidratlar, proteinler, mineraller ve sekonder metabolitlerin önemli kaynaklarından biridir. Bunlara ek olarak bitkilerin kimyasal bileşiminde bulunan fitokimyasalların sağlık açısından faydaları son zamanlarda oldukça ilgi çekmektedir [3]. 19. yüzyılın başlarına kadar bitkilerdeki bu aktif bileşenler izole edilememiştir. Doğal bitkisel bileşenlerin kimyasal yapıları ancak bu yüzyılın sonlarında belirlenebilmiştir. Son 50 yılda yeni kimyasal teknolojilerin geliştirilmesiyle biyolojik bileşenlerin belirlenmesi, izolasyonu ve sentezi mümkün hale gelmiştir. Bitkiler ve onların çeşitli kısımlarından elde edilen bileşenler boya, koku, tat verici, hastalıkların tedavisi gibi birçok amaçla kullanılmaktadır [4].

Dünya üzerinde halen 300.000 civarında çiçekli ya da tohumlu bitki türü kayıtlı iken, bu rakamın aslında 750.000 olması gerektiğine dair tahminler yapılmaktadır. Tıbbi bitki sayısının 30 ila 75.000 olduğu tahmin edilirken, Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nce yapılan bir çalışmaya göre tüm dünyada 20.000 civarında bitki türünün tıbbi amaçlarla kullanıldığı saptanmıştır. 4.000 bitkisel drog yoğun olarak kullanılmakta, Batı Avrupa'da ise 400 kadar bitkisel droğun ticareti yapılmaktadır. Bu rakamlardan tıbbi bitkilerin nadir olduğu anlamı çıkarılabilir, ancak unutulmamalıdır ki dünyada kayıtlı bitki türlerinden sadece yaklaşık % 20'si az ya da çok bilimsel incelemeye tabi tutulmuştur. Çok zengin bir bitki örtüsü ve endemik türlere sahip olan ülkemizde

yöresel olarak yenilen, suyu içilen ve ilaç olarak kullanılan birçok bitki bulunmaktadır [5].

Geleneksel tıp başlıca gelişen dünyanın tüm bölgelerinde ve endüstrileşmiş ülkelerde çok hızlı bir şekilde yayılmaktadır. Avrupa, Kuzey Amerika ve endüstrileşmiş diğer bölgelerde toplumun %50'den fazlasının tamamlayıcı ya da alternatif tıp yöntemlerinden en az birini kullandığı saptanmıştır [6]. Geleneksel tıpta kullanılan birçok bitki oksidatif stres, viral ve bakteriyel ajanların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde etkilidir. Araştırmalar, bu bitkilerin antioksidan özelliği gibi antimikrobiyal aktivitelerinin de olduğunu göstermiştir [7]. Bu nedenle son yıllarda, gıda bilimcilerinin, üreticilerin ve tüketicilerin bitkisel kaynaklı antioksidanlara karşı ilgisi artmıştır [8]. Bitkiler tıbbi özellikleri, güçlü farmakolojik aktiviteleri ve düşük toksisiteyi nedeniyle son bilimsel gelişmeler ışığında incelenmektedir. Bitkilerde bulunan biyoaktif bileşiklerin, sağlığa faydaları ile birlikte antioksidan, antikanserojen, antihipertansiv (kan basıncını düşüren) ve antitumöjenik etkilerinin olduğu görülmüştür. Yine birçok bitkinin vitamin C, vitamin E ve karotenoidler dışında yüksek miktarda fenolik bileşikler ve flavonoidler içerdiği bilinmektedir. Tıbbi bitkilerin önemli patojen ve bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmasına rağmen yüzyıllar boyunca yaygın olarak kullanılan bitkilerin antioksidan ve antimikrobiyal etkileri son zamanlara kadar detaylı bir şekilde incelenmemiştir [9]. Antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon oranındaki artıştan dolayı yeni antimikrobiyal maddelerin araştırılmasına ilgi artmıştır. Bu alanda en yoğun çalışmalar tedavi edici olarak kullanılan bitki veya mikroorganizmaların sistematik olarak taranması üzerinde sürmektedir [10]. Tıbbi bitkiler içerdikleri terapötik bileşiklerden dolayı yüzyıllardır hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Mevcut antibiyotiklere mikrobiyal dayanıklılığın gelişmesi araştırmacıları tıbbi bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmaya yöneltmiştir [11–13]. Aynı zamanda son yıllarda sentetik antioksidanların yerini alacak doğal antioksidanların araştırılmasında önemli oranda bir artış olmuştur. Çünkü sentetik antioksidanlar kanser yapıcı etkilerinden dolayı kullanımları sınırlandırılmıştır. Antioksidatif durum ile hastalıkların oluşması arasında negatif bir ilişkinin olduğu kaydedilmiştir [14]. Bu nedenle antioksidatif bileşiklerin araştırılması ve teşhis edilmesi oldukça önemlidir. Yapılan çalışmalar bitkilerin potansiyel olarak doğal antioksidan kaynakları olduğunu göstermiştir. Karotenoidler,

flavonoidler, sinamik asit, benzoik asit, folik asit, askorbik asit, tokoferoller, vb. bitki tarafından üretilen antioksidanlardan bazılarıdır [15].

Bu çalışmada Türkiye florasında yer alan ve özellikle Kayseri’de yayılış gösteren ve bazıları endemik olan *Astragalus* taksonlarının toprak altı ve üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarı, fenolik içeriği, antioksidan etkisi, antimikrobiyal aktiviteleri ve fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Etnobotanik Bilgiler

Etnobotanik terimi sürekli tanımlanmasına karşılık, tanımı üzerinde kesin bir fikir birliği yoktur. Fakat genel olarak etnobotanik terimi “Bir yörede yaşayan halkın yakın çevresinde bulunan bitkilerden çeşitli gereksinimlerini karşılamak üzere yararlanma bilgisi ve o bitki üzerine etkisi olarak” tanımlanabilir. Etnobotanik terimi, ilk kez 1895 yılında, bir biyoloji profesörü olan John W. Harshberger tarafından kullanılmaya başlanmış olup, basitçe “bitkilerin yerel halk tarafından kullanımı” olarak tanımlanmıştır. Ayrıca etnobotanik teriminin ilk geçtiği yer olan, Harshberger’in "The Purposes of Ethnobotany" adlı eseri bu konuda bilinen ilk yayındır [16, 17].

İnsanoğlu varoluşundan itibaren bitkilerle sıkı bir etkileşim içerisinde olmuştur. Faydalı gördükleri bitkileri tanımış, tanıtmış ve hastalıkların tedavisinde kullanmıştır. Tarihsel süreç içerisinde özellikle de arkeolojik bulgular göz önüne alındığında, ilkçağlardan beri insanlar çevrelerindeki bitkileri kullanarak dertlerine şifa aramışlardır. Zamana ve değişik kültürlere göre farklılık gösterse de, insanlar bitkilerden genellikle gıda, hastalık tedavisi, alet ve ekipman yapımı, yakıt, hayvan yemi, boyar madde, büyü, nazar gibi inançsal amaçlı vb. kullanımlar için değişik şekillerde yararlanmışlardır. Bu bilgiler çağlar boyunca kullanım şekillerindeki bazı değişiklik ve gelişmelerle birlikte nesilden nesile aktararak günümüze kadar ulaşmıştır [16, 18–23].

İnsanoğlu tarafından geçmişten günümüze kadar gelen bu kullanım alanlarının ve kullanılan bu bitkilerin yerel isimlerinin bilinmesi, insanlık mirasının yeni kuşaklara aktarılması bakımından çok büyük önem taşımaktadır [17]. Etnobotanik çalışmalar,

yalnızca insanoğlunun tarihsel süreçte bitkilerle olan etkileşimlerini kaydetmekle kalmaz, aynı zamanda tıbbi ve ekonomik önemi olan bitkilerin belirlenmesine, hammadde ihtiyacının karşılanarak ilaç sanayinin gelişmesine katkı sağlar. Bunun yanı sıra aktarlık, gıda, arıcılık, kozmetik ve çiçekçilik gibi farklı istihdam alanlarının oluşmasına katkı sağlaması bakımından da oldukça önem arz eder. Birçok farklı medeniyete ev sahipliği yapan ülkemiz, hem kültürel hem de floristik yapısı bakımından etnobotanik çalışmalar için oldukça zengin bir araştırma alanı oluşturmaktadır [24]. Yapılan ve yapılacak olan etnobotanik çalışmalar, halkımız ile bitkiler arasındaki ilişkiyi gelecek kuşaklara aktarması bakımından oldukça önemlidir [25].

1.2. Bitkisel Sekonder Metabolitler

Genellikle sekonder bileşik sınıfında değerlendirilen bu bileşiklerin kimyasal yapıları çok değişkendir ve primer bileşiklerden oldukça farklıdır. Bitkilerde, yaklaşık 100.000 çeşit sekonder bileşik bulunduğu tahmin edilmektedir [26, 27].

1.2.1 Polifenolik Bileşikler

Polifenoller, fitokimyasalların en geniş sınıflarından biridir [28]. Bitkiler aleminde oldukça geniş oranda yer almaktadırlar. Polifenollerin aktivitelerini, kimyasal yapılarındaki hidroksil grupları belirler. Bu nedenle de güçlü antioksidanlardır. Bitkisel kaynaklı polifenoller, hidrojen atomu verici, singlet oksijeni süpürücü ve indirgeyici gibi birden fazla fonksiyona sahiptir [29]. Besin fenolikleri; flavonoidler, fenolik asidler, fenolik polimerler (tanenler) olmak üzere üç sınıfa ayrılır:

1.2.1.1. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerin ortak bileşenleridir. Çeşitli bitkilerin kök, gövde, yaprak, tohum ve meyvelerinden şu ana kadar 8000'den fazla polifenolik bileşik izole edilmiş olup, bunun 4000'den fazlasını flavonoidler oluşturmaktadır [30, 31]. Flavonoidler, fenolik ve piran halkalarından oluşan benzo- γ -piran türevleri olup, bitki fenollerinin en geniş sınıfını oluştururlar. Flavonoidlerin temel yapısında 15 karbonlu flavan çekirdeği bulunur. Flavonoidlerin molekül yapıları, aromatik A halkasına birleşik halde bulunan heterosiklik C halkası ve bu C halkasına 2, 3 veya 4 pozisyonundan bağlı ikinci aromatik B halkasından oluşur. Bu halkalara bağlanan çeşitli fenolik hidroksil grupları, bu yapıların antioksidan aktivite göstermelerini sağlar. Farklı türdeki bitkilerde veya aynı bitkinin değişik kısımlarında bulunan flavonoidlerin büyük yapısal farklılıkları vardır [32].

Son yıllarda yapılan araştırmalar, flavonoidlerin biyolojik aktivitelerinin daha net anlaşılmasını sağlamıştır. Antioksidan, serbest radikal süpürücü ve antienflamatuvar (İltihabı azaltan) etkilerinin yanı sıra, farklı enzimlerin aktivitelerini arttırarak ve spesifik reseptörlerle etkileşerek de insan sağlığına faydalı oldukları gösterilmiştir. Flavonoidler, ayrıca antiviral (virüsleri yok eden), antitrombotik (Kanın pıhtılaşmasını engelleyen), antialerjik (Alerjenleri azaltın) ve vazodilatör (Damar genişletici) etkiler de gösterirler, bakır ve demir gibi metal iyonlarını şelatlama özelliğine de sahiptirler. Flavonoidlerin ateroskleroz, tromboz ve karsinogenez olaylarında önemli etkisi olduğu düşünülen LDL peroksidasyonunu önlediği de literatürde belirtilmektedir [33, 34]. Koroner kalp hastalıklarını önleyici ve antikanserojen özelliğe de sahiptirler [35].

Başlıca flavonoid grupları şunlardır: Flavonoller, flavonlar, flavononlar, antosiyaninler ve izoflavonoidler ve antosiyanidinler (flavilyum katyonları), proantosiyanidinler, biflavonoidler ve oligomerik flavonoidler, izoflavonlar (izoflavonoidler), kalkonlar ve auronlardır [31].

1.2.1.2. Fenolik Asitler

Fenolik asitler, sinnamik asit ve benzoik asidin hidroksi türevleri olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Hidroksibenzoik asitler C6-C1 fenilmetan yapısında olup, bitkisel gıdalarda genelde iz miktarda bulunurlar. Hidroksisinnamik asitler ise C6-C3 fenilpropan yapısındadırlar. Çok yaygın bulunanları; kafeik asit, ferulik asit, *p*-kumarik asit ve *o*-kumarik asitlerdir [36].

Bu iki grup arasında ise çoğunlukla hidroksisinnamik asitler bulunur. Bitkilerde serbest, esterleşmiş ya da glukozidleri halinde bulunan fenolik bileşiklerin % 30'u, fenolik asit şeklinde besin yolu ile alınır [37, 38]. Fenolik asitler, hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve çeşitlerine göre farklı isimler alırlar [29]. Fenolik asitlerin, yapılarındaki aromatik halkaya bağlı hidroksil gruplarının sayısı ve yerlerine göre kararlılığı ve antioksidan aktivitesi farklı olmaktadır. Fenolik asitlerin metal şelatlama, hidroksi, peroksil, peroksinitrit ve süperoksit anyon radikallerini giderme etkisine sahip olduğu bildirilmiştir [38, 39].

1.2.1.3. Fenolik Polimerler (Tanenler)

Fenolik polimerler diğer bir deyişle tanenler veya proantosiyanidinler, yüksek molekül ağırlıklı bileşikler olup flavonoidlerin (flavan-3-ol) oligomer veya polimeridirler. Bitkilerin ikincil metabolitleri olup, bu bitkileri zararlılara (mantarlar ve böcekler v.s) karşı korurlar [40]. Fenolik polimerler bazı çilek türlerinde, elmada, nar suyunda, kırmızı ve beyaz üzümde, bunlardan elde edilen şaraplarda, yine bunların tohumlarında, kakao, çay, tarçın ve *Ginkgo biloba*'da bol miktarda bulunur. Koyu renkli ve tadı buruk bileşiklerdir. Proantosiyanidin içeriği yüksek gıda ya da gıda takviyelerini kısa/uzun süreli kullananlarda ateroskleroz, bazı kanser türleri ve enflamasyonun (İltihab) görülme oranlarının azaldığı bildirilmiştir [29, 41].

1.2.2. Karotenoidler

Karotenoidler bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilen, hayvanlarca sentezlenemeyen doğal pigmentlerdir [42]. Yapısında bulunan çifte bağlardan dolayı sarı, portakal veya kırmızı renklindedir. Yapılarındaki konjuge çift bağlar, kimyasal, biyokimyasal ve fiziksel özelliklerini etkiler [43]. Karotenoidler teraterpenoidlerin bir grubudur. İki sınıf karotenoid vardır; karotenler ve ksantofiller. Karotenler hidrokarbon karotenoidlerdir. Ksantofiller ise hidroksil, metoksil, karboksil, keto, veya epoksi grupları şeklinde oksijen içerirler. Likopen ve β -karoten tipik karotenlerdir. Yeşil yapraklardaki lutein ve mısırdaki zeaksantin ise ksantofildirler. Karotenoidlerin ateroskleroz, katarakt, yaşa bağlı kas dejenerasyonları ve multiplskleroz gibi çeşitli radikal kaynaklı hastalıkları önlediği bildirilmiştir. Karotenoidlerin antioksidan aktiviteleri peroksil radikallerini ve singlet oksijeni tutmalarından kaynaklanmaktadır [44]. Likopen, doğal karotenoidler arasında en etkili singlet oksijen tutucularındandır [45]. β -Karoten peroksil radikali tutucusudur. β -karoten, α -tokoferolden daha düşük antioksidan aktiviteye sahiptir. Karotenoidler renkli meyve ve sebzelerde bulunmaktadırlar. Şeftali, havuç, bal kabağı ve patates α ve β -karoten içerir. Domates, kavun ve greyfurt ise likopen kaynağıdır [46]. En yaygın kullanılanı olan β -karoten aynı zamanda vitamin A öncülüdür. Vücutta vitamin A oluşumu için gereklidir [42, 47].

1.3. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Oksijen, yaşam için vazgeçilmez bir molekül olmasına rağmen aynı zamanda vücut içinde reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Reaktif oksijen türleri metabolizmaya zarar verebilecek bir dizi reaksiyonu başlatır ve bunlar canlı için aynı zamanda bir tehdit unsuru haline gelmektedir. Serbest radikallerin oluşumu organizmada oksijen kullanımı sırasında ortaya çıkmaktadır. Eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküller hücrelerin zarar gördüğü reaksiyonlar dizisini başlatır. Organizmada serbest radikaller gerek normal metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü olarak, gerekse radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasalların etkisi ile oluşmaktadır.

Serbest radikallerin başlattığı bu zincirleme reaksiyonlar dizisi, antioksidanlar tarafından durduruluncaya kadar devam etmektedir. Yapılan araştırmalar, antioksidanların serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin zarar görmesine engel olduklarını ortaya koymuştur [48].

Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta şu gibi ciddi hasarlara neden olabilirler;

- Hücre membranı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek,
- Membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek,
- Nükleus membranını yararak nükleustaki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek,
- Bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sisteminin etkisini azaltmak [49].

Antioksidanlar, gıdalarda okside olabilen substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya engelleyen maddelerdir [49]. Antioksidanlar; lipid peroksidasyonu ve diğer serbest radikal aracılı süreçleri engelleyen, serbest radikalleri nötralize eden serbest radikal temizleyicileri gibi hareket ederler. Bu nedenle antioksidanlar, radikal reaksiyonlarının neden olduğu hastalıklardan insanları koruyabilir [50, 51].

Tüm bu oksidasyon süreci içinde antioksidanlar; ilk radikalleri saptarlar, metal iyonlarına bağlanırlar, peroksil radikallerini bulurlar ve okside olarak hasar gören biyomolekülleri yok ederek vücudu koruma işlevlerini yerine getirirler [52]. Bitkiler doğal antioksidan bileşiklerin başlıca kaynağını oluşturmaktadır. Meyve ve sebzeler, baharatlar, bitkisel çaylar ve yağlı tohumların içermiş oldukları antioksidan bileşikleri pek çok çalışmaya konu olmuş ve antioksidan etkilerin de fenolik bileşiklerden ve özellikle de flavonoid yapısından kaynaklandığı gösterilmiştir [53].

Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirilirler. Hücre dışı savunma, albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik

asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır [54].

Antioksidanlar, ayrıca enzimatik ve non-enzimatik olarak incelenirler: Süperoksitdismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) birinci derece enzimatlere, glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz 6- fosfat dehidrojenaz (G6PD) ikinci derece enzimatlere örnek gösterilmektedir. Non-enzimatik olanlar ise; mineral (Se, Zn), vitamin (A, C, K ve E), karotenitler (β -karoten, likopen, lutein, zeaksantin vs.), organosülfür bileşikler (allium, allil sülfid, indoller, vs.), düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar (GSH-Px, ürik asit, vs.), antioksidan ko-faktörler (ko-enzim Q10) ve polifenoller şeklinde incelenmektedir [55].

1.4. Taksonomik bilgiler

1.4.1. Fabaceae

Leguminosae veya bakla ailesi denen Fabaceae, Angiospermilerin Orchidaceae ve Asteraceae'den sonra üçüncü büyük familyasıdır. Tarımsal ve ekonomik önemi bakımından buğdaygillerden sonra ikinci büyük familyadır. Karmaşıklık sergileyen bu familya 727 cins ve yaklaşık 19.327 tür içerir [56]. Ülkemizde 61 cins ve 900'den fazla türü bulunur [57]. Tohumlarında endosperm yoktur. Bu familya Mimosaceae, Caesalpiniaceae ve Papilionaceae alt familyalarına ayrılır [58].

Genellikle otsu bitkileri bünyesinde barındırır. Nadiren çalılar veya ağaçlarda bu familyanın üyeleri arasındadır. Yapraklar çoğu zaman pinnat veya trifoliat, nadiren basit, stipüllüdür. Çiçekler erdişi olup, bir simetri düzlemine sahiptir. 5 sepali birleşik, 5 petali serbesttir. Üst petal genellikle büyüktür. Veksillum (bayrakçık) kanat şeklindedir. Yandaki 2 petal (ala), alttaki 2 petal ile birleşmiş olup, karina (kayıkçık) şeklini alır. Çiçek tomurcuk halindeyken alalar karinayı, veksillum da alaları örter. Genellikle 10 stamenlidir. Bunlar serbest, monodelfus veya diadelfus seklindedir. Marjinal plasentasyona sahiptir [57]. Fabaceae mevsimsel kuru veya kurak bir iklime sahip

tropik orman ve ılıman bölgelerde çeşitlilik göstermektedirler. Yarı kurak ve kurak habitatlarda özellikle yaşaması azot metabolizması ile ilgilidir [59, 60].

Fabaceae familyası üyeleri insan ve hayvan tüketimi için ekinler, aynı zamanda sıvı yağlar, lif, yakıt, gübre, kereste, tedavi edici, kimyasal maddeler ve bahçecilik işlerinde kullanılmaktadır [56]. İnsanlar ve hayvanlar için gıda maddesi özelliği taşıyan çok önemli türleri vardır. Bazı türleri ilaç, bazı türleri ise süs bitkisi olarak kullanılmaktadır [57].

Bu familya üyeleri gıda olarak kullanımın yanı sıra ormancılıkta kullanılmaktadır. Bitkilerin kendileri ya da yaprakları ve kabukları gibi bitkisel ürünleri toprak ıslahı ve nitrojen kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca plastik yapımında yağ, yakıt ve biyodizel olarak kullanılmaktadır [61].

1.4.2. *Astragalus* (Geven) L. Cinsi

Ülkemiz coğrafi konumu, jeolojik yapısı, farklı topoğrafik yapılara ve toprak gruplarına sahip oluşu, değişik iklim tiplerinin etkisi altında kalması ve üç farklı bitki coğrafyası bölgesinin birleştiği yerde olması, özellikle de bazı İran-Turan kökenli bitki cinslerinin gen merkezi olması gibi ekolojik ve floristik nedenlerle zengin bir flora ile çok değişik vejetasyon tiplerine sahiptir. Ülkemizde bu zengin flora içerisinde 425 takson ile en zengin cins *Astragalus*'tur. Bu 425 taksondan 201'i endemik olup endemizm oranı yaklaşık %47'dir. Ülkemizde takson sayısı açısından 1. sırada yer alan *Astragalus* dünyada da yaklaşık 3000 takson ile en zengin gruptur [62-65].

Astragalus türlerinin besin değerlerinin yüksek olması, çalı formunda olanlarından kitre zamlı elde edilmesi, yakacak ve hayvan yemi olarak kullanılması yanında erozyonu önlemede de kullanılması nedeniyle önemi büyüktür [66].

Biyoçeşitlilik açısından önemli, kökleri 3-5 m derine inebilen ve geniş dalları olan, eğimli yamaçların erozyon bekçileri olan *Astragalus* türleri, yayıldığı alanın 2-4 katı büyüklüğündeki araziye kaymalara karşı tutmaktadır. Ahtapot misali kökleriyle

Çaprazlama toprağı korur ve eğimli dağ yamaçlarının zayıf bitkilerini hayvanlara karşı muhafaza ederler [67].

Astragalus cinsinin sistematik künyesi aşağıdaki gibidir.

Alem: Plantae

Alt Alem: Trachebionta

st şube: Spermatophyta

şube: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)

Sınıf: Magnoliopsida (İki enekliler)

Alt sınıf: Rosidae

Takım: Fabales

Familya: Fabaceae

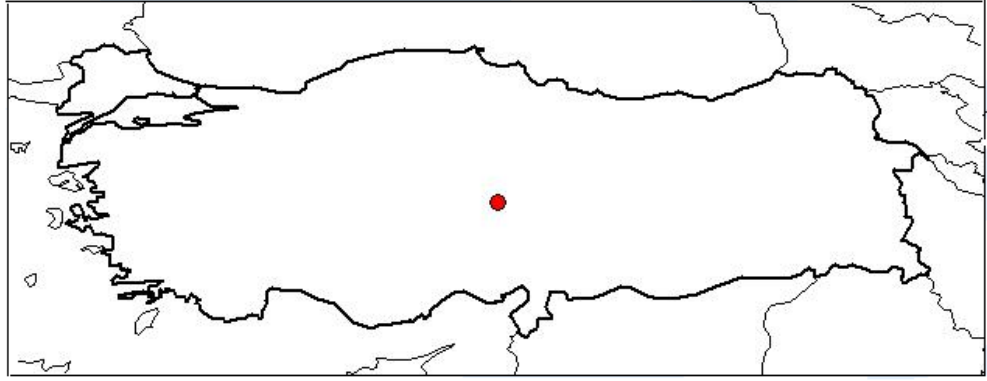
Genus: *Astragalus*

1.4.2.1. *Astragalus argaeus* Boiss. & Balansa (Boissier 1859:53)

Cüce (2-10 cm) yastık biçiminde çok yıllık bir bitkidir. Gövde kısmı çok fazla dallanmış odunsu yapıdadır. Yapraklar 0.5-1.5 cm, yaprakılar 2-6 mm eliptik, basit beyaz pilos tüylü, her yaprakta 3-5 çift yaprakçık vardır, stipuller 2-6 mm, yaprak lanseolat şeklinde de olabilir. Çiçekler 1-3 tane, en alt yaprağın koltuk altı kısmında sessildir. Brakteler 5-6 mm, lanseolat şeklindedir. Kaliks 7-10 mm, tübüler, beyaz pilos tüylü, dişleri 2-4 mm'dir. iek rengi kırmızı çizgili beyaz krem ya da beyaz şeklinde, bayrakçık 11-14 mm, geniş oblong yapısındadır. Meyve ovoid, basit beyaz renkli pilos tüylü, unilokular 3-4 mm genellikle de meyve 2 tohumludur. Habitatları alpin bölgelerdir (3000-3200 m) (şekil 1 ve 2) [62].

Genel yayılışı:Türkiye (End.)

Türkiye'deki yayılışı: Orta Anadolu, Kayseri



Şekil 1. *Astragalus argaeus* Boiss. & Balansa endemik türünün Türkiye, Kayseri [B5]
İlinin, Erciyes dağı, Alpin bölgesinde yayılışı



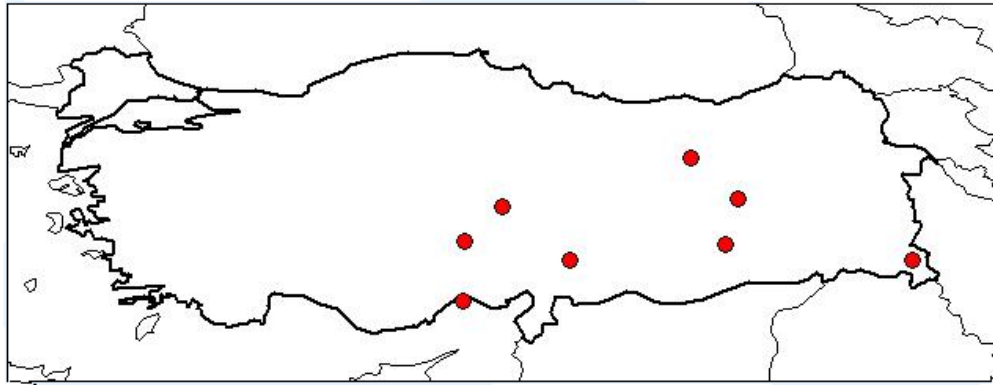
Şekil 2. *Astragalus argaeus* Boiss. & Balansa

1.4.2.2. *Astragalus gummifer* LAB.

Küçük, şemsiye biçiminde, 30 cm kadar boylanan çalı formunda çok yıllık bitkidir. Yaprak uçları dikenli, dikenler 2-5 cm, yapraklar düz tüysüz ya da yoğun şekilde pubescen'dir. Yaprakçıklar 5-8 (-10) mm, eliptik, genellikle mukronat, yaprakçıklar 4-7 çift seklindedir. Stipüller 7-9 mm, triangular-ovate, tüysüz ya da beyaz tüylüdür. Her yaprağın koltuk altında 2-3 çiçek bulunur, Çiçek durumu ovoid ya da oblong, dallanmış, 8-20 çiçeklidir. Brakteler 4-6 (-8) mm, ovate-orbicular, navicular, tüysüz ya da beyaz tüylüdür. Brakteoller yoktur. Kaliks 5-7 mm, tabanda beyaz pilos, kaliks tabanda hemen hemen loblara bölünmüştür. Bayrakçık 10-12 mm'dir. Ormanlar, çayırlar, stepler eğimli tepeler habitatlarıdır (Şekil 3 ve 4) [62].

Genel yayılışı: Suriye, Lübnan

Türkiye'deki yayılışı: Doğu Anadolu



Şekil 3. *Astragalus gummifer* yayılışı Hakkari, Bingöl, Diyarbakır, Erzincan, Iğdır, Kayseri, Kahramanmaraş, Niğde



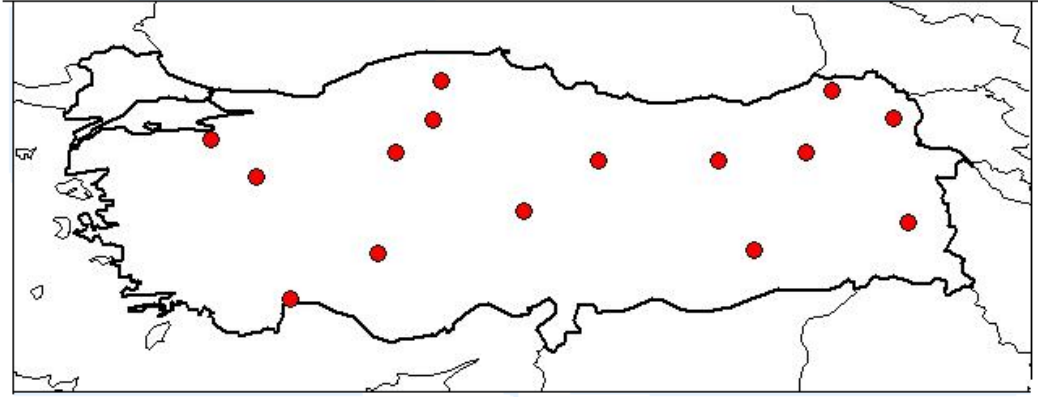
Şekil 4. *Astragalus gummiifer* LAB.

1.4.2.3. *Astragalus microcephalus* WILLD.

Yastık biçiminde çalı formunda çok yıllık bir bitkidir. Yaprak uçlarında dikenler vardır. Dikenler 1,5-2,5 cm boyundadır. Yaprak düz, pubescendir. Yaprakçıklar 5-14 mm, eliptik, beyaz-tomentos, 4-6 çift şeklindedir. Stipüller 6-10 mm, dar bir şekilde lanseolat, tüysüz, siliat, boyunun yarısında birleşmiştir. Çiçekler sesildir. Her yaprağın koltuk altında 2-3 çiçek vardır. Çiçek durumu oblong ya da silindirik, 1-1,5 cm çapında 10-30 çiçeklidir. Brakteleler linear-spatulat, karinat, uç kısımları beyaz tüylüdür. Brakteoller yoktur. Kaliks 5-6 mm, yoğun şekilde pilos tüylü, kaliks tabanda hemen hemen loblara bölünmüştür. Mor renkli dallanmalarla korollalar sarı renklidir. Bayrakçık 8-10 mm'dir. Habitatı steplerdir (Şekil 5 ve 6) [62].

Genel yayılışı: Kafkasya

Türkiye'deki yayılışı: Karasal Anadolu



Şekil 5. *Astragalus microcephalus* yayılışı alanları Kars, Çankırı, Kastamonu, Ankara, Antalya, Artvin, Bursa, Diyarbakır, Erzincan, Erzurum, Kayseri, Konya, Kütahya, Sivas, Van



Şekil 6. *Astragalus microcephalus* WILLD.

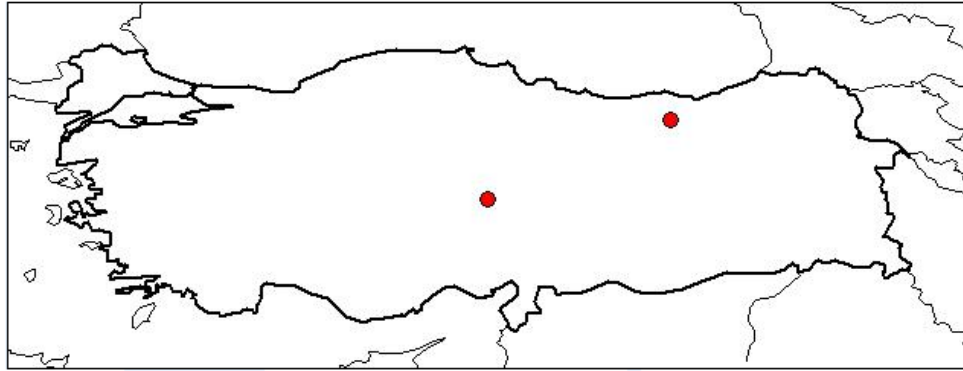
1.4.2.4. *Astragalus acmophyllus* BUNGE

Küçük, şemsiye biçiminde, 20 cm kadar boylanan çalı formunda çok yıllık bitkidir. Yaprak uçları dikenli, dikenler 2-4 cm, düzdür. Yaprakçılar 5-10 mm, dar bir şekilde

eliptik, mukronat, basit pilos tüylü, 5-7 çift şeklindedir. Stipuller 10-13 mm, triangular-lanceolate, siliattır. Çiçekler sessildir. Her yaprağın koltuk altında 2-4 çiçek vardır. Çiçek durumu globosdur. Brakteler 8-9 mm, linear, uç kısımları beyaz tüylüdür. Brakteoller 5 mm, linear, beyaz tüylüdür. Kaliks 12-14 mm, uzun beyaz villos tüy yapısında, 5-7 mm tüplere ayrılmıştır, kaliks dişleri subulattır. Korolla pembe, bayrakçık 15-17 mm'dir. Habitatı kuru kayalıklar ve volkanik yamaçlardır (Şekil 7) [62].

Genel yayılışı: Türkiye (End.)

Türkiye'deki yayılışı: Orta ve Kuzey-Doğu Anadolu



Şekil 7. *Astragalus acmophyllus* yayılış alanı Gümüşhane, Kayseri

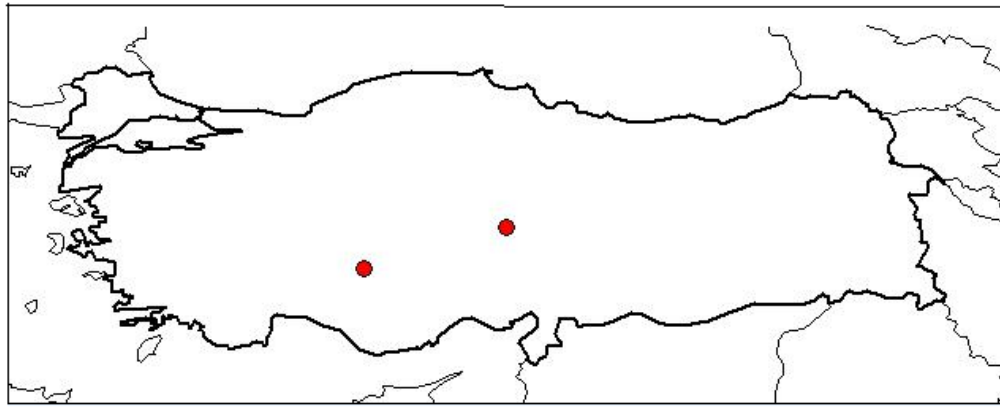
1.4.2.5. *Astragalus talasseus* BOISS. ET BAL.

Birleşik dallı, yastık biçiminde, çalı formunda çok yıllık bir bitkidir. Yaprak uçları dikenli, dikenler 1,5-5 cm düzdür. Yaprakçıklar 4-8 mm, dar bir şekilde eliptik biçiminde, uçları dikenli, seyrek bir şekilde basit villos, 4-5 çift şeklindedir. Stipüller 8-10 mm, ovate-lanceolate, tomentos tüy biçimindedir. Çiçekler sessildir. Her yaprağın koltuk altında 5-6 çiçek vardır. Çiçek durumu oblong ya da silindirik 1,5-2 cm çapında, (20-) 30-50-çiçek şeklindedir. Brakteler 8 mm, orbikular, simbiform, uç kısımlara doğru yoğun bir şekilde tomentos tüyle kaplıdır. Brakteoller 10 mm, linear, yoğun bir şekilde pilos tüyle kaplı, kaliks loblarına benzemektedir. Kaliks 9-10 mm, yoğun bir şekilde

pilos tüyle kaplı, loblar açık bir şekilde 3 mm uzun bir tüp sayesinde tabanda bölünmeye devam etmiştir. Korolla rengi bilinmiyor, bayrakçık 12-15 mm'dir (Şekil 8) [62].

Genel Dağılımı: Türkiye (End.)

Türkiye dağılımı: Orta Anadolu



Şekil 8. *Astragalus talasseus* yayılışı Kayseri

1.4.3. *Astragalus* Cinsinin Kimyasal İçeriği ve Farmakolojik Özelliği

Astragalus cinsi farmakolojik olarak aktif ana iki bileşik ve kimyasal içeriği bakımından son derece önemlidir. İlk grup polisakkaritleri ve saponinleri temsil ederken, ikinci grupta indolizidine alkaloidler, nitro bileşikler, 3- nitropropil glukozidler ve selenyum vardır. Serbest ya da glikozidik formda olan flavonoidler, serbest formda olan pterocarpanlar, glikozidler ve organik asit türevleri de *Astragalus*'un diğer ilginç bileşikleridir [68].

Astragalus köklerinde bilinen biyolojik olarak aktif bileşikler kimyasal bileşiklerin iki ayrı sınıfında temsil edilir. Bunlar polisakkaritler ve saponinlerdir. Polisakkaritlerden ziyade, saponinler *Astragalus* türlerinde biyolojik olarak aktif bileşiklerin etkili sınıfıdır [69]. Saponinler genellikle bitkiler aleminde meydana gelen doğada geniş bir şekilde yayılan uçucu olmayan aktif bileşiklerdir [70–72]. Saponinler aglikonları triterpenoid ya

da sterodial yapıda olan glikozidler olarak meydana gelirler. Molekölün bir ucunda lipofilik (yağda çözülebilir) aglikon bileşiği diğer ucunda hidrofilik (suda çözülebilir) yapıda şekerlerin olması moleküle yüzey gerilimini azaltma özelliği kazandırır. Saponin glikozidleri suda köpürme davranışına sahiptir. Parçalanmaları sonucu bir aglikon ortaya çıkar. Bu aglikon yapısına sapogenin denir. Sapogeninlerin iki tipi vardır. Bunlar steroid ve triterpenoidir. Steroid sapogeninin iki tipi vardır. Bunlarda diosgenin ve hecogenindir. Steroid saponinler klinik uygulamalar için cinsel hormonların ticari üretiminde kullanılır. Örneğin progesteron diosgenin'den türevlenir. Triterpenoid saponinlerde aglikon bir triterpendir. Triterpenoid saponinlerin çoğu aglikonları α -amyrin, β -amyrin ve lupeol ile temsil edilen 3 temel yapısal sınıfın birinden türevlenen pentasiklik bileşiklerdir. Fakat, aynı zamanda tetrasiklik triterpenoid aglikonlar da bulunur [73].

Saponinlerin kanserle ilişkili aktivite, immün uyarıcı etki, immün destekleyici, antihepatoksik, antiplogistic, antialerjik, mollusidal, hemolitik, antifugal, antiviral ve hipoglisemik gibi biyolojik ve farmakolojik aktivitelerin geniş bir spektrumuna sahip olduğu son on yıl boyunca hem *in vitro* hem de *in vivo* deneysel testler ile gösterilmiştir [74].

Astragalus saponinlerinin üzerine yapılan kimyasal çalışmalar sonucu sikloarten ve oleanan tip triterpen glikozidler izole edilmiştir [69]. Sikloartenler sadece fotosentez yapan bitkiler tarafından oluşturulduğundan dolayı küçük moleküler biyodüzenleyiciler arasında özel bir konuma sahiptir. Sikloartenol ve onun az bulunan polar türevleri bitkiler âleminde yaygındır. *Astragalus* cinslerinin bu sınıftaki bileşiklerin en zengin kaynağı olduğu ispatlanmıştır [75].

Türkiye'deki *Astragalus* türleri üzerine araştırmalar sikloarten ve oleanan tip triterpen saponinlerin izolasyonu ile sonuçlanmıştır [76–87]. Önceki çalışmalarda *Astragalus* türlerinden izole edilen sikloarten ve oleanan tip triterpen glikozidler immün uyarıcı [80, 88], anti-protozoal [89], antiviral [90], sitotoksik [91], kardiyotonik [92], yara iyileştirici [94] ve destekleyici özelliğini kapsayan birçok biyolojik aktivite göstermektedir. Özellikle, sikloarten glikozidlerinin solid tümörü (HepG2), kan tümörü (HL-60) ve ilaç direnci tümörü (R-HepG2) kapsayan bir kaç kanser çeşidine karşı antiproliferatif etki gösterdiği rapor edilmiştir [94]. Farmasötikal emulsifiye edici madde ve besin maddesi olarak çok iyi bilinen kitre zımkı, Türkiye'de doğal olarak

yetişen *Astragalus* türlerinden elde edilen ekonomik öneme sahip bir maddedir [69]. Türkiye’de halk tıbbında, bazı *Astragalus* türlerinin suda çözünen ekstraktları yara iyileştirmenin yanı sıra idrar söktürücü, güçlendirici olarak böbrek iltihabı, diyabet, lösemi ve uterus kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır [69].

1.4.4. *Astragalus* cinsi ile yapılan daha önceki çalışmalar

Adıgüzel ve vd. [95] Türkiye’de Erzurum yöresinde yetişen bazı *Astragalus* (*A. ponticus*, *A. aduncus*, *A. microcephalus*, *A. pinetorum*, *A. atrocarpus*, *A. lagurus*, *A. macrocephalus*, *A. erinaceus*, *A. galegiformes*, *A. trichostigma*, *A. bicolor*, *A. psoraloides*, *A. argyroides*) türlerinin toprak üstü ve kök kısımlarının metanol ve hekzan ekstraktlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. *Astragalus* türlerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstraktlarının zayıf serbest radikal süpürücü etki gösterdiğini, toprak üstü kısımlarının hekzan/diklorometan ekstraktlarının ise serbest radikal süpürücü etki göstermediğini, nonpolar ekstraktların linoleik asit oksidasyonu inhibisyon özelliklerinin polar metanolik ekstraktlarından yüksek olduğunu, kök kısımlarının metanol ekstraktlarının antioksidan etkisi az iken *A. microcephalus*, *A. macrocephalus*, *A. erinaceus*, *A. psoraloides* ve *A. argyroides* türlerinin non-polar ekstraktlarının DPPH testinde etkilerinin son derece güçlü olduğunu görmüşlerdir. β -karoten-linoleik asit sistemi içinde, çalışılan *Astragalus* türleri arasında en güçlü inhibisyon etkiyi *A. psoraloides*’den elde edilen ekstraktların gösterdiğini bulmuşlardır. Araştırmacılar ayrıca disk difüzyon yöntemi ile *Astragalus* türlerinin antibakteriyel, antikandidal ve antifungal aktivitelerini çalışmışlardır ve ekstraktların hiçbirinde çalışılan mikroorganizmalar (*Acinetobacter baumannii*-A8, *Bacillus macerans*-A199, *Bacillus megaterium* A59, *Bacillus subtilis* ATCC-6633, *Bacillus subtilis*-A57 125, *Brucella abortus* A77, *Burkholderia cepacia* A225, *Clavibacter michiganense*-A227, *Enterobacter cloacae*-A135, *Enterococcus faecalis*-ATCC-29122, *Escherichia coli*-A1, *Klebsiella pneumoniae*-A137, *Proteus vulgaris*-A161, *Proteus vulgaris*-KUKEM1329, *Pseudomonas aeruginosa*-ATCC9027, *Pseudomonas aeruginosa*-ATCC27859, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* A35 125, *Salmonella enteritidis*-ATCC-13076, *Staphylococcus aureus*- A215, *Staphylococcus aureus*-ATCC-29213, *Staphylococcus epidermis*-A233, *Streptococcus pyogenes*-ATCC-176,

Streptococcus pyogenes-KUKEM-676, *Xanthomonas campestris*-A23, *Candida albicans*-A117, *Alternaria alternate*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus variegator*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium tabacinum*, *Monilia fructicola*, *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia minör*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*) üzerinde antimikrobiyal etkisinin olmadığını bulmuşlardır.

Denizli ve vd. [96], *A. plumosus* var. *krugianus*'dan daha önce bahsedilmeyen 16 sikloarten glikoziti tespit etmişlerdir. Bulunan sikloarten glikozitlerinin insan deri fibroblast WS1 hücrelerinde ilk olarak sitotoksik aktivitesini test etmişlerdir. Bunlardan sadece 13 (siklogaleginosid B) ve 15 (elongatosid) bileşiklerinin sitotoksik aktivite sergilediğini bulmuşlardır. WS1 hücreleri üzerinde hiçbir etki sergilemeyen bileşiklerin antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Bunlardan 1(3-O-[α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-arabinopiranosil-(1 $\rightarrow\rightarrow\rightarrow\rightarrow$ 2)- β -D-glucopiranosil]-25-O- β -D-ksilopiranosil-3 β ,6 α ,16 β ,24(S),25-entahidroksisikloarten) ve 8 (oleifoliosides B) bileşiklerinin bir prooksidan olan t-BOOH, tarafından başlatılan reaktif oksijen türlerinin gelişimini engellediğini bulmuşlardır.

Türker ve Yıldırım'ın [97] Türkiye'deki bazı endemik bitkilerin (*Phlomis russeliana*, *Phlomis armeniaca*, *Astragalus brachypterus*, *Astrantia maxima*, *Ptilostemon afer*, *Senecio castagneanus*, *Echium orientale* ve *Arum euxinum*) antimikrobiyal ve anti-tümör aktivitelerinin değerlendirilmesi ile ilgili yaptığı çalışmada *A. brachypterus*'un bütün ekstrelerinin en yüksek antimikrobiyal ve antitümör aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Keskin [98] *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocepias*'ın gövde ve kök kısımlarından elde edilen hekzan, etil asetat, aseton ve metanol ekstrelerinin toplam fenolik, toplam flavanoid, 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH) radikalini söndürme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, indirgeme gücü ve hidroksi radikalini söndürme aktivitesi gibi antioksidan özellikleri ile antimikrobiyal aktivitelerini araştırmıştır. *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinde en yüksek total fenolik bileşen miktarı, gövdede metanol ($76,1 \pm 0,9$ μ g GAE/mg), kökte ise aseton ekstresinden ($48,02 \pm 1,5$ μ g GAE/mg) elde edilmiştir. Bu oranlar *A. gymnaocepias* için gövde metanol ekstresinde $54,66 \pm 2,25$ μ g GAE/mg ve kök etil asetat ekstresinde ise $35,83 \pm 1,75$ μ g GAE/mg olarak saptanmıştır. *A. diphtherites* var. *diphtherites*'de en yüksek total flavonoid

miktarı; gövdede aseton (42.20 ± 0.46 μg QE /mg), kökte ise etil asetat ekstresinden (4.23 ± 0.26 μg QE /mg) elde edilmiştir. *A. diphtherites* var. *diphtherites* için en yüksek DPPH radikal söndürme aktivitesi, gövdede metanol ($\%79.01 \pm 0.74$) kökte ise aseton ekstresinde ($\%91.55 \pm 0.24$) ölçülmüştür. *A. gymnalocepias* bitkisinde ise gövde metanol ve kök etil asetat ekstresinin sırasıyla $\%86.83 \pm 2.24$ ve $\%84.10 \pm 1.99$ değerine sahip olduğu gözlemiştir. En yüksek indirgeme gücü aktivitesi; *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias* bitkilerinin gövde ve kök kısımları için sırasıyla aseton ve etil asetat ekstresinde elde edilmiştir. *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde kısmından elde edilen metanol ($\%74.35 \pm 1.51$) ve kök kısmından elde edilen hekzan ekstresi ($\%62.42 \pm 0.73$), *A. gymnalocepias* bitkisinde ise gövde ($\%89.63 \pm 0.58$) ve kök ($\%76.41 \pm 0.90$) kısımlarının metanol ekstresinin en yüksek metal şelatlama aktivitesine sahip olduğunu gözlemlemiştir. *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias* bitkilerinin gövde ve kök etil asetat ekstresi en yüksek hidroksi radikali söndürme aktivitesi göstermiştir. *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias* bitkilerinin gövde ve kök kısımlarının hekzan, etil asetat, aseton ve metanol ekstrelerinin *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 11774 standart bakteri suşları ile *Candida albicans* ATCC 10231 mayası üzerine antimikrobiyal aktivitelerini disk difüzyon yöntemi ile test etmiştir. Sadece *A. gymnalocepias* gövde kısmından elde edilen aseton ve metanol ekstrelerinin test edilen mikroorganizmalardan *Streptococcus pyogenes*'in gelişimi üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Güllüce ve ark. [99] Türkiye’de, Erzurum’da farklı lokalitelerden toplanan *Astragalus* türlerinin (*A. atrocarpus*, *A. cristianus*, *A. galegiformis*, *A. macrocephalus*, *A. pinetorum* ve *A. psoroloides*) heksan ekstrelerinin, *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537 ve *Escherichia coli* WP2uvrA test suşları kullanarak, sodyum azid (NaN_3), 9-Aminoakridin (9-AA) ve N-Metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) gibi bilinen mutajenlere karşı antimutajen aktivitelerini değerlendirmişler. *A. atrocarpus*, *A. cristianus*, *A. galegiformis*, *A. macrocephalus*, *A. pinetorum*’dan elde edilen heksan ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarda *S. typhimurium* TA1537’da antimutajenik aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Horo ve vd. [100] *A. hareftae*'den 4 tane sikloarten ve 1 tane oleanane-tip triterpenoid glikozidler ile birlikte 15 tane daha önceden belirlenmiş bileşikleri izole etmişlerdir.

Yalçın ve vd. [101] *A. stereocalyx*'in toprak altı kısımlarından elde ettiği ekstreden 6 tane yeni sikloarten-tip triterpenoid glikozidler ile birlikte 6 tane önceden belirlenmiş sikloarten-tip triterpenoid glikozitleri izole etmişlerdir.

Gülcemal ve vd. [82] *A. aureus*'un metanol ekstresinden 8 tane yeni sikloarten-tip triterpenoid glikozid ile 10 tane daha önceden belirlenmiş toplam 18 tane sikloarten-tip triterpenoid glikozidi izole etmişlerdir.

Gülcemal ve vd. [83] *A. angustifolius*'un metanol ekstresinden 6 tane yeni sikloarten-tip triterpenoid glikozid ile 4 yeni tane oleanane-tip triterpenoid glikozidi izole etmişlerdir. İzole edilmiş bütün bileşiklerin Hela, H-446, HT-29 ve U937 kanser hücrelerine karşı antiproliferatif aktivitesi değerlendirilmiş ve sadece bir bileşiğin Hela ve HT-29 kanser hücrelerine karşı zayıf aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Gülcemal ve vd. [102] *A. tauricolus*'un bütanol ekstresinden 10 tanesi yeni ve diğerleri daha önceden belirlenmiş toplam 22 tane oleanan-tip triterpenoid glikozidi izole etmişlerdir.

Polat ve vd. [85] *A. amblolipsis*'in toprak altı kısımlarından elde ettiği metanol ekstresinden 5 tane yeni sikloarten- tip triterpenoid glikozid ile birlikte bir tane önceden belirlenmiş saponin izole etmişlerdir.

Polat ve vd. [86] *A. wiedemannianus*'un metanol ekstresinden 3 tane yeni sikloarten-tip triterpenoid glikozid ile birlikte 8 tane daha önceden belirlenmiş sekonder metabolitleri izole etmişlerdir.

Savran ve vd. [87] *A. erinaceus* ekstresinden 1 tane yeni sikloarten-tip triterpenoid glikozid ile 5 tane daha önceden belirlenmiş sikloarten-tip triterpenoid glikozid izole etmişlerdir.

Horo ve vd. [84] *A. icmadophilus*'un toprak altı kısımlarından elde ettikleri metanol ekstresinden 6 tane yeni sikloarten tip triterpenoid glikozid ile 2 tane daha önceden belirlenmiş sikloarten-tip triterpenoid glikozid, 5 tane oleanan-tip triterpenoid glikozid ve 1 tane flavonol glikozidi izole etmişlerdir.

Çalış ve vd. [81] *A. campylosema* ssp. *campylosema*'nın toprak altı kısımlarından elde ettiği metanol ekstresinden 4 tane yeni sikloarten-tip triterpenoid glikozid ile birlikte 3 tane önceden belirlenmiş sikloarten-tip triterpenoid glikozid izole etmişlerdir.

Bedir ve vd. [78] *A. trojanus*'un toprak üstü kısımlarından elde ettiği etanol ekstresinden 1 tane yeni sikloarten-tip triterpenoid glikozid ile birlikte astragaloside II, astragaloside IV, astragaloside VII, brachyoside B, brachyoside C ve pterocarpan türevi olan maackiain izole etmişlerdir.

Karabey ve vd. [103] *A. schottianus*'un toprak altı kısımlarından elde ettiği metanol ekstresinden 3 tane yeni sikloarten-tip triterpenoid glikozid izole etmişlerdir.

Avunduk ve vd. [104] *A. flavescens*'in toprak altı kısımlarından elde ettikleri methanol ekstresinden 6 tane yeni triterpen saponin ile 5 tane daha önceden belirlenmiş saponin izole etmişlerdir.

Tabanca ve vd. [105] *A. gilvus*'un toprak altı kısımlarından elde edilen methanol ekstresinden 6 tane sikloarten-tip triterpenoid glikozid izole etmişlerdir.

Djimtombaye *et al.* [106] *A. halicacabus*'un metanol ekstresinden 1 tane yeni sikloarten-tip triterpenoid glikozid ve 1 tane yeni bir glikozid ile birlikte 7 tane önceden belirlenmiş sikloarten-tip triterpenoid glikozid ve maltol glikozidi izole etmişlerdir.

Baştürk [107] *A. strictipinus*'dan dokuz tane saponin elde ederek, izole edilen bileşiklerden üç tanesinin yapısını Siklolotrisektosid (I), Siklolosefalosid (II), ve Astragalosid IV (III) olarak tespit etmiştir.

Polat [108] *A. amblolepis* köklerinden elde edilen metanol ekstresinden beşi yeni olmak üzere 6 sikloarten tip glikozit izole etmiştir. Ayrıca, *A. wiedemannianus* metanol ekstresinden 3 yeni, 8 bilinen olmak üzere 11 saponin izole etmiştir.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEMLER

2.1. Araştırma Materyallerinin Temini

Çalışma kapsamında yer alan bazı *Astragalus* taksonlarının toplanabilmesi için farklı herbaryum kayıtlarından derlenmiş kapsamlı ve ayrıntılı bir adres listesi yapılmıştır. Arazi çalışmaları 2012 yılı Ağustos ayında Kayseri Erciyes ve Ali Dağı bölgesinde yer alan 3 farklı bölgede yapılmıştır.

Arazi çalışmaları sonucu farklı lokalitelerden *Astragalus* cinsine ait 5 tür toplanmıştır. Toplanan *Astragalus* taksonlarına ait bitki örnekleri Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Herbaryum’unda kurutulup muhafaza edilmiştir. Toplanan *Astragalus* taksonlarının tayini Davis [109, 110] ile Güner ve arkadaşlarının [111] eserlerinde yer alan tayin anahtarları esas alınarak yapılmıştır. Toplanan *Astragalus* taksonlarına ait lokalite bilgileri ve toplanma zamanları Tablo 2.1’de verilmiştir.

2.2. Toplanan *Astragalus* Türlerinin Ekstraksiyonu

Toplanan bitki örneklerinin metanol ile ekstraksiyonu yapılmıştır [112]. Çiçeklenme evresinde toplanan *A. argaeus*, *A. gummiifer*, *A. microcephalus*, *A. talasseus* ve *A. acmophyllus* türlerinin toprak altı ve toprak üstü kısımları ayrılmış ve doğal şartlarda oda sıcaklığında kurutulmuştur. *A. argaeus*’un hem toprak üstü hem de toprak altı kısmı kullanılmış iken, diğer türlerin sadece toprak altı kısımları kullanılmıştır. Kurutulmuş

bitki örnekleri temizlenmiş ve öğütülüp toz haline getirildikten sonra 10 g alınarak Soxhlet ekstraksiyon cihazında, 300 ml saf metanol ile 6 saat ekstrakte edilmiştir.

Ekstraksiyon işleminden sonra, solvent-ekstre karışımları bulunan balonlar, Soxhlet düzeninden çıkarılarak, Rotary Evaporatör'e yerleştirilmiştir. Burada da solvent-ekstre karışımlarından, solvent tamamen uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan ekstratlar, hassas terazide tartılarak ekstre verimi hesaplanmıştır. Elde edilen ekstratlar daha sonraki çalışmalar için renkli ve kapaklı cam şişelerde buzdolabında saklanmıştır [113].

Tablo 2.1. Toplanan *Astragalus* cinslerine ait türlerin lokalite bilgileri

Türler	Toplama No	Yer	Zaman
<i>A. argaeus</i>	Aksoy 2463	B5, Kayseri-Erciyes Dağı Çoban ini mevki. 38°32'041" K-35°27'86" D, 3143 m	15.08.2012
<i>A. gummifer</i>	Aksoy 2459	B5, Kayseri-Talas, Ali Dağına çıkarken otlu alanlar. 38°40'20" K-35°33' 854" D, 1340 m	15.08.2012
<i>A. microcephalus</i>	Aksoy 2460	B5, Kayseri-Talas, Ali Dağına çıkarken otlu alanlar. 38°40'20" K-35°33'85" D, 1340 m	15.08.2012
<i>A. talasseus</i>	Aksoy 2458	B5, Kayseri-Talas, Ali Dağına çıkarken otlu alanlar. 38°40'20" K-35°33'85" D, 1340 m	15.08.2012
<i>A. acmophyllus</i>	Aksoy 2464	B5, Kayseri-Erciyes Dağı, Kayak merkezi-eski su kanalından çanağın içe doğru, 38°32'06" K-35°29'02" D, 2850 m	30.08.2012

2.3. Sıvı Kromatografisi (LC-MS) ile Fenolik Bileşik Analizi

Analizlerde Mass Hunter paket programı ile çalışan Agilent 6430 Triple Quadrupole (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) marka elektrosprey iyon kaynaklı kütle spektrometresi ve Agilent-1290 Infinity (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) marka sıvı kromatografi cihazı kullanılmıştır. Çalışma pozitif ve negatif iyon modunda yürütülmüştür. Çalışmada gaz (azot) sıcaklığı 350°C, gaz akış hızı 8 L/dakika, iyonizasyon enerjisi 70 Ev'tur. Çalışmada 50-500 amu arasında kütle spektralları kaydedilmiştir. Çalışma Zorbax SB-C18 (150x2.1 mm, 1.8 µm) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) kolonda, 0,25 ml/dakika akış hızında yürütülmüştür. Gallik asit, sinnapik asit, kaffeik asit, ferulik asit, klorojenik asit, protokateşuik asit, ellajik asit, kateşin hidrat, epikateşin, epigallokateşin gallat, rosmarinik asit, şirinjik asit, kersetin, kersetin-3-O-D-glikozit, mirisetin, floridzin hidrat, rutin, *p*-kumarik asit, *o*-kumarik asit, kamferol, bergapten ve psoralen standartlarından farklı konsantrasyonlarda (0,2-20 mg/l) çözeltiler hazırlanmış ve kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Örnekler 0.45 µm çaplı PVDF (polyvinylidene fluoride) filtreden (Millipore, Bedford, MA, U.S.A) geçirilerek cihaza enjekte edilmiştir. Enjeksiyon hacmi 10 µl'dir. Çalışmada kullanılan mobil faz: Solvent A= (5/95:h/h) Metanol: Su (%0.01 formik asit ve 5 mM amonyum format içeren), Solvent B= Metanol (% 0.01 formik asit ve 5 mM amonyum format içeren)'dür. Kullanılan elüsyon profili şu şekildedir: 0-1 dakika %5 solvent B (sabit akış), 1-3 dakika %30 solvent B, 3-4 dakika %60 solvent B, 4-5 dakika %60 solvent B (sabit akış), 5-6 dakika %70 solvent B, 6-8 dakika %80 solvent B, 8.01 dakika %5 solvent B, 8.01-10 dakika %5 solvent B (sabit akış).

2.4. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi

Ekstrelerdeki toplam fenolik bileşiklerin miktarı Folin- Ciocalteu kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir [112]. Hazırlanan ekstre çözeltilerinden 40 µl deney tüplerine aktarılmıştır. Ekstrelerin üzerine sırasıyla 2,4 ml distile su, 200 µl Folin-Ciocalteu ayıracı, 600 µL sodyum karbonat (%20 Na₂CO₃) ve 760 µl distile su eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakıldıktan

sonra 765 nm dalga boyundaki absorbans değerleri k re karşı okunmuştur. İşlem üç tekrar şeklinde uygulanmıştır. Sonuçlar gallik asitle elde edilen kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır. Çalışılan *Astragalus* cinslerine ait ekstrelerdeki toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri olarak (mg GAE/g ekstre) belirtilmiştir.

2.5. Toplam Flavanoid Miktarının Belirlenmesi

Ekstrelerdeki toplam flavonoid miktarı Alüminyum klorid kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir [114]. Ekstre (0,5 ml) sırasıyla 0,1 ml %10 alüminyum klorür ve 0,1 ml 1 M potasyum asetat ile karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra 415 nm dalga boyundaki absorbans değerleri okunmuştur. Sonuçlar kersetin eşdeğeri olarak (mg QE /g ekstre) belirtilmiştir.

2.6. Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri fosfomolibdenyum yöntemi ile değerlendirilmiştir [115]. Bu yöntem ortamda bulunan Mo (VI)' n ortama konan indirgeyici ajan tarafından Mo (V)'e indirgenmesi sonucu oluşan yeşil rengin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır. Hazırlanan ekstre   zeltielerinden 0.4 ml deney tüplerine aktarılmıştır. Ekstrelerin  zerine 4 ml belirteç çözeltisi eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Karışım 95  C'de 90 dakika inkübasyona bırakılmıştır (Belirteç   zeltisi: 0.6 M sülfirik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat). Oluşan yeşil renkli karışımın absorbans değeri 695 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. İşlem üç tekrar şeklinde uygulanmıştır. Sonuçlar askorbik asitle elde edilen kalibrasyon eğrisinden hesaplanmış ve askorbik asit eşdeğeri (mg AAE/g ekstre) olarak belirtilmiştir.

2.7. β -karoten Beyazlatma Yöntemi

Ekstrelerin β -karoten-linoleik asit emülsiyonun oksidasyonunu inhibe etme yeteneği belirlenmiştir [116]. β - karoten, kloroform (CHCl_3) içerisinde çözülmüştür. Bu çözelti 20 mg linoleik asit ve 200 mg Tween 40 içeren bir beher içine alındı. Kloroform 40°C 'de bir döner buharlaştırıcı kullanılarak uçuruldu. Beher içine 50 ml distile su yavaş yavaş bir emülsiyon oluşturacak şekilde vorteksle karıştırılarak ilave edildi. Emülsiyon, ekstre çözeltisi içeren bir tüp içine eklendi. Karışım 50 °C'de su banyosunda 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda 470 nm'de absorbansı ölçüldü. Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuçlar ekstrelerin β -karoten-linoleik asit emülsiyonun oksidasyonunun % inhibisyonu olarak verilmiştir.

2.8. Antiradikal Aktivitenin Belirlenmesi

Antiradikal aktivite DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemine göre belirlenmiştir [117]. Radikalin karakteristik mor renginde meydana getirilen renk değişikliğinin spektrofotometre ile ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Hazırlanan ekstre çözeltilerinden (0,1–8 mg/ml) alınarak deney tüplerine aktarılmıştır. Üzerlerine 0.1mM DPPH radikalinin metanol ile hazırlanan çözeltisi eklendikten sonra vorteks ile karıştırılıp oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Karışımların absorbans değerleri 517 nm dalga boyunda okunmuştur. Her ekstre için ölçümler üç kez tekrarlanmıştır ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Ekstre çözeltilerinin serbest radikal temizleyici etkisi DPPH absorpsiyonunun % inhibisyonu olarak belirtilmiştir. Bu değer aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

Antiradikal Aktivite (% İnhibisyon) = $100 \times (1 - \frac{\text{Örnek Çözelti Absorbansı}}{\text{Kör Çözelti Absorbansı}})$

Her bir ekstre için % 50 inhibisyona neden olan konsantrasyon (IC_{50}) belirlenmiştir. Aynı işlemler BHT için tekrarlanmıştır.

2.9. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

Hidrojen peroksit radikalini giderme aktivitesi 2-deoksiriboz oksidasyon yöntemine göre yapılmıştır [118]. Her bir bitki ekstresinden farklı konsantrasyonlarda (0,025-1 mg/ml) çözelti hazırlanmıştır. Üzerlerine fosfat tamponu (pH= 7,4) ve 43 mM H₂O₂ eklenmiştir. Karanlıkta 60 dakika bekletildikten sonra 230 nm’de köre karşı absorbans değerleri okunmuştur. Standart olarak BHA, BHT ve gallik asit kullanılmıştır. Ekstre çözeltilerinin hidrojen peroksit radikalini giderme aktivitesi % inhibisyon olarak belirtilmiştir. Bu değer aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ Giderme Aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀=Kontrol absorbans değeri

A₁=Örnek ve standardın absorbans değeri

2.10. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

Metal şelatlama aktivitesi Decker ve Welch’in [119] uyguladıkları yöntemine göre yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda ekstre çözeltisi hazırlanmıştır. Ekstre üzerine 2 mM FeCl₂’den ilave edildi. Reaksiyon 5mM ferrozinden ilave edilmesi ile başlatıldı. Karışım 60 dakika bekletildi. Çözelti vortekste kuvvetli bir şekilde karıştırıldıktan sonra 562 nm’de absorbansı okunmuştur. Standart olarak BHA, BHT, Troloks ve α-tokoferol kullanılmıştır.

$$\text{Metal Şelatlama Aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀= Kontrol absorbans değeri

A₁= Örnek ve standardın absorbans değeri

2.11. Toplam İndirgeyici Güç Tayini

Toplam indirgeme güç tayini Oyaizu yöntemine göre yapılmıştır [120]. Taze hazırlanan stok çözeltilerden 0.5, 1, 2.5, 5 ve 10 ml olacak şekilde alındı ve deney tüplerine aktarıldı. Daha sonra her bir tüpe fosfat tamponu (pH= 6,6) ve %1’lik potasyum

ferrisiyanür $K_3Fe(CN)_6$ ilave edildikten sonra karışım $50\text{ }^{\circ}C$ 'de 20 dakika inkübe edildi. Bu işlemlerden sonra reaksiyon karışımına %10'luk trikloroasetik (TCA) ilave edildi. Karışım santrifüj edildikten sonra üzerine % 0,1'lik $FeCl_3$ ilave edildi ve absorbans 700 nm 'de köre karşı okundu.

2.12. Demir İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP)

Demir iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli (FRAP) Benzie ve Strain [121]'nin uyguladığı yöntemle göre ölçülmüştür. FRAP deneyinde oksidan olarak Fe (III) tuzları $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ kullanılmıştır. $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ antioksidan tarafından $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ 'ye indirgenir. FRAP ayırıcı 10 mM TPTZ çözeltisinin 2.5 mL $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ve 25 mL asetat tamponu'nun karıştırılması ile hazırlanmıştır. FRAP ayırıcı ekstre veya standart olarak kullanılan L-askorbik asit ile karıştırılarak absorbansı 593 nm 'de ölçülmüştür. Ekstrelerin FRAP değerleri (mM/l Fe^{2+}), 1 mM Fe (III)'ün Fe (II)'ye indirgenmesi olarak ifade edilmiştir.

2.13. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi (CUPRAC)

CUPRAC testi Apak ve vd. [122] tarafından yapılan yöntemle göre yapılmıştır. 10 mM $CuCl_2$, 7,5 mM neocuproine ve NH_4Ac tampon çözeltilerinin her birini içeren karışım üzerine farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstre çözeltisi üzerine eklenerek karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra absorbansı 450 nm de okunmuştur.

2.14. Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

Astragalus ekstrelerinin antimikrobiyal aktivite denemeleri agar difüzyon yöntemi ile yapılmıştır [113]. Bu çalışmada test organizması olarak 14 adet bakteri ve 1 adet mayayı içeren toplam 15 mikroorganizma kullanılmıştır. Bu mikroorganizmalar Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nden sağlanmıştır.

Çalışmada *Aeromonas hydrophila* ATCC7965, *Bacillus cereus* RSKK 863, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* O157:H7, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *Listeria monocytogenes* 1/2B, *Mycobacterium smegmatis* RUT, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* BC 3624, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC1223 mayası kullanılmıştır.

Stok kültürlerden, bakteriler Nutrient sıvı besiyerine, mayalar ise Malt ekstrakt sıvı besi yerine aşılanarak, mayalar ve *Y. enterocolitica* 27 °C 'de, diğer mikroorganizmalar ise 35 °C 'de 24 saat inkübasyona bırakılarak üretilmiştir. Sıvı ortamlarda geliştirilen her mikroorganizma kültüründen, tekrar yukarıdaki sıvı ortamları içeren tüplere, %1 oranında bakteri kültürü aşılanarak 18 saat inkübe edilmiştir. Gelişen bu mikroorganizmaların gelişme eğrileri belirlenerek 10^6 - 10^7 kob/ml mikroorganizma içerecek şekilde gerekirse aynı steril sıvı besiyeri ile seyreltilmiştir.

Her mikroorganizma, içerisinde 25 ml steril besiyeri (Bakteriler için Mueller Hinton agar ve mayalar için Malt Ekstrakt agar) içeren 43-45°C sıcaklıkta bulunan erlenmayerdeki besiyerine % 1 oranında aşılanmıştır. Mikroorganizma kültürüyle aşılama yapılmış agarlar, 9 cm 'lik petri plaklarına dökülerek, katılaştıktan sonra 4 °C 'de yaklaşık 1 saat bekletilmiştir. Hazırlanan bu besiyerleri, ekstrelerin ve antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır.

Ekstrelerinin çözücü ile % 1, 2.5, 5 ve 10 konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlanmıştır. Antimikrobiyal etkinin belirlenmesi amacıyla Agar Difüzyon Yöntemi uygulanmıştır. Agar Difüzyon Yöntemi için, bakteri aşılanarak buzdolabında bir saat süreyle bekletilen petri kutularındaki taze besiyerine, korkborla (mantar delici) 4 mm çapında 4 adet kuyucuk açılarak bu kuyucuklara, yukarıda belirtilen yüzdelerde hazırlanmış *Astragalus* ekstrelerinden 50 µl pipetlendikten sonra *Y. enterocolitica* ve maya 27°C 'de, diğer mikroorganizmalar ise 35 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Meydana gelen inhibisyon zonlarının çapı mm cinsinden ölçülmüştür [113].

Bitki ekstrelerinin antimikrobiyal etkisi hakkında fikir vermesi amacıyla pozitif kontrol olarak bakteriler için Tetrasiklin TE-30 (10 mg/ml) ve Oxacillin OX-5 (10 mg/ml) kullanılmıştır. Ayrıca maya için Natamisin (30 mg/ml) Delvocid DMS kullanılmıştır.

2.15. MTT Hücre Sitotoksite Yöntemi

MCF-7 (İnsan göğüs kanser hücre hatları) % 10 fetal sığır serumu, 2 mM glutamin, 100 µg/ml sodyum pürüvat, 0,01 mg/ml insan insülini ve %1 penisillin/streptomisin içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) ortamında inkübe edilmiştir. Fibroblast (sağlıklı epitel hücreleri) % 20 fetal sığır serumu ve 2 mM glutamin içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) ortamında 37 °C'de %5 CO₂'lü inkubatörde inkübe edilmiştir. Hücreler 1x10⁴/kuyucuk yoğunlukta 96'lık pleytlere dağıtılmıştır. Normal büyüme ortamında 24 saat inkübasyondan sonra, hücreler 24, 48 ve 72 saatlik periyotlarda 0,20 ve 0,45 µm fitreler ile sterilize edilmiş farklı konsantrasyonlardaki (10, 25, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml) ekstreler uygulanmıştır. 24, 48 ve 72 saatlik ekstre muamelesinden sonra, her kuyucuktaki hücreler fosfat tamponu (PBS) ile hazırlanmış 10 µl 5 mg/ml MTT (3-(4, 5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazonyumbromid) ile 4 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra, MTT formazan kristalleri her kuyucuğa 100 µl %100 dimetil sülfoksit (DMSO) eklenerek tekrar çözündürülmüştür. Pleytler 5 dak. vorteksde karıştırılmıştır. 560 nm'deki absorbans değeri bir referans dalga boyu olarak 750 nm kullanılarak ELISA okuyucusu (Bio-Tek instruments, Inc., USA) ile belirlenmiştir. Tüm denemeler hücre hatlarından en az üç kültür ile 3 kez tekrarlanmıştır. Veriler kontrolle karşılaştırılarak % canlılık olarak verilmiştir.

2.16. İstatistiksel Analizler

Denemelerden elde edilen verileri değerlendirmek için ortalamalar arasındaki farkları belirlemede Varyans analizi, uygulamalar arasında fark olduğu durumlarda ise Duncan testi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, SPSS 10.0 [123] istatistik programı kullanılarak varyans analizi ile değerlendirilmiştir.

3. BÖLÜM

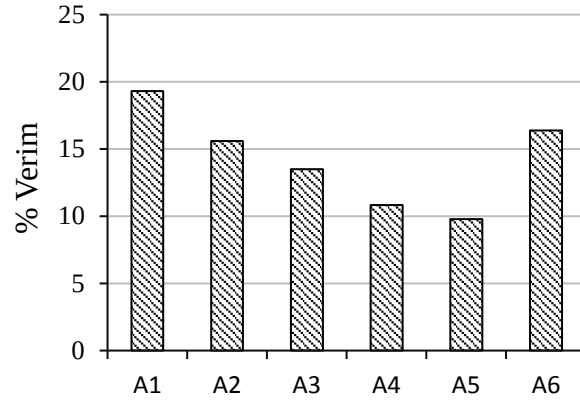
BULGULAR

3.1. Ekstrelerin Verimleri

Yapılan arazi çalışmaları ile Türkiye florasında yer alan kayıtlı *Astragalus* cinsine ait 3 tanesi endemik olmak üzere 5 takson toplanmıştır. Farklı lokalitelerden toplanmış 5 adet örneğin Soxhlet ekstraksiyon cihazında metanol ile ekstreleri çıkartılmıştır. *A. argaeus*'un hem toprak üstü hem de toprak altı kısımlarından ekstreleri çıkartılmış iken, diğer türlerin sadece toprak altı kısımlarından ekstreleri çıkartılmıştır. Rotary evaporatörde kurutulan ekstreler hassas terazi de tartılarak verimleri yüzde cinsinden (g ekstre/100 g bitki) hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 3.1 ve Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Tablo 3.1'de görüldüğü gibi, *A. argaeus*'un toprak altı (T.A) kısımlarından elde edilen ekstrenin en yüksek verime sahipken, *A. talasseus*'un en düşük ekstre verimine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.1. *Astragalus* taksonlarına ait metanollü ekstre verimleri (g ekstre/100 g bitki)

Bitki No	Bitki Adı	Verim (%)
1	<i>A. argaeus</i> (Toprak altı)	19,31
2	<i>A. argaeus</i> (Toprak üstü)	15,60
3	<i>A. gummifer</i>	13,49
4	<i>A. microcephalus</i>	10,84
5	<i>A. talasseus</i>	9,78
6	<i>A. acmophyllus</i>	16,38



A1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T.Ü), **A3:** *A. gummifer*, **A4:** *A. microcephalus*, **A5:** *A. talasseus*, **A6:** *A. acmophyllus*

Şekil 3.1. Ekstrelerin % verim grafiği

3.2. Sıvı Kromatografisi (LC) ile Elde Edilen Fenolik Bileşik Bulguları

Çalışılan ekstrelerin fenolik madde içeriğinin belirlenmesi LC-MS/MS kullanılarak yapılmıştır. Ekstrelerde bulunan fenolik bileşenlerin miktarları ppm ekstre olarak hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 3.2’de verilmiştir.

3.3. Ekstrelerin Toplam Fenolik Madde Miktarı

Çalışılan ekstrelerin Folin-Ciocalteu yöntemi ile ölçülen toplam fenolik madde miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirtilmiş ve sonuçlar Tablo 3.3 ve Şekil 3.2’de gösterilmiştir. Tablo 3.3’de görüldüğü gibi, ekstreler içerisinde *A. microcephalus* ($13,49 \pm 0,0$ mg GAE/g ekstre) en yüksek fenolik madde miktarına sahipken, *A. argaeus* (T.A) ($4,59 \pm 0,2$ mg GAE/ g ekstre) en düşük fenolik madde miktarına sahiptir ($F= 247,802$; $df = 5$; $p = 0.00$).

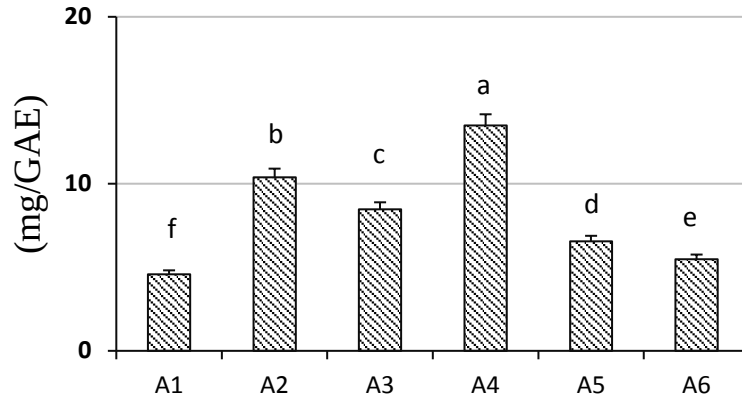
Tablo 3.2. *Astragalus* ekstrelerinde bulunan fenolik bileşikler

Fenolik bileşenler	<i>A. argaeus</i> (T.A)	<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	<i>A. gummifer</i>	<i>A. microcephalus</i>	<i>A. talasseus</i>	<i>A. acmophyllus</i>
Klorogenik asit	-	-	-	-	130	241
Epikateşin	-	-	-	-	101	210
Kateşinhidrat	-	-	-	-	106	201
Rutin	-	-	114,52	-	-	-
Kersetin	274	402,08	-	293,5	-	-
Kamferol	-	202,72	-	316,2	-	-
Kaffeik asit	38,62	224,84	-	-	-	-
Siringik asit	317,9	313	418,08	-	317,1	-
Sinnapik asit	-	-	-	-	186	372
<i>p</i> -kumarik asit	-	-	-	-	-	-
Ferulik asit	359,2	481,4	206,8	327,1	210	380
TOPLAM	989,72	1624,04	739,4	936,8	1050,1	1404

Tablo 3.3. *Astragalus* ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları

Bitki No	Bitkinin Adı	Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g ekstre)
1	<i>A. argaeus</i> (T.A)	4,59 ± 0,2 ^f
2	<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	10,39 ± 0,3 ^b
3	<i>A. gummifer</i>	8,47 ± 0,4 ^c
4	<i>A. microcephalus</i>	13,49 ± 0,0 ^a
5	<i>A. talasseus</i>	6,56 ± 0,6 ^d
6	<i>A. acmophyllus</i>	5,49 ± 0,3 ^e

(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.



(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.

A1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T.Ü),
A3: *A. gummifer*, **A4:** *A. microcephalus*, **A5:**
A. talasseus, **A6:** *A. acmophyllus*

Şekil 3.2. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları

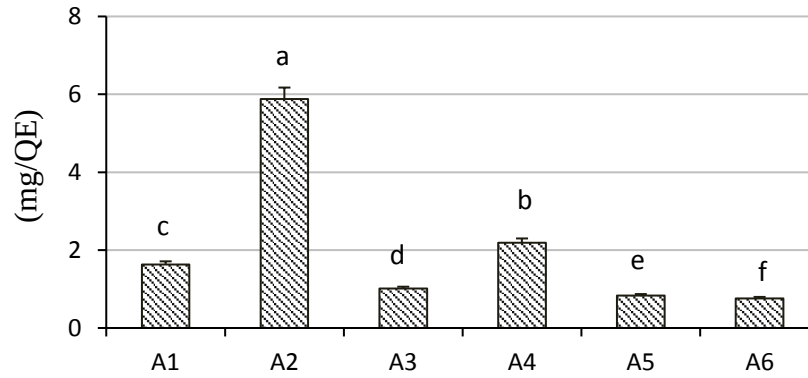
3.4. Ekstrelerin Toplam Flavonoid Madde Miktarı

Çalışılan ekstrelerin alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi ile ölçülen toplam flavonoid madde miktarı kersetin eşdeğeri olarak (mg QE /g ekstre) belirtilmiş ve sonuçlar Tablo 3.4 ve Şekil 3.3’de gösterilmiştir. Tablo 3.4’de görüldüğü gibi, ekstreler içerisinde *A. argaeus* (T.Ü) en yüksek flavonoid madde miktarına ($5,88 \pm 0,1$) sahipken, *A. acmophyllus* ($0,76 \pm 0,0$)’un en düşük flavonoid madde miktarına sahip olduğu tespit edilmiştir ($F= 5846,167$; $df =5$; $p = 0.00$).

Tablo 3.4. Ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarları

Bitki No	Bitkinin Adı	Flavonoid Madde Miktarı (mg QE/ g ekstre)
1	<i>A. argaeus</i> (T.A)	1,63 ± 0,1 ^c
2	<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	5,88 ± 0,1 ^a
3	<i>A. gummifer</i>	1,01 ± 0,0 ^d
4	<i>A. microcephalus</i>	2,19 ± 0,0 ^b
5	<i>A. talasseus</i>	0,83 ± 0,0 ^e
6	<i>A. acmophyllus</i>	0,76 ± 0,0 ^f

(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.



(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.

1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T.Ü), **A3:** *A. gummifer*, **A4:** *A. microcephalus*, **A5:** *A. talasseus*, **A6:** *A. acmophyllus*

Şekil 3.3. Ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarları

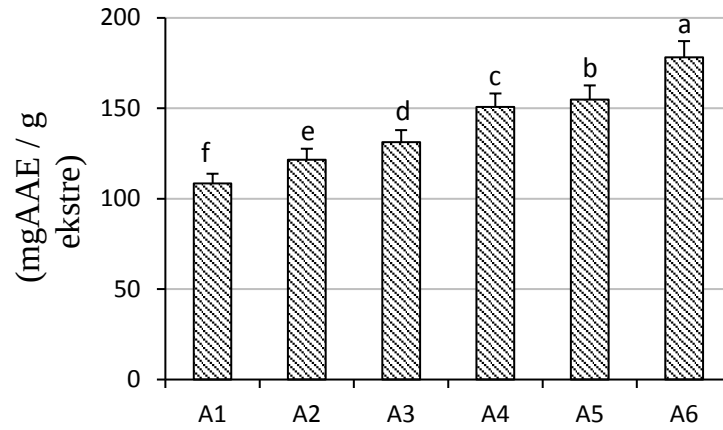
3.5. Ekstrelerin Toplam Antioksidan Aktiviteleri

Çalışılan ekstrelerin fosfomolibdenyum yöntemi ile ölçülen toplam antioksidan aktivitesi askorbik asit eşdeğeri (mg AAE/g ekstre) olarak belirtilmiş ve sonuçlar Tablo 3.5 ve Şekil 3.4’de gösterilmiştir. Tablo 3.5’de görüldüğü gibi, ekstreler içerisinde *A. acmophyllus* ($178,25 \pm 1,5$ mg AAE/g ekstre) en yüksek toplam antioksidan aktiviteye sahip iken, *A. argaeus* (T.A)’un ($108,40 \pm 0,2$ mg AAE/g ekstre) en düşük toplam antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir ($F=1729,483$; $df = 5$; $p = 0.00$).

Tablo 3.5. Ekstrelerin toplam antioksidan aktiviteleri

Bitki No	Bitkinin Adı	Antioksidan aktivite (mg AAE/ g ekstre)
1	<i>A. argaeus</i> (T.A)	$108,40 \pm 0,2^f$
2	<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	$121,56 \pm 1,8^e$
3	<i>A. gummifer</i>	$131,37 \pm 0,2^d$
4	<i>A. microcephalus</i>	$150,67 \pm 0,4^c$
5	<i>A. talasseus</i>	$154,91 \pm 1,0^b$
6	<i>A. acmophyllus</i>	$178,25 \pm 1,5^a$

(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.



(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.

A1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T.Ü), **A3:** *A. gummifer*, **A4:** *A. microcephalus*, **A5:** *A. talasseus*, **A6:** *A. acmophyllus*

Şekil 3.4. Ekstrelerin toplam antioksidan aktiviteleri

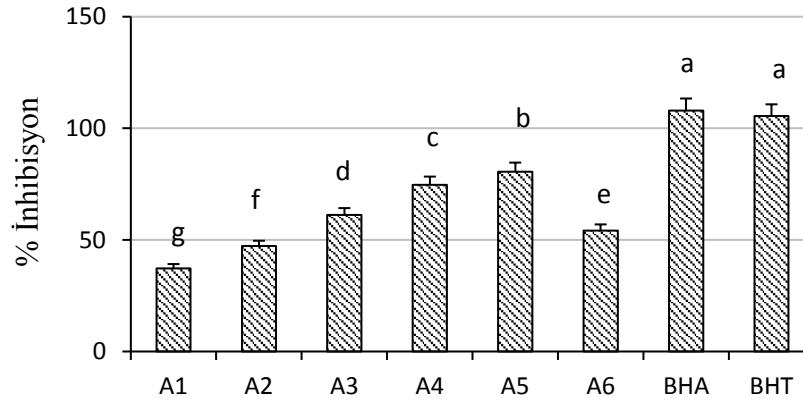
3.6. Ekstrelerin β - Karoten-Linoleik Asit Oksidasyonu İnhibe Etme Aktiviteleri

Çalışılan ekstrelerin β -karoten-linoleik asit emülsiyonunun oksidasyonunda neden olduğu % inhibisyon değerleri Tablo 3.6 ve Şekil 3.5’da gösterilmiştir. Tablo 3.6’da görüldüğü gibi, ekstreler içerisinde *A. talasseus* en yüksek aktiviteye (% 80,60 $\pm$ 2,58) sahipken, *A. argaeus* (T.A) (% 37,31 $\pm$ 0,0)’un en düşük aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ekstrelerin % inhibisyon değerleri BHA (% 107,96 $\pm$ 1,72) ve BHT (%105,47 $\pm$ 2,28)’nin % inhibisyon değerlerinden daha düşüktür ($F=459,792$; $df = 7$; $p = 0.00$).

Tablo 3.6. Ekstrelerin β - Karoten-Linoleik asit yöntemi ile elde edilen % İnhibisyon değerleri

Bitki No	Bitkinin Adı	% İnhibisyon
1	<i>A. argaeus</i> (T.A)	37,31 $\pm$ 0,0 ^g
2	<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	47,26 $\pm$ 1,72 ^f
3	<i>A. gummifer</i>	61,19 $\pm$ 2,99 ^d
4	<i>A. microcephalus</i>	74,63 $\pm$ 2,99 ^c
5	<i>A. talasseus</i>	80,60 $\pm$ 2,58 ^b
6	<i>A. acmophyllus</i>	54,23 $\pm$ 0,86 ^e
7	BHA	107,96 $\pm$ 1,72 ^a
8	BHT	105,47 $\pm$ 2,28 ^a

(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.



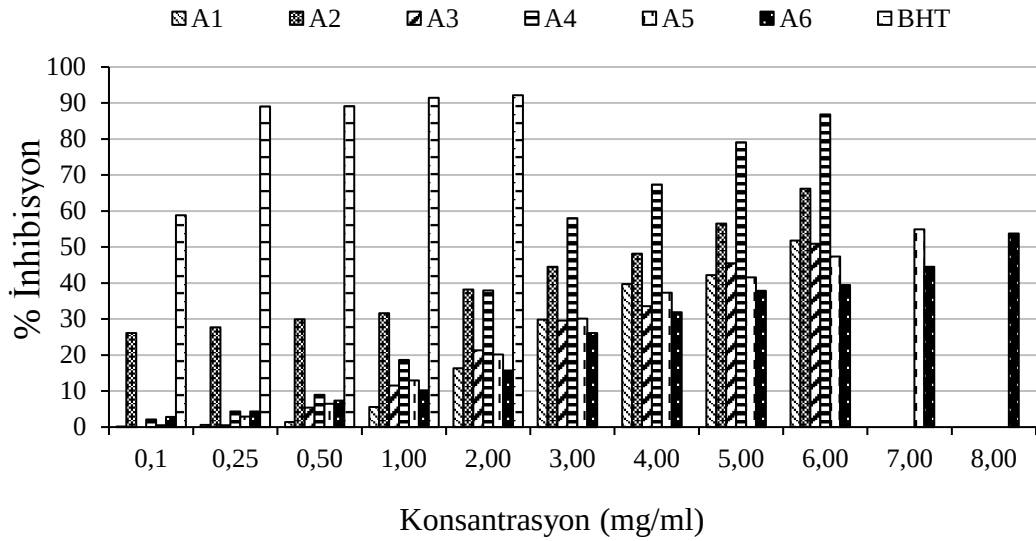
(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.

A1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T.Ü), **A3:** *A. gummifer*,
A4: *A. microcephalus*, **A5:** *A. talasseus*, **A6:** *A. acmophyllus*,
BHA: Bütillenmiş hidroksi anisol, **BHT:** Bütillenmiş hidroksi tolüen

Şekil 3.5. Ekstrelerin β - Karoten-linoleik asit yöntemi ile elde edilen % inhibisyon değerleri

3.7. Ekstrelerin Antiradikal Aktiviteleri

Çalışılan ekstrelerin antiradikal aktiviteleri DPPH yöntemi ile ölçülmüş, sonuçlar % inhibisyon olarak belirtilmiştir. Ekstrelerin % inhibisyon değerleri Tablo 3.7 ve Şekil 3.6'de gösterilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki % inhibisyon değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. Elde edilen değerler standart antioksidan BHT'nin değerleri ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir.



A1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T.Ü), **A3:** *A. gummifer*,
A4: *A. microcephalus*, **A5:** *A. talasseus*, **A6:** *A. acmophyllus*,
BHT: Bütillenmiş hidroksi toluen

Şekil 3.6. Ekstrelerin DPPH yöntemi ile elde edilen antiradikal aktiviteleri

Tablo 3.7. Ekstrelerin antiradikal aktiviteleri

Bitki adı	Konsantrasyon (mg/ml)								
	0,1	0,25	0,50	1	2	3	4	5	6
<i>A. argaeus</i> (T.A)	0,14 ± 0,0	0,60 ± 0,2	1,43 ± 0,2	5,61 ± 0,4	16,32 ± 0,3	29,87 ± 0,9	39,70 ± 0,6	42,18 ± 1,1	51,83 ± 0,0
<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	26,14 ± 0,1	27,70 ± 0,1	29,98 ± 0,3	31,61 ± 0,4	38,25 ± 0,1	44,53 ± 0,3	48,17 ± 0,2	56,55 ± 0,2	66,20 ± 0,6
<i>A. gummiifer</i>	-	0,52 ± 0,1	5,39 ± 0,3	11,52 ± 0,1	21,30 ± 0,2	29,56 ± 0,2	33,57 ± 0,6	45,47 ± 0,4	50,90 ± 0,1
<i>A.microcephalus</i>	2,16 ± 0,1	4,32 ± 0,2	8,95 ± 0,1	18,62 ± 0,4	37,97 ± 0,4	58,06 ± 1,0	67,34 ± 0,6	79,12 ± 0,9	86,82 ± 0,1
<i>A. talasseus</i>	0,49 ± 0,2	2,88 ± 0,2	6,51 ± 0,6	12,94 ± 0,2	20,17 ± 0,2	30,08 ± 0,0	37,29 ± 0,5	41,62 ± 0,3	47,36 ± 0,1
<i>A. acmophyllus</i>	2,80 ± 0,15	4,34 ± 0,37	7,40 ± 0,07	10,19 ± 0,72	15,74 ± 0,34	26,15 ± 0,88	31,87 ± 0,56	37,81 ± 0,22	39,44 ± 0,83
BHT	58,8 ± 0,7	89,01 ± 0,1	89,13 ± 0,3	91,47 ± 0,2	92,15 ± 0,1	-	-	-	-

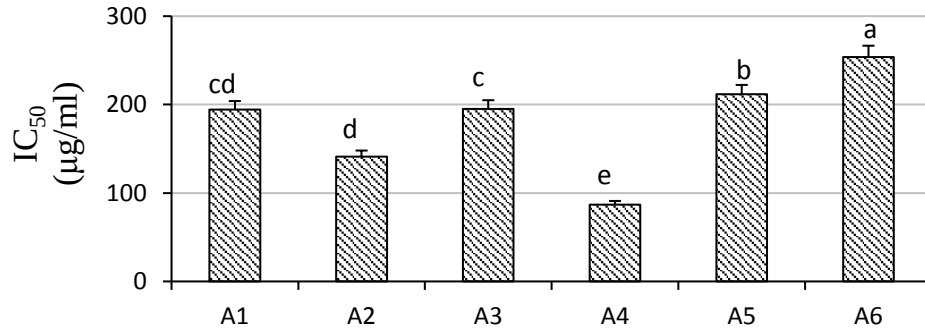
3.8. Ekstrelerin DPPH Yöntemine ile Elde Edilen IC₅₀ Değerleri

Her bir ekstre için konsantrasyonlara karşı yüzde inhibisyon değerlerinin yer aldığı grafik çizilerek % 50 inhibisyona neden olan konsantrasyon (IC₅₀) belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 3.8 ve Şekil 3.7’de verilmiştir. Çalışılan ekstreler içerisinde *A. acmophyllus* (IC₅₀= 253,88 µg/ml) en düşük antiradikal aktiviteye sahip iken, *A. microcephalus* (IC₅₀= 86,67 µg/ml) en yüksek antiradikal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (F= 10466,446; df=5; p = 0.00).

Tablo 3.8. Ekstrelerin DPPH yöntemi ile belirlenen IC₅₀ değerleri

Bitki No	Bitkinin Adı	IC ₅₀ (µg/ml)
1	<i>A. argaeus</i> (T.A)	194,28 ^{cd}
2	<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	140,96 ^d
3	<i>A. gummiifer</i>	195,19 ^c
4	<i>A. microcephalus</i>	86,67 ^e
5	<i>A. talasseus</i>	211,66 ^b
6	<i>A. acmophyllus</i>	253,88 ^a

(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.



A1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T.Ü), **A3:** *A. gummiifer*, **A4:** *A. microcephalus*, **A5:** *A. talasseus*, **A6:** *A. acmophyllus*

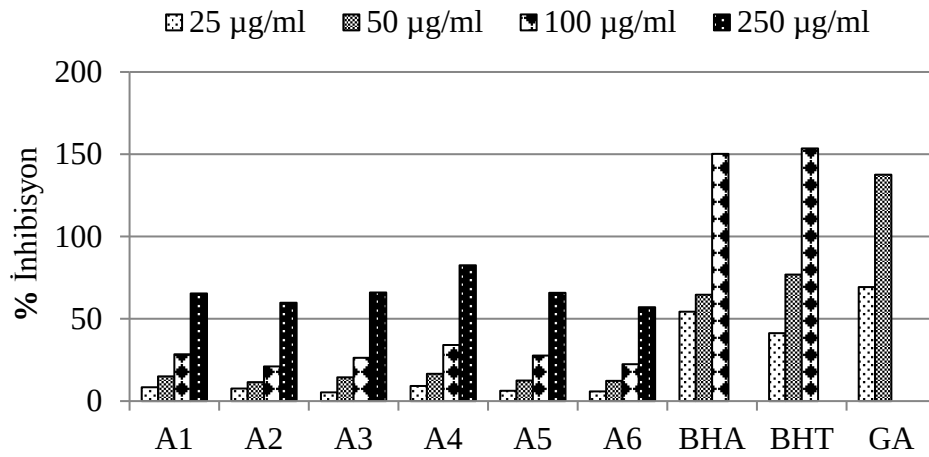
Şekil 3.7. Ekstrelerin DPPH yöntemi ile belirlenen IC₅₀ değerleri

3.9. Ekstrelerin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

Çalışılan ekstrelerin hidrojen peroksit giderme aktivitesi ölçülmüş, sonuçlar % inhibisyon olarak belirtilmiştir ve sentetik antioksidan olan BHT, BHA ve Gallik asit'in % inhibisyon değerleri ile karşılaştırılmıştır. Ekstrelerin % inhibisyon değerleri Tablo 3.9 ve Şekil 3.8'da gösterilmiştir. Aktivitenin konsantrasyona bağlı olarak arttığı gözlenmiştir.

Tablo 3.9. *Astragalus* örneklerinin hidrojen peroksit giderme aktivitesi

Bitki adı	Konsantrasyon (µg/ml)			
	25	50	100	250
<i>A. argaeus</i> (T.A)	8,35 ± 0,3	14,97 ± 1,1	28,55 ± 0,6	65,44 ± 0,5
<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	7,61 ± 0,5	11,6 ± 0,5	21,09 ± 0,2	59,7 ± 0,4
<i>A. gummifer</i>	5,38 ± 0,4	14,4 ± 0,4	26,3 ± 0,2	66,08 ± 0,6
<i>A. microcephalus</i>	9,11 ± 0,8	16,64 ± 0,3	34,04 ± 0,0	82,48 ± 0,3
<i>A. talasseus</i>	6,29 ± 0,1	12,46 ± 0,3	27,59 ± 0,3	65,82 ± 0,1
<i>A. acmophyllus</i>	5,85 ± 0,2	12,3 ± 0,2	22,42 ± 0,2	56,96 ± 0,7
BHA	54,41	64,73	150,18	-
BHT	41,35	76,97	153,47	-
GA	69,32	137,61	-	-

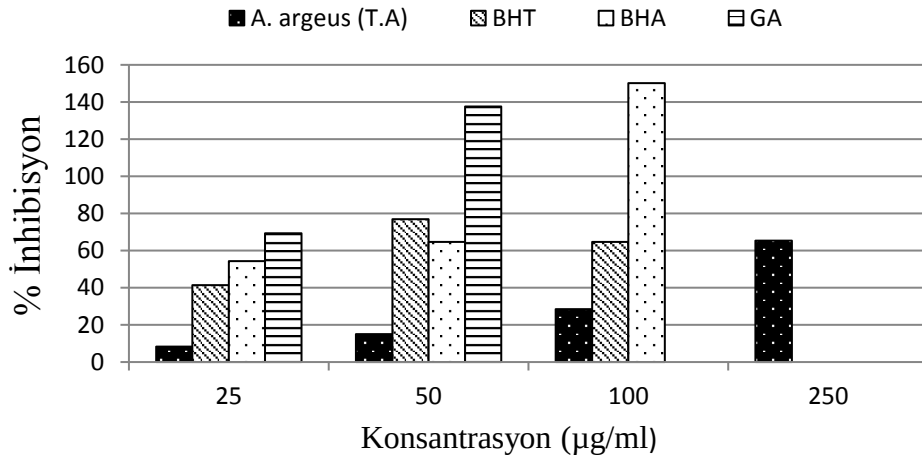


A1: *A. argaeus* (T.A), A2: *A. argaeus* (T.Ü), A3: *A. gummifer*, A4: *A. microcephalus*, A5: *A. talasseus*, A6: *A. acmophyllus*

Şekil 3.8. Ekstrelerine ait hidrojen peroksit giderme aktivitesi

3.9.1. *A. argaeus* (T.A)'a Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

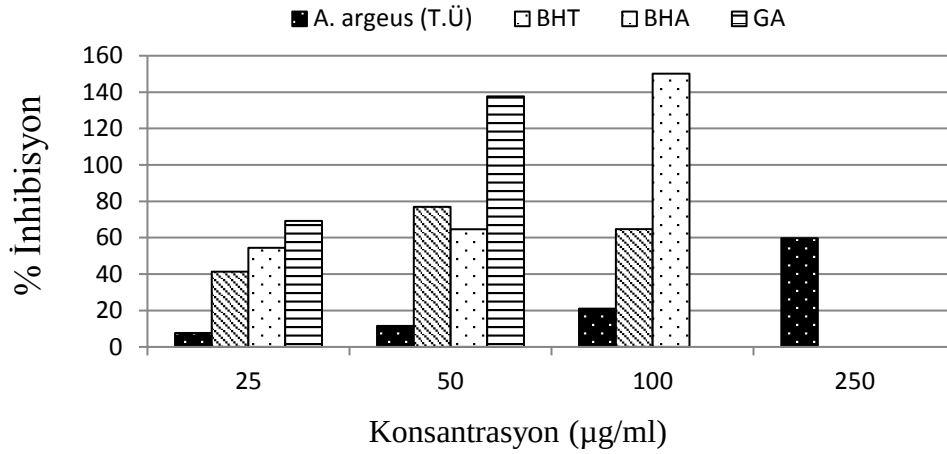
Şekil 3.9'da görüldüğü gibi 25, 50, 100 ve 250 µg/ml konsantrasyonlarında *A. argaeus* (T.A)'un inhibisyon değerleri sırasıyla % 8.35, % 14.97, % 28.55 ve % 65.44 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.9. *A. argaeus* (T.A)'a ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi

3.9.2. *A. argaeus* (T.Ü)'a Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

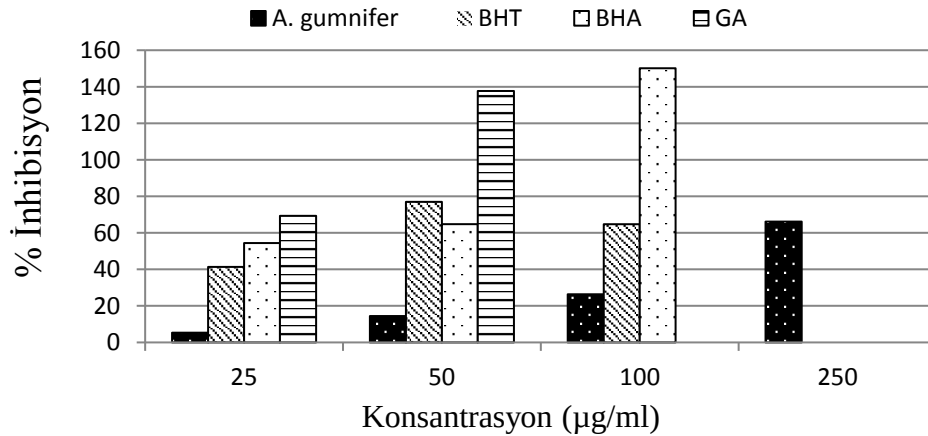
Şekil 3.10'da görüldüğü gibi 25, 50, 100 ve 250 µg/ml konsantrasyonlarında *A. argaeus* (T.Ü)'un inhibisyon değerleri sırasıyla % 7.61, % 11.6, % 21.09 ve % 59.7 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.10. *A. argeus* (T.Ü)'a ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi

3.9.3. *A. gummiifer*'e Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

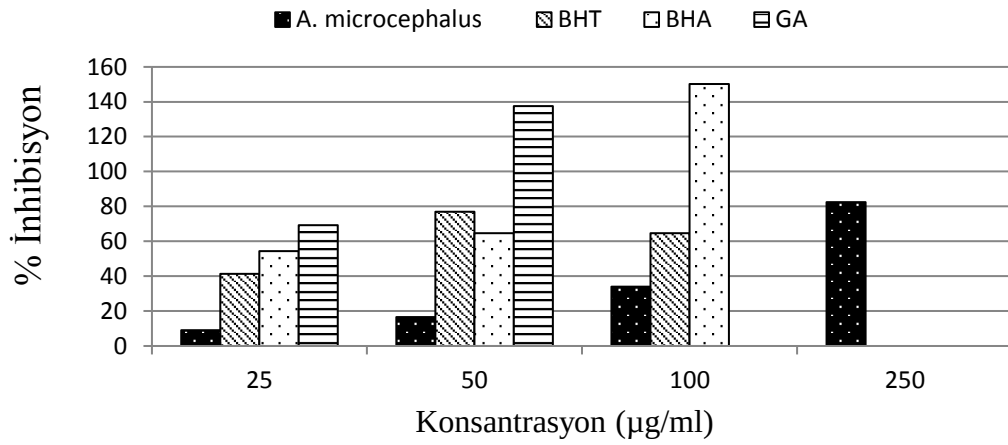
Şekil 3.11'de görüldüğü gibi 25, 50, 100 ve 250 µg/ml konsantrasyonlarında *A. gummiifer*'in inhibisyon değerleri sırasıyla % 5.38, % 14.4, % 26.3 ve % 66.08 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.11. *A. gummiifer*'e ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi

3.9.4. *A. microcephalus*'a Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

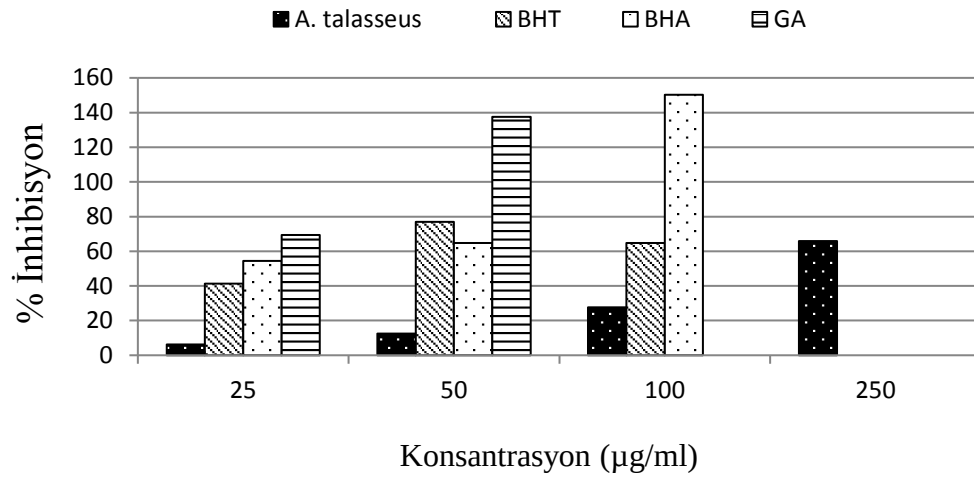
Şekil 3.12'de görüldüğü gibi 25, 50, 100 ve 250 µg/ml konsantrasyonlarında *A. microcephalus*'un inhibisyon değerleri sırasıyla % 9.11, % 16.64, %3 4.04 ve % 82.48 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.12. *A. microcephalus*'a ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi

3.9.5. *A. talasseus*'a Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

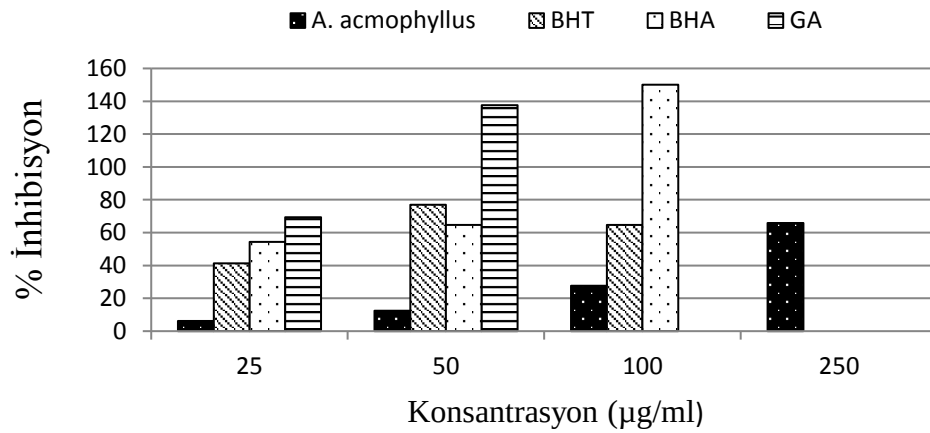
Şekil 3.13'de görüldüğü gibi 25, 50, 100 ve 250 µg/ml konsantrasyonlarında *A. talasseus*'un inhibisyon değerleri sırasıyla % 6.29, % 12.46, % 27.59 ve % 65.82 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.13. *A. talasseus*'a ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi

3.9.6. *A. acmophyllus*'a Ait Ekstrenin Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

Şekil 3.14'de görüldüğü gibi 25, 50, 100 ve 250 µg/ml konsantrasyonlarında *A. acmophyllus*'un inhibisyon değerleri sırasıyla % 5.85, % 12.3, % 22.42 ve % 56.96 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.14. *A. acmophyllusa*'a ait ekstrenin hidrojen peroksit giderme aktivitesi

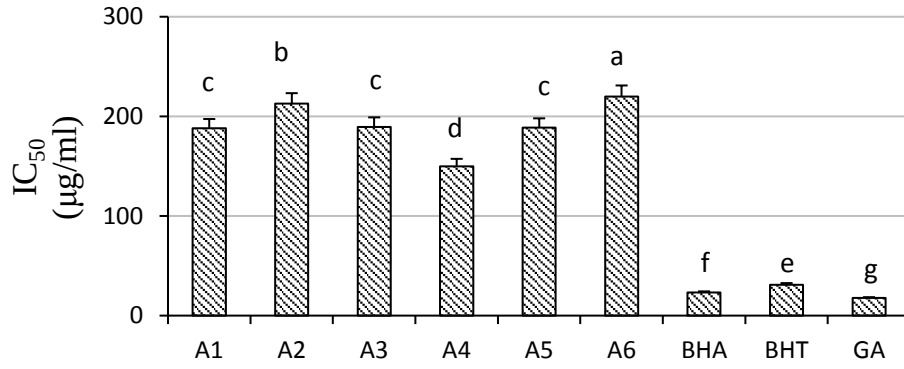
3.10. Ekstrelerin Hidrojen Peroksit Giderme Yöntemi ile Elde Edilen IC₅₀ Değerleri

Her bir ekstre için konsantrasyonlara karşı yüzde inhibisyon değerlerinin yer aldığı grafik çizilerek % 50 inhibisyona neden olan konsantrasyon (IC₅₀) belirlenmiş, değerler Tablo 3.10 ve Şekil 3.15’de verilmiştir. Çalışılan ekstreler içerisinde *A. acmophyllus* (IC₅₀ = 220,03 µg/ml) en düşük hidrojen peroksit giderme aktivitesine sahip iken, *A. microcephalus* (IC₅₀= 149,86 µg/ml) en yüksek hidrojen peroksit giderme aktivitesine sahiptir. Çalışılan ekstrelerin aktivitelerinin standartlardan çok daha düşük olduğu tespit edilmiştir. (F= 12896,779; df=8; p = 0.00).

Tablo 3.10. Ekstrelerin hidrojen peroksit giderme yöntemi ile belirlenen IC₅₀ değerleri

Bitki No	Bitkinin Adı	IC ₅₀ (µg/ml)
1	<i>A. argaeus</i> (T.A)	187,93 ^{cd}
2	<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	212,65 ^b
3	<i>A. gummiifer</i>	189,51 ^c
4	<i>A. microcephalus</i>	149,86 ^d
5	<i>A. talasseus</i>	188,57 ^{cd}
6	<i>A. acmophyllus</i>	220,03 ^a
7	BHT	31,09 ^e
8	BHA	23,16 ^f
9	Gallik asit	17,62 ^g

(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.



(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.

A1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T.Ü), **A3:** *A. gummifer*, **A4:** *A. microcephalus*, **A5:** *A. talasseus*, **A6:** *A. acmophyllus*, **BHT:** Bütillenmiş hidroksi toluen, **GA:** Gallik asit

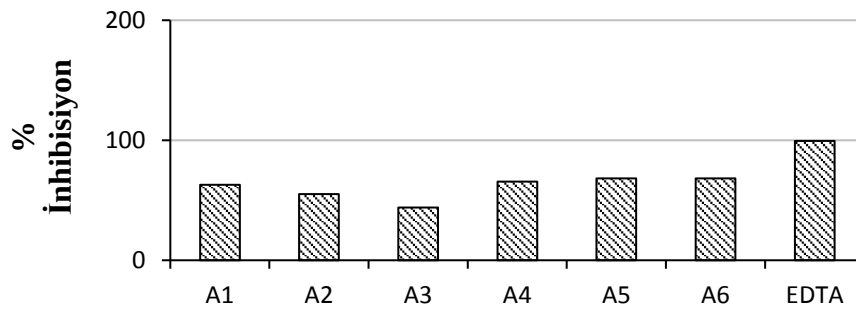
Şekil 3.15. Ekstrelerin hidrojen peroksit giderme yöntemi ile elde edilen IC₅₀ değeri

3.11. Ekstrelerin Metal Şelatlama Aktiviteleri

Çalışılan ekstrelerin metal şelatlama aktivitesi 5 mg/ml konsantrasyonda ölçülmüş, sonuçlar % İnhibisyon olarak belirtilmiştir. *Astragalus* ekstrelerine ait % inhibisyon değerleri Tablo 3.11 ve Şekil 3.16’da gösterilmiştir. Ekstreler içerisinde *A. acmophyllus* en yüksek aktiviteye (%68,35 ± 0,8) sahipken, *A. gummifer* (%43,88 ± 0,4)’in en düşük aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.11. Ekstrelerin metal şelatlama aktivitesi

Bitki No	Bitkinin Adı	% İnhibisyon
1	<i>A. argaeus</i> (T.A)	62,79 $\pm$ 1,2
2	<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	55,16 $\pm$ 1,3
3	<i>A. gummiifer</i>	43,88 $\pm$ 0,4
4	<i>A. microcephalus</i>	65,47 $\pm$ 0,1
5	<i>A. talasseus</i>	68,10 $\pm$ 1,2
6	<i>A. acmophyllus</i>	68,35 $\pm$ 0,8
7	EDTA	99,45 $\pm$ 0,0



A1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T.Ü), **A3:** *A. gummiifer*, **A4:** *A. microcephalus*, **A5:** *A. talasseus*, **A6:** *A. acmophyllus*, **EDTA:** Etilen daimin tetra asetik asit

Şekil 3.16. Ekstrelerin metal şelatlama aktivitesi

3.12. Ekstrelerin İndirgeyici Gücü

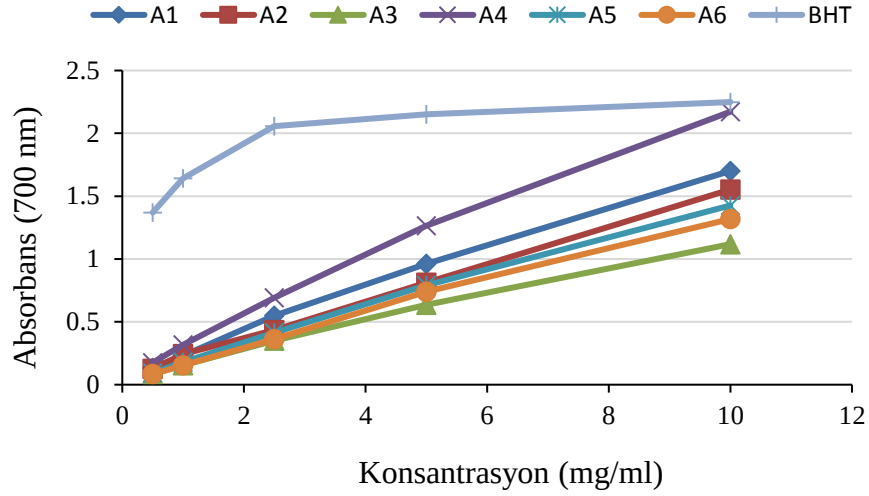
Antioksidan çalışmalarında kullanılan bu biyoanalitik metotta, test çözeltisinin rengi ortamda bulunan antioksidan maddelerin indirgeme aktivitelerinden dolayı farklı tonlardaki yeşil renge dönüşmektedir [124]. Sonuçlar 700 nm’de elde edilen absorbans olarak Tablo 3.12 ve Şekil 3.17’de gösterilmiştir. Elde edilen değerler standart

antioksidan BHT'nin değerleri ile karřılařtırılmalđ olarak verilmiştir. Tablo 3.12'de görüldüğü gibi, 10 mg/ml'de çalışılan bitki ekstreleri arasında *A. microcephalus* (2,172) en yüksek absorbens değerine sahipken, *A. gummifer* en düşük absorbens (1,118) değerine sahiptir. Artan absorbens değeri artan antioksidan aktiviteyi göstermektedir. *A. microcephalus*'un bu konsantrasyondaki indirgeyici gücü BHT'ninkine oldukça yakındır.

Tablo 3.12. Ekstrelerin indirgeyici g   yöntemi ile elde edilen absorbens değerleri

mg/ml	A1	A2	A3	A4	A5	A6	BHT
0,5	0,133	0,126	0,085	0,175	0,094	0,084	1,37
1	0,231	0,242	0,153	0,318	0,179	0,155	1,641
2,5	0,549	0,435	0,351	0,691	0,415	0,363	2,056
5	0,962	0,811	0,636	1,264	0,79	0,741	2,152
10	1,701	1,553	1,118	2,172	1,426	1,318	2,249

A1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T. ), **A3:** *A. gummifer*, **A4:** *A. microcephalus*, **A5:** *A. talasseus*, **A6:** *A. acmophyllus*, **BHT:** Bütillenmiş hidroksi toluen.



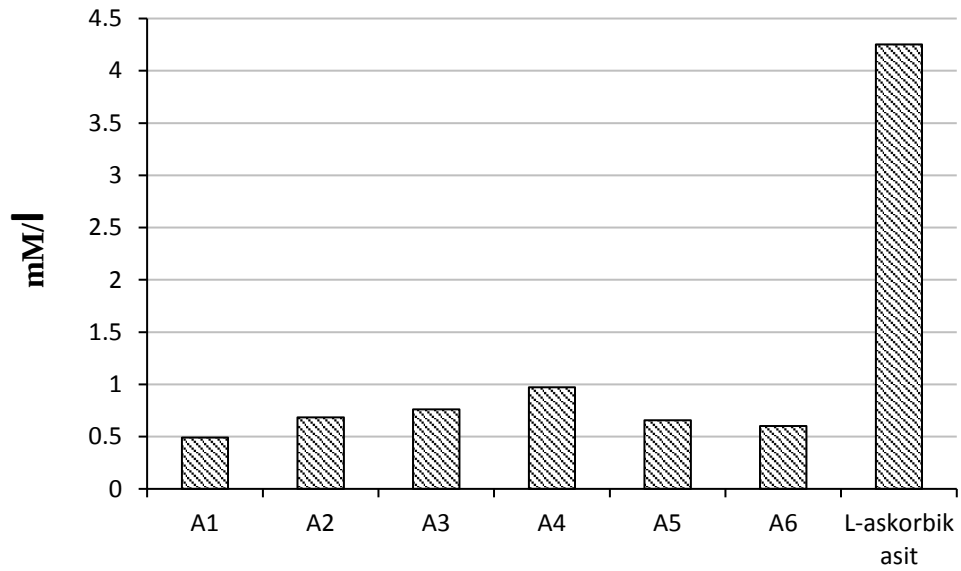
Şekil 3.17. Ekstrelerin indirgeyici güç yöntemi ile elde edilen absorbans değerleri

3.13. Demir İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP)

Bu metot genellikle antioksidanların varlığında ferric demirini (Fe^{3+}) ferrous demire (Fe^{2+}) indirgemesini ölçmek için kullanılır [125]. Sonuçlar mM/l olarak Tablo 3.13 ve Şekil 3.18’de gösterilmiştir. Elde edilen değerler standart olarak L-askorbik asit’in değeri ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Tablo 3.13’de görüldüğü gibi, çalışılan bitki ekstreleri arasında *A. microcephalus* (0.97 mM/l) en yüksek indirgeyici güce sahipken, *A. argaeus* (T.A) ise en düşük (0.49 mM/l) aktiviteye sahiptir. Ekstrelerin demir iyonu indirgeyici gücü standart L- askorbik asitin değerinden oldukça düşüktür.

Tablo 3.13. Ekstrelerin demir iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli

Bitkinin Adı	FRAP (mM/l)
<i>A. argaeus</i> (T.A)	0,49
<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	0,68
<i>A. gummifer</i>	0,76
<i>A. microcephalus</i>	0,97
<i>A. talasseus</i>	0,66
<i>A. acmophyllus</i>	0,60
L-askorbik asit	4,25



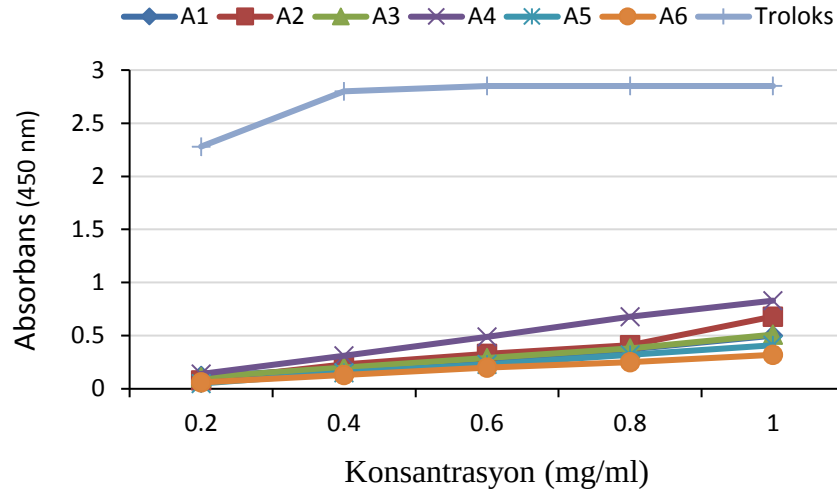
Şekil 3.18. Ekstrelerin demir iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli

3.14. CUPRAC Yöntemi Sonuçları

Çalışmada kullanılan ekstrelerin CUPRAC yöntemi ile bakır(II)-neokuproin kompleksini bakır(I)-neokuproin kompleksine indirgeme aktivitesi ölçülmüştür [122]. Oluşan kompleks 450 nm’de maksimum absorbans değerini göstermektedir. Sonuçlar çeşitli konsantrasyonlarda 450 nm’de okunan absorbans değerleri olarak Tablo 3.14 ve Şekil 3.19’da gösterilmiştir. Elde edilen değerler standart olarak Troloks’un değerleri ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Tablo 3.14’de görüldüğü gibi, çalışılan bitki ekstreleri arasında *A. microcephalus* (0,83) en yüksek absorbans değeri gösterir iken, *A. acmophyllus* (0,32) en düşük absorbans değerine sahiptir. Konsantrasyona bağlı olarak absorbans ve aktivite artmaktadır. Çalışılan ekstrelerin absorbans değerleri kontrol olarak kullanılan troloks’un değerinden çok daha düşüktür.

Tablo 3.14. Ekstrelerin bakır iyonunu indirgeme gücü

mg/ml	<i>A. argaeus</i> (T.A)	<i>A. argaeus</i> (T.Ü)	<i>A.</i> <i>gummifer</i>	<i>A.</i> <i>microcephalus</i>	<i>A.</i> <i>talasseus</i>	<i>A.</i> <i>acmophyllus</i>	Troloks
0,2	0,12	0,08	0,11	0,14	0,05	0,06	2,28
0,4	0,19	0,23	0,2	0,31	0,15	0,13	2,80
0,6	0,27	0,33	0,29	0,49	0,23	0,2	2,85
0,8	0,37	0,41	0,38	0,68	0,32	0,25	2,85
1	0,50	0,68	0,51	0,83	0,41	0,32	2,85



Şekil 3.19. Ekstrelerin bakır iyonunu indirgeme gücü

3.15. *Astragalus* Taksonlarına Ait Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Çalışılan ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri % 1, 2.5, 5 ve 10 konsantrasyonlarında agar difüzyon yöntemi ile 15 farklı mikroorganizmaya karşı denenmiş ve Tablo 3.15’de gösterilmiştir. Çalışılan *Astragalus* ekstreleri test edilen bakterilerden sadece *P. aeruginosa*’ya karşı düşük aktivite (6,5-8,0 mm) göstermiştir. Kontrol olarak kullanılan Tetrasiklin ve Oksalasilin’in *P. aeruginosa*’ya karşı etkisi 10 mg/ml konsantrasyonda çok daha yüksektir (18.0-12.0 mm). Ayrıca ekstrelerin hiçbirinin de *C. albicans* üzerinde etkili olmadığı gözlenmiştir.

Tablo 3.15. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi (Zon çapı-mm)

% Konst.	A1	A2	A3	A4	A5	A6	Tetrasiklin (10 mg/ml)	Oksasilin (10 mg/ml)
10	8,0	7,0	8,0	8,0	7,0	7,0	18,0	12,0
5,0	8,0	7,0	7,0	7,0	7,0	6,5		
2,5	7,0	-	-	7,0	-	6,5		
1,0	-	-	-	-	-	-		

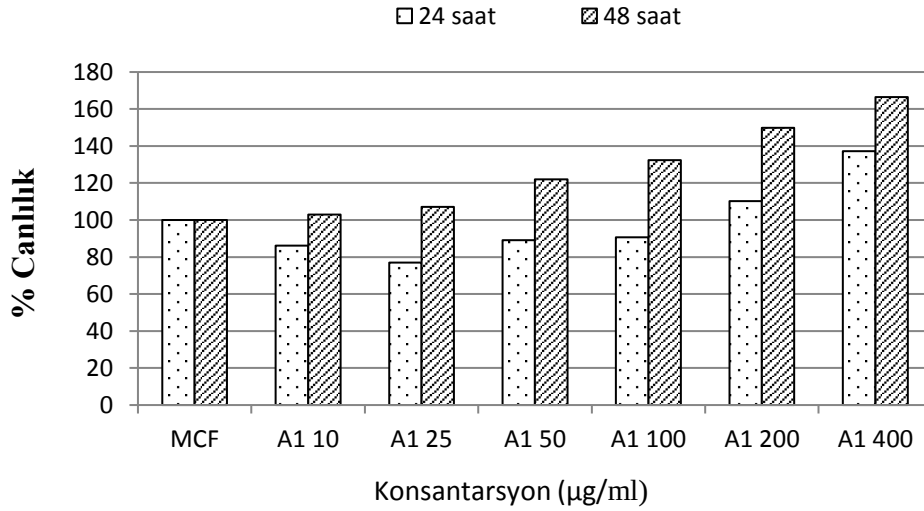
A1: *A. argaeus* (T.A), **A2:** *A. argaeus* (T.Ü), **A3:** *A. gummiifer*, **A4:** *A. microcephalus*,
A5: *A. talasseus*, **A6:** *A. acmophyllus*

3.16. *Astragalus* Ekstrelerinin Sitotoksik Aktiviteleri

Astragalus'dan elde edilen metanollü ekstreler farklı konsantrasyonlarda (10, 25, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml) hazırlandıktan sonra 24 ve 48 saat süre ile MCF-7 (insan meme metastatik karsinoma hücreleri) ve Fibroblast hücrelerine uygulanmış ve % canlılık değerleri hesaplanmıştır.

3.16.1. *A. argaeus* (T.A)'a Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

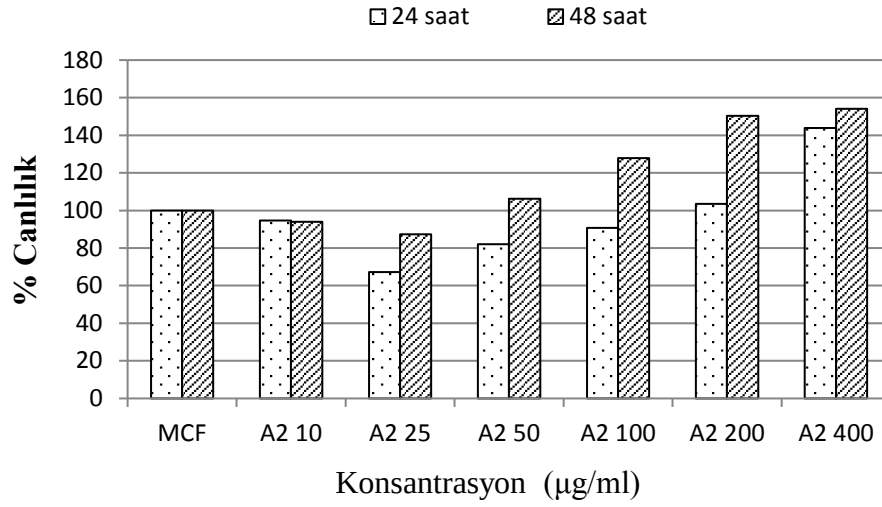
Şekil 3.20'de görüldüğü gibi 24 saatlik uygulama sonrasında 10, 25, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarındaki % canlılık oranı sırası ile % 86.24, % 77.06, % 89.06 ve % 90.60 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulama sonrasında hiçbir konsantrasyonda sitotoksik aktivite görülmemektedir.



Şekil 3.20. *A. argaeus* (T.A)'a ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.2. *A. argaeus* (T.Ü)'a Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

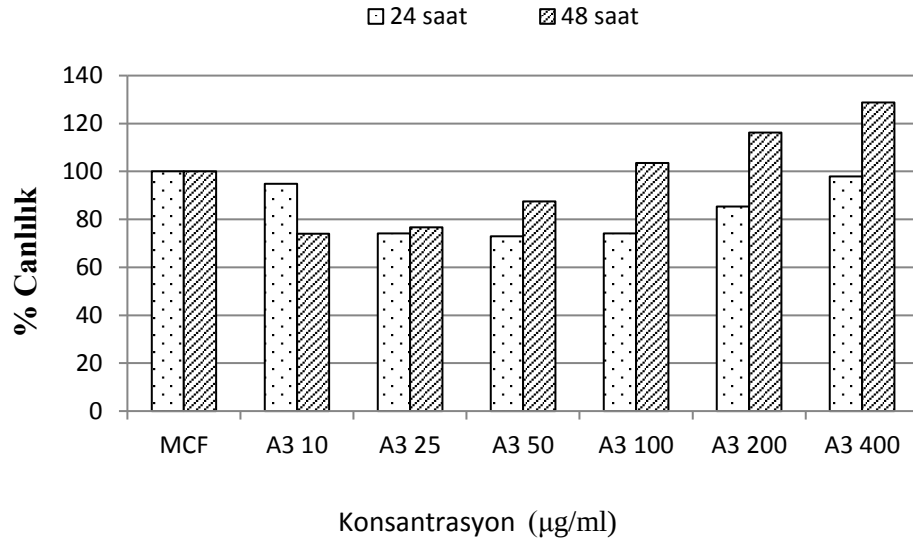
Şekil 3.21'de görüldüğü gibi 24 saatlik uygulamada 10, 25, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarda % canlılık oranı sırası ile % 94.70, % 67.19 ve % 81.98 ve % 90.69 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulamada ise 10 ve 25 µg/ml konsantrasyonlarda % canlılık oranı sırası ile % 93.94 ve % 87.34 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.21. *A. argaeus* (T.Ü)'a ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.3. *A. gummiifer*'e Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

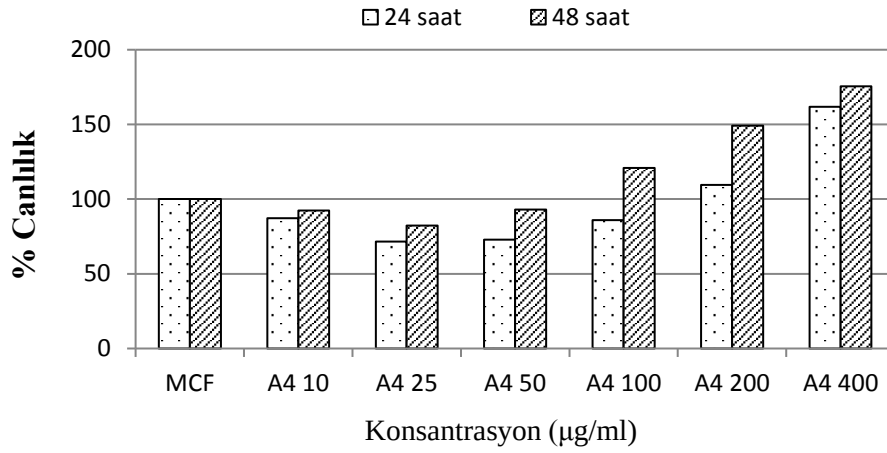
Şekil 3.22'de görüldüğü gibi 24 saatlik uygulama sonrası 10, 25, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml konsantrasyonlarındaki % canlılık oranı sırası ile % 94.86, % 74.19, % 72.94, % 74.20, % 85.29 ve % 97.88 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulama sonrasında ise 10, 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonlarında % canlılık oranı sırası ile % 74.01, % 76.73 ve % 87.50 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.22. *A. gummiifer*'e ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.4. *A. microcephalus*'a Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

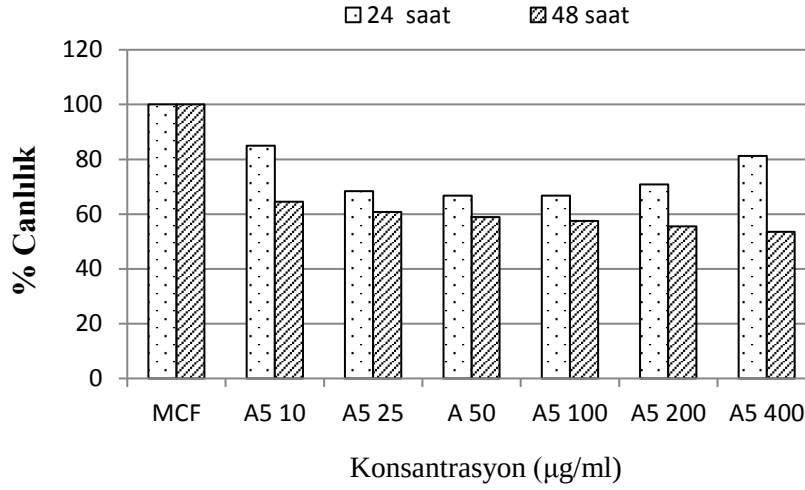
Şekil 3.23'de görüldüğü gibi 24 saatlik uygulama sonrası 10, 25, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarındaki % canlılık oranı sırası ile % 87.32, % 71.65, % 72.88 ve % 85.96 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulamada ise 10, 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonlarında % canlılık oranı sırası ile % 92.34, % 82.26 ve % 92.95 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.23. *A. microcephalus*'a ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.5. *A. talasseus*'a Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

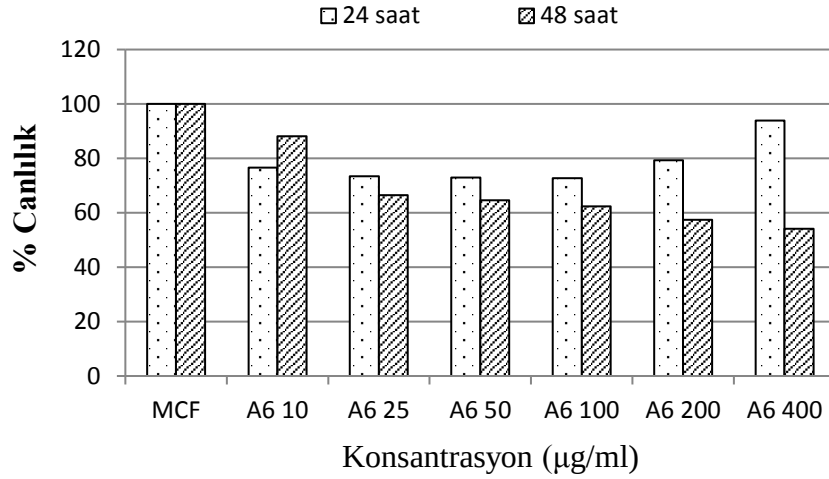
Şekil 3.24'de görüldüğü gibi 24 saatlik uygulama sonrasında 10, 25, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml konsantrasyonlarında % canlılık oranı sırası ile % 84.97, % 68.39, % 66.74, % 66.75, % 70.86 ve % 81.29 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulama sonrasında % canlılık oranı sırası ile % 64.54, % 60.80, % 58.91, % 57.50, % 55.58 ve % 53.58 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.24. *A. talasseus*'a ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.6. *A. acmophyllus*'a Ait Ekstrenin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

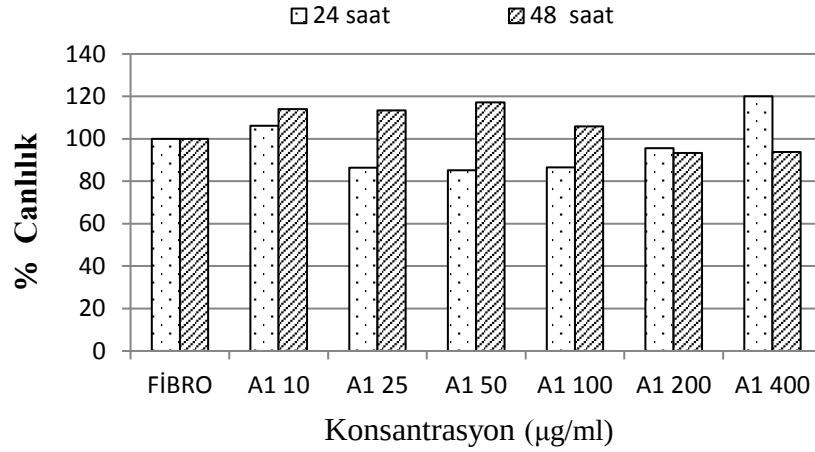
Şekil 3.25'de görüldüğü gibi 24 saatlik uygulama sonrasında 10, 25, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml konsantrasyonlarında % canlılık oranı sırası ile % 76.62, % 73.43, % 72.92, % 72.67, % 79.26 ve % 93.88 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulama sonrasında % canlılık oranı sırası ile % 88.16, % 66.48, % 64.55, % 62.40, % 57.37 ve % 54.18 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.25. *A. acmophyllus*'a ait ekstrenin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.7. *A. argaeus* (T.A)'a Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

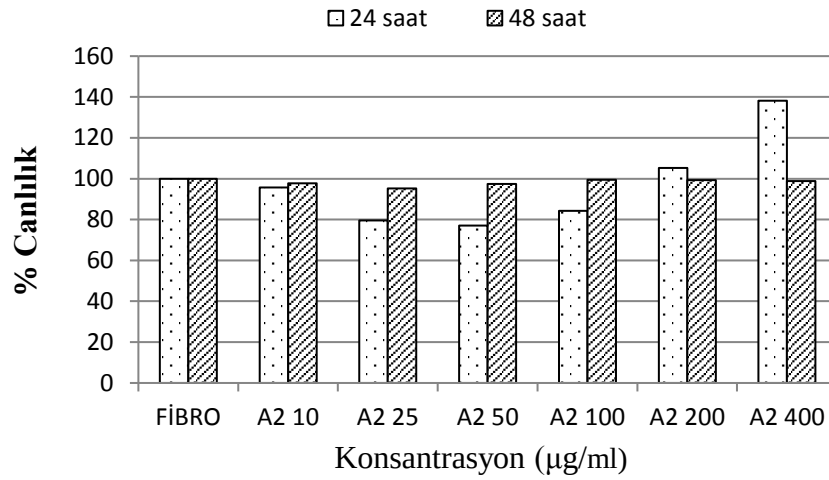
Şekil 3.26'da görüldüğü gibi 24 saatlik uygulama sonrasında 25, 50, 100 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında % canlılık oranı sırası ile % 86.36, % 85.12, % 86.59 ve % 95.60 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulama sonrasında 200 µg/ml konsantrasyonunda % canlılık oranı ise % 93.29 olarak belirlenmiştir. Diğer konsantrasyonlarda ise sitotoksik etki gözlenmemiştir.



Şekil 3.26. *A. argaeus* (T.A)'a ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.8. *A. argaeus* (T.Ü)'a Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

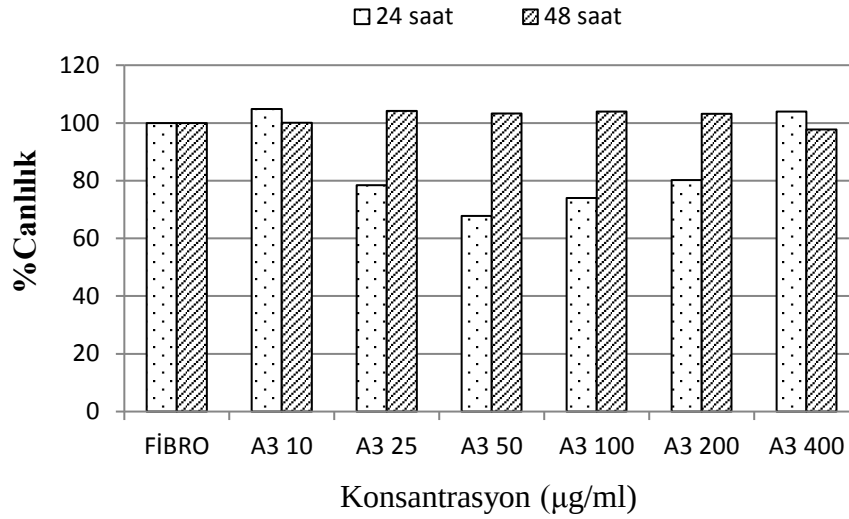
Şekil 3.27'de görüldüğü gibi 24 saatlik uygulama sonrasında 10, 25, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında % canlılık oranı sırası ile % 95.79, % 79.54, % 76.99 ve % 84.26 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulama sonrasında 10, 25, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml konsantrasyonlarında % canlılık oranı sırası ile % 97.69, % 95.22, % 97.44, % 99.48, % 99.39 ve % 98.91 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.27. *A. argaeus* (T.Ü)'a ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.9. *A. gummifer*'e Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

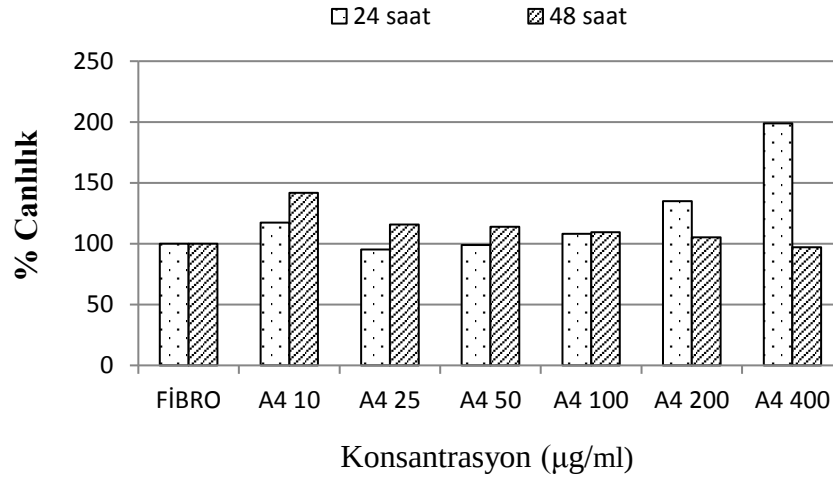
Şekil 3.28'de görüldüğü gibi 24 saatlik uygulama sonrasında 25, 50, 100 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında % canlılık oranı sırası ile % 78.39, % 67.80, % 74.01 ve % 80.22 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulama sonrasında 400 µg/ml konsantrasyonunda % canlılık oranı ise % 97.72 olarak belirlenmiştir. Diğer konsantrasyonlarda ise sitotoksik etki gözlenmemiştir.



Şekil 3.28. *A. gummifer*'e ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.10. *A. microcephalus*'a Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

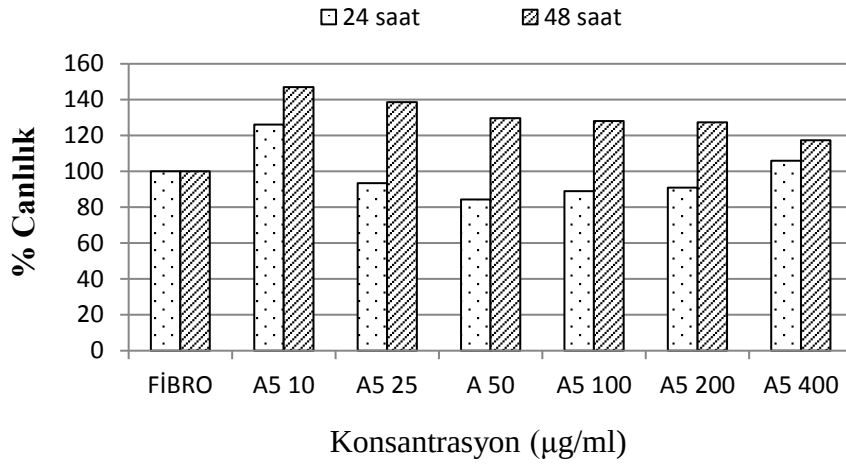
Şekil 3.29'da görüldüğü gibi 24 saatlik uygulama sonrasında 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonlarında % canlılık oranı sırası ile % 95.34 ve % 98.86 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulama sonrasında sadece 400 µg/ml konsantrasyonunda % canlılık oranı % 96.97 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.29. *A. microcephalus* 'a ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.11. *A. talasseus* 'a Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

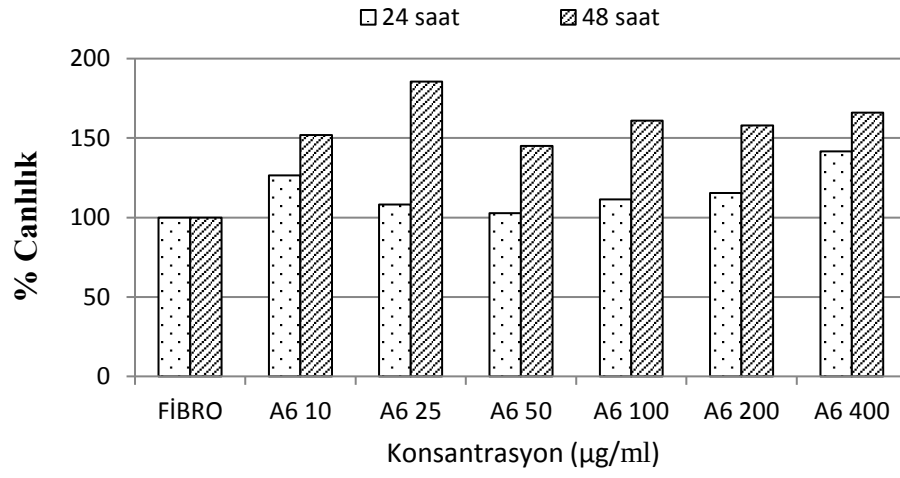
Şekil 3.30'da görüldüğü gibi 24 saatlik uygulama sonrasında 25, 50, 100 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında % canlılık oranı sırası ile % 93.44, % 84.37, % 89.03 ve % 90.95 olarak belirlenmiştir. 48 saatlik uygulama sonrasında hiçbir konsantrasyonda sitotoksik etki gözlenmemiştir.



Şekil 3.30. *A. talasseus*'a ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

3.16.12. *A. acmophyllus*'a Ait Ekstrenin Fibroblast Hücreleri Üzerindeki *in vitro* Sitotoksik Etkisi

Şekil 3.31'de görüldüğü gibi 24 ve 48 saatlik uygulama sonrasında hiçbir konsantrasyonda sitotoksik etki gözlenmemiştir.



Şekil 3.31. *A. acmophyllus*'a ait ekstrenin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi

4. BÖLÜM

TARTIŞMA -SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye florasında yaygın şekilde yayılış gösteren bazı *Astragalus* taksonlarına ait türlerin biyoaktivitelerinin araştırıldığı bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiş ve bu sonuçlar diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırılarak detaylı bir şekilde tartışılmıştır.

Türkiye’de yayılış gösteren *Astragalus* cinsine ait toplam 5 takson ile çalışılmıştır. Üçü endemik (*A. argaeus*, *A. talasseus*, *A. acmophyllus*) olan bu taksonlara ait örnekler değişik lokalitelerden toplanmıştır. Toplanan bitki örneklerinden *A. argaeus*’un hem toprak altı hem de toprak üstü kısımlarından, diğerlerinin ise toprak altı kısımlarından Soxhlet ekstraksiyon cihazı kullanılarak metanol ile ekstreleri çıkarılmıştır. Metanollü ekstrelerin verimleri % 9,78 – 19,31 arasında değişmektedir. *A. argaeus*’un toprak altı kısımlarından elde edilen ekstre yüksek verime sahipken, *A. talasseus* en düşük ekstre verimine sahiptir.

Folin-Ciocalteu yöntemi gıda ve tıbbi bitkilerde fenolik madde miktarını belirlemek için kullanılan en eski yöntemlerden biridir. Fenolik bileşikler bazik koşullar altında Folin-Ciocalteu ayırıcı ile reaksiyona girer. Fenolik protonun ayrılması ile fenolat anyonu oluşur ve buda Folin ayırıcını indirgeyebilir. Test sisteminde oluşan mavi renkli molibdenyum oksit 750 nm’de maksimum absorpsiyon verir. Oluşan mavi rengin yoğunluğu test örneğindeki fenolik bileşiklerin toplam miktarını yansıtmaktadır [126]. Çalışmamızda test edilen ekstrelerin Folin-Ciocalteu yöntemi ile tespit edilen toplam fenolik madde miktarları 4,59 – 13,49 mg GAE/g ekstre arasında değişmektedir. *A. microcephalus* en yüksek toplam fenolik madde miktarına sahip iken, *A. argaeus* (T.A) toprak altı örneklerinden elde edilen ekstre ise en düşük toplam fenolik madde miktarına sahiptir. Keskin [98] çalışmasında *A. diptherites* var. *diptherites* ve *A.*

gymnalocepias'den elde edilen metanollü ekstrelerin Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde miktarlarını sırasıyla $30,7 \pm 1,5$ ve $17,66 \pm 1,25$ $\mu\text{g GAE/mg}$ ekstre olarak belirlemiştir. Bu sonuçlara göre çalışmamızda test edilen *Astragalus* türlerinin toplam fenolik madde miktarları *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias*'un fenolik madde miktarlarından oldukça düşüktür. Folin-Ciocalteu yöntemi maddelerin kimyasal yapısına bağlı olarak farklı fenolik bileşiklere farklı cevaplar vermektedir [127].

Çalışılan *Astragalus* türlerinden elde edilen ekstrelerin Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi ile toplam flavonoid madde miktarları $0,76 - 5,88$ mg QE/g ekstre arasında değişmektedir. *A. argaeus* toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstre en yüksek toplam flavonoid madde miktarına sahip iken, *A. acmophyllus* ise en düşük toplam flavonoid madde miktarına sahiptir.

Asgarpanah *et al.* [128]'nin çalışmasında *A. squarrosus*'un toprak üstü kısımlarından elde ettikleri metanollü ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarlarını Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi ile $26,0$ mg/g ekstre olarak belirlemiştir. Keskin [98] çalışmasında *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias*'un toprak altı kısımlarından elde ettikleri metanollü ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarlarını sırasıyla $2,31 \pm 0,23$ $\mu\text{g QE/mg}$ ve $11,20 \pm 0,14$ $\mu\text{g QE/mg}$ ekstre olduğunu bildirmiştir. Bu sonuçlara göre çalışmamızda test edilen ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarının daha düşük olduğu görülmektedir.

Çalışılan ekstrelerin fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi amacıyla LC-MS/MS yöntemi uygulanmıştır. İncelenen ekstrelerde klorojenik asit, epikateşin, kateşin hidrat, kersetin, siringik asit, kamferol, sinnapik asit, kaffeik asit, rutin ve ferulik asit bileşenleri tespit edilmiştir ve miktarları kantitatif olarak belirlenmiştir. Test edilen ekstreler arasında fenolik içeriği en fazla *A. argaeus* olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *A. argaeus*'un T.Ü kısmının fenolik madde içeriğinin *A. argaeus*'un T.A'dan daha yüksek olduğu görülmüştür. Toprak üstü kısımlardaki yüksek fenolik madde miktarı ışığın varlığı yada yokluğu ile ilişkilendirilebilir. Bitkiler tarafından üretilen fenolik bileşiklerin miktarı ve güneş radyasyonunun yoğunluğu arasında pozitif bir ilişki vardır. Genellikle güneşli çevrede büyüyen bitkiler, gölgede büyüyenlere göre toplam fenolik madde içeriği yüksektir [129]. Işık bitkilerdeki fenolik bileşiklerin sentezinin öncü

molekölü olan fenil alenin amino liyaz enziminin aktivitesini artırarak bitkilerdeki fenolik madde biyosentezinin oranını artırır [130].

Jun *et al.* [131] *A. membranaceus*'un metanollü ekstresinin fenolik madde içeriğini ve miktarını HPLC analizi ile araştırmışlardır. 30 tane fenolik (gallik asit, pyrogallol, homogentisik asit, protokatşik asit, gentisik asit, klorogenik asit, kateşin, hidroksibenzoik asit, β -resorsiklik asit, vanillik asit, kaffeik asit, siringik asit, vanillin, ρ -kumarik asit, rutin, ferulik asit, veratrik asit, *m*-koumarik asit, naringin, hesperedin, *o*-koumarik asit, miyresetin, resveratrol, kersetin, *t*-sinnamik asit, naringenin, kamferol, hesperetin, formononetin, biochanin A) madde tespit etmişlerdir. Bunlardan rutin, klorogenik asit, kaffeik asit, siringik asit, kamferol ve ferulik asit yaptığımız çalışmada test edilen *Astragalus* türlerinde de tespit edilmiştir.

Krasteva [132] *A. ponticus*'dan eriodiktiol-7-*O*-rutinosid, isorhamnetin-3-*O*-rutinosid, isorhamnetin-3-*O*-glukozit, phloridzin, viteksin, kamferol ve isorhamnetin, *A. corniculatus*'dan eriodiktiol-7-*O*-rutinosid, kersitrin, floridzin ve homoeriodiktiol, *A. cicer*'den rutin, hiperosid ve umbelliferon, *A. hamosus*'dan ramnositrin tespit etmiştir.

Yang *et al.* [133] *A. altaicus*'da isorhamnetin-3-gentiobiosid, rutin ve narcissin bileşiklerini tespit etmişlerdir.

Antioksidan aktivitenin ölçülmesinde kullanılan basit yöntemlerden biri de fosfomolibdenyum yöntemidir. Bu yöntem antioksidan bileşikler tarafından molibdenyum (VI)'un molibdenyum (V)'e indirgenmesini temel almaktadır. Test tüpünde oluşan yeşil renkli molibdenyum (V) kompleksi 695 nm'de maksimum absorbans vermektedir [134]. Metanollü ekstreler içerisinde en yüksek aktiviteyi *A. acmophyllus* ($178,25 \pm 1,5$ mg AAE/g) gösterirken, en düşük aktiviteyi *A. argaeus*'un toprak altı kısımlarından elde ekstrelerin ($108,40 \pm 0,2$ mg AAE/g) göstermiştir. Yapılan literatür çalışmasında *Astragalus* cinsine ait örneklerin fosfomolibdenyum yöntemi ile antioksidan aktivitesinin belirlenmesine yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır.

β -karoten/linoleik asit beyazlatma yönteminde, linoleik asitin oksidasyonu peroksil radikallerinin oluşmasına neden olur. Oluşan serbest radikaller doymamış β -karotenin oksidasyonuna sebep olur. Bu olay β -karotenin kendine özgü turuncu renginin açılmasına neden olur. Ekstredeki antioksidanların varlığı hidroperoksitler tarafından β -

karotenin oksidasyonunu azaltır. Antioksidan etkiye sahip ekstre hücre membranlarındaki lipidlerin oksidasyonunu önleyebilir. Bu nedenle bitki ekstraları sağlık üzerinde yararlı etkiler gösterebilir [135]. B-karoten beyazlatma yöntemi ekstraların β -karoten/linoleik asit emülsiyonunda β -karotenin oksidatif kaybını azaltma yeteneğini ölçmektedir. Çalışmamızda test edilen bitki ekstralarının β -karoten oksidasyon inhibisyon değerleri belirlenmiş ve yüzde cinsinden ifade edilmiştir. Ekstreler içerisinde, en yüksek % inhibisyonu *A. talasseus* ($80,60 \pm 2,58$) gösterirken, en düşük % inhibisyonu *A. argaeus* (T.A) ($37,31 \pm 0,0$) göstermiştir. Kontrol olarak kullanılan BHA ve BHT'nin % inhibisyon değerler sırası ile % 107,96 ve % 105,47 olarak belirlenmiştir. Test edilen ekstraların inhibisyon değerleri BHA ve BHT'nin kinden daha düşüktür. Adıgüzel ve vd. [95]'nin yapmış oldukları bir çalışmada β -karoten/linoleik asit beyazlatma yöntemi ile *A. ponticus*, *A. microcephalus*, *A. macrocephalus*, *A. erinaceus*, *A. bicolor*, *A. psoraloides* ve *A. argyroides*'in toprak altı kısımlarından elde edilen metanollü ekstraların β -karoten/linoleik asit emülsiyonunda β -karotenin oksidatif kaybını azaltma yeteneğini ölçmüştür ve β -karoten oksidasyon inhibisyon değerlerinin sırasıyla % 49.4, % 51.4, % 58.6, % 38.2, % 23.8, % 88.1 ve % 45.3 olduğunu bildirmişlerdir.

DPPH stabil serbest radikaldır ve ekstraların radikal temizleme aktivitesinin belirlenmesinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Çünkü DPPH yöntemi hızlı, güvenilir ve tekrarlanabilir bir yöntemdir. Bu yöntem antioksidandan elektron veya hidrojen alan mor renkli DPPH radikal çözeltisinin indirgenmesi ile renginin sarıya (difenil pikrilhidrazin) dönüşmesini temel almaktadır. Mordan sarıya renk değişiminin derecesi spektrofotometrik olarak 517 nm'de ölçülür. Renk değişiminin derecesi ekstre yada antioksidan bileşiğin hidrojen verebilme yeteneğini dolayısıyla antiradikal aktivitesini yansıtmaktadır [126].

Çalışılan bitkilerin antiradikal aktiviteleri doza bağlı olarak değişmektedir. Doz artışı ile birlikte antiradikal aktivitenin artışı tespit edilmiştir. Test edilen ekstraların antiradikal aktiviteleri % inhibisyon olarak belirtilmiştir. 6 mg/ml konsantrasyonunda, test edilen ekstralardan en fazla inhibisyonu *A. microcephalus* ($86,82 \pm 0,1$) gösterirken, *A. acmophyllus* ($39,44 \pm 0,83$) en düşük inhibisyonu gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca her bir ekstre için % 50 inhibisyona neden olan konsantrasyon (IC_{50}) hesaplanmıştır. IC_{50} değerinin düşük olması yüksek antiradikal aktiviteyi ifade

etmektedir. Bu sebeple *A. microcephalus* (86,67 µg/ml) en yüksek aktiviteye sahip iken, *A. acmophyllus* (253,88 µg/ml) en düşük aktiviteye sahiptir. Çalışılan ekstrelerin antiradikal aktiviteleri 2 mg/ml konsantrasyonda standart BHT'ninkine göre çok daha düşüktür.

Keskin [98] *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocephias*'un toprak altı kısımlarından elde ettikleri metanollü ekstrelerin DPPH yöntemi ile elde ettiği IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 98,90 µg/ml ve 112,2 µg/ml olduğunu bildirmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada, *A. microcephalus* (86,67 µg/ml)'un antiradikal aktivitesi *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocephias*'un antiradikal aktivitesinden daha yüksek iken, çalışmamızda test edilen diğer ekstrelerin antiradikal aktiviteleri daha düşüktür. Adıgüzel ve vd. [95] *A. ponticus*, *A. microcephalus*, *A. macrocephalus*, *A. erinaceus*, *A. bicolor*, *A. psoraloides* ve *A. argyroides*'in toprak altı kısımlarından elde edilen metanollü ekstrelerin DPPH yöntemi ile IC₅₀ değerlerini sırasıyla 207.9, 227.7, 170.5, 328.5, 115.1 ve 126.7 µg/ml olduğunu belirlemişlerdir. *A. microcephalus* (86,67 µg/ml)'un antiradikal aktivitesi Adıgüzel ve vd. [95]'nin yapmış oldukları çalışmadaki taksonların antiradikal aktivitesinden daha yüksektir. Asgarpanah *et al.* [128] *A. squarrosus*'un toprak üstü kısımlarından elde ettikleri metanollü ekstrenin IC₅₀ değerini 1220 mg/l olarak belirlemişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada test edilen ekstrelerin antiradikal aktivitesi *A. squarrosus*'un antiradikal aktivitesinden daha yüksektir.

Hidroksil radikali bakır ve demir gibi metal iyonların varlığında hidrojen peroksit ve süperoksit anyonlardan oluşabilen en reaktif serbest radikaldir. Hidroksil radikalleri aromatik bileşikler ile reaksiyonlara girebilir ve böylece hidroksi siklo hekzadinil radikallerini oluşturur. [136]. Çalışılan bitkilerin hidrojen peroksit giderme aktivitesi doza bağlı olarak değişmektedir. Doz artışı ile birlikte hidrojen peroksit radikalini giderme aktivitesinin de artışı tespit edilmiştir. Test edilen ekstrelerin hidrojen peroksit giderme aktivitesi % inhibisyon olarak belirtilmiştir. 250 µg/ml konsantrasyonunda test edilen ekstrelerden *A. microcephalus* (%82,48 ± 0,1) en yüksek inhibisyonu gösterirken, *A. acmophyllus* (%56,96 ± 0,8)'un en düşük inhibisyonu gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen değerler aynı konsantrasyondaki BHA, BHT ve GA ile karşılaştırıldığında oldukça düşüktür.

Metal şelatlama aktivitesinin varlığı lipid peroksidasyonunu azaltması ve hidroksi radikallerinin oluşumunu engellemesi sebebiyle önemli bir antioksidan özellik olarak

kabul edilir. Şelatlayıcılar, metal iyonlarıyla δ bağı yaparak metal iyonlarının redoks potansiyelini azaltıp etkili antioksidanlar olarak davranırlar [137].

Test edilen ekstrelerin metal şelatlama aktivitesi % inhibisyon olarak belirtilmiştir. Test edilen bitki ekstrelerinden *A. acmophyllus* (%68,35 $\pm$ 0,8) en yüksek inhibisyonu gösterirken, *A. gummifer* (%43,88 $\pm$ 0,4)'in en düşük inhibisyonu gösterdiği tespit edilmiştir. Keskin [98] *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocepias*'un toprak altı kısımlarından elde ettikleri metanollü ekstrelerin 350 μ g/ml konsantrasyonda metal şelatlama aktivitesinin 51,09 $\pm$ 0,87 ve 76,41 $\pm$ 0,90 olduğunu bildirmiştir. Lim *et al.* [138] *A. sinicus* tohumlarından elde ettiği asetonlu ekstrenin metal şelatlama aktivitesinin 5mg/ml konsantrasyonda % 64,5 olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda, *A. argaeus* (T.A), *A. argaeus* (T.Ü), *A. gummifer*, *A. microcephalus*, *A. talasseus* ve *A. acmophyllus*'un metanollü ekstreleri aynı konsantrasyonda sırasıyla % 62.79, % 55.16, % 43.88, % 65.47, % 68.1 ve % 68.35 inhibisyon değerlerine sahiptir. Çalışmamızda kontrol olarak güçlü şelatlama aktivitesine sahip olan EDTA kullanılmıştır. EDTA'nın metal şelatlama aktivitesi % 99,45 $\pm$ 0,0 olarak tespit edilmiştir. Çalışılan ekstrelerin % inhibisyon değerlerinin standarda göre düşük olduğunu söyleyebiliriz. Şelatlama ajanları redoks potansiyelini azalttığından dolayı sekonder antioksidan olarak etkindir [139].

Antioksidan kapasite tayininde kullanılan diğer bir yöntem olan indirgeme gücünde yüksek absorbans yüksek indirgeme potansiyelini göstermektedir. Yöntemde asidik ortamda antioksidan fenolik bileşiklerin $[K_3Fe(CN)_6]$ içindeki Fe (III)'ü Fe(II)'ye indirgenmesine dayanmaktadır. İndirgeme reaksiyonu sonucu oluşan Prusya mavisi renkli kompleks 700 nm'de maksimum absorbans göstermektedir. Antioksidan maddelerin etkinliğine bağlı olarak Prusya mavisi rengi yeşil ile mavi arasında değişmektedir. Absorbansın artması indirgeme gücünün yüksekliğini gösterir [140].

Çalışılan ekstreler içinde *A. microcephalus* en yüksek indirgeyici güce sahipken, *A. gummifer* en düşük indirgeyici güce sahiptir. Keskin [98] *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocepias* metanollü ekstrelerinin indirgeyici güç yönteminde, 350 μ g/ml konsantrasyonda absorbans değerlerinin 0,181 $\pm$ 0,03 ve 0,105 $\pm$ 0,00 olduğunu bildirmiştir. Lim *et al.* [140] *A. sinicus* tohumundan elde ettiği etanol, hekzan, su ve aseton ekstrelerinin 5-10 mg/ml konsantrasyonlarında indirgeyici güç yönteminde absorbans değerlerini sırasıyla 0.79-1.4, 0.69-1.0, 0.39-0.6 ve 0.9-1.7 olduğunu tespit

etmişlerdir. Bizim çalışmamızda 5-10 mg/ml konsantrasyonlarında *A. argaeus* (T.A), *A. argaeus* (T.Ü), *A. gummifer*, *A. microcephalus*, *A. talasseus*, *A. acmophyllus* metanollü ekstrelerinin absorbans değerleri sırasıyla 0.9-1.7, 0.8-1.5, 0.6-1.1, 1.2-2.1, 0.7-1.4 ve 0.7-1.3 absorbans olarak belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarının bizim elde ettiğimiz sonuçlara benzer olduğunu söyleyebiliriz.

FRAP testinde antioksidan varlığında $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$ $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ 'ye indirgenmektedir. Oksido-redüksiyon reaksiyonlarında rol alan demir DNA (deoksiribonükleik asit), protein ve lipitlere elektron taşıyarak oksidatif hasarı hızlandırır. Demir iyonları aynı zamanda lipit peroksidlerinin (LOOH) parçalanmalarını ve lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını katalize ederek radikal zararını arttırırlar. Bu nedenle demir iyonlarının tutulmaları radikal zararlarını önlemede önem taşımaktadır. Ekstrelerin demir iyonu indirgeyici gücü aktivitesi FRAP yöntemine göre yapılmıştır. Çalışılan *Astragalus* ekstrelerinin L Askorbik asite göre düşük seviyede demir indirgeyici güce sahip olduğu gözlenmiştir. Çalışılan *Astragalus* türlerinin FRAP yöntemi ile demir indirgeyici güçleri ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir.

CUPRAK yöntemi ile ekstrelerin bakır(II)-neokuproin kompleksini bakır(I)-neokuproin kompleksine indirgeme gücü ölçülmüştür. Çalışılan ekstreler arasında *A. microcephalus* en yüksek bakır indirgeyici güce sahiptir. Troloks ile karşılaştırıldığında ekstrelerin bakır indirgeyici güce sahip olduğu görülmektedir. Yapılan literatür taramasına göre, çalışılan *Astragalus* ekstrelerinin CUPRAK yöntemi ile bakır indirgeyici güçleri ilk defa bu çalışma ile belirlenmiştir.

Çalışmamızda test edilen *Astragalus* türlerinin Gram (+), (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *M. smegmatis*, *B. cereus*, *B. subtilis*) ve Gram (-) (*E. coli*, *A. hydrophila*, *E. coli* O157:H7, *K. pneumonia*, *M. morganii*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *Y. enterocolitica*) bakteriler ile maya olarak *C. albicans*'ın kullanıldığı antimikrobiyal aktivite araştırmasında, sadece *P. aeruginosa*'ya karşı aktivite sergilediği görülmüştür. Antibakteriyel aktivitenin artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan saf metanolün mikroorganizmalara karşı bir etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir.

Adıgüzel ve vd. [95] *A. ponticus*, *A. aduncus*, *A. microcephalus*, *A. pinetorum*, *A. atrocarpus*, *A. lagurus*, *A. macrocephalus*, *A. erinaceus*, *A. galegiformes*, *A.*

trichostigma, *A. bicolor*, *A. psoraloides* ve *A. argyroides* türlerinin metanollü ve asetonlu ekstrelerinin 24 bakteri, (*Acinetobacter baumannii*, *Bacillus macerans*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, ATCC-6633, *B. subtilis*-A57, *Brucella abortus* A77, *Burkholderia cepacia*, *Clavibacter michiganense*, *Enterobacter cloacae*, *E. faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*-A161, *P. vulgaris*-KUKEM1329, *Pseudomonas aeruginosa*-ATCC9027, *P. aeruginosa*-ATCC27859, *P. syringae* pv. *tomato*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* A215, *S. aureus* ATCC-29213, *S. epidermis*, *Streptococcus pyogenes* ATCC-176, *S. pyogenes* KUKEM-676, *Xanthomonas campestris*) 15 küf (*Alternaria alternate*, *Aspergillus flavus*, *A. variegator*, *Fusarium acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. tabacinum*, *Monilia fructicola*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia minor*, *S. sclerotiorum*, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*) ve 1 maya (*C. albicans*)'ya karşı antimikrobiyal özelliklerini araştırmışlar ve herhangi bir aktivite gözlemlememişlerdir.

Pistelle *et al.* [141] *A. verrucosus* toprak üstü kısmından elde edilen n-hekzan, kloroform, etil asetat, bütanol, su ve etanol ekstrelerinin 5 bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Enterobacter agglomerans*, *Escherichia coli*, *Salmonella infantis*, *Pseudomonas aeruginosa*)'ye karşı antimikrobiyal özelliklerini araştırmışlardır. Sadece n-hekzan ekstresinin *S. aureus*'a karşı aktivite sergilediğini gözlemişlerdir. Diğer mikroorganizmalara karşı herhangi bir aktivite gözlemlememişlerdir. Pistelle *et al.* [141]'nin çalışmasında *P. aeruginosa*'ya karşı herhangi bir aktivite gözlemlememişlerdir.

Türker ve Yıldırım [97] Türkiye'deki bazı endemik bitkilerin antitümör ve antibakteriyel aktivitelerini araştırdıkları çalışmalarında *A. brachypterus*'un etanol, su ve metanollü ekstrelerinin 24 bakteri (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacea* ve *Klebsiella pneumoniae*) arasından sadece *Streptococcus pyogenes*'e karşı aktivite sergilediğini gözlemişlerdir.

Keskin [98] *A. gymnalocepias* gövde kısmından elde edilen aseton ve metanol ekstrelerinin *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* ile *Candida albicans*'a karşı 160 µg/ disk konsantrasyonunda antimikrobiyal özelliklerini

araştırmıştır ve sadece *S. pyogenes*'e karşı aktivite sergilediğini belirtmiştir. *A. diphtherites* var. *diphtherites* ekstralarının ise denenilen hiçbir mikroorganizmaya karşı aktiviteye sahip olmadığını bildirmiştir.

Çalışmamızdaki *Astragalus* türlerinin metanollü ekstraları 24 ve 48 saat süre ile MCF-7 hücrelerine uygulandığında ortaya çıkan *in vitro* sitotoksik etki gerek konsantrasyon gerekse uygulama süresine bağlı olarak değiştiği görülmüştür. *A. talasseus*'un 48 saat uygulama sonrası 50, 100, 200 ve 400 µg/ml de (sırasıyla % 58.90, % 57.50, % 55.58 ve % 53.58) *in vitro* sitotoksik etkisinin, diğer ekstralara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ekstrelerin 24 ve 48 saat süre ile fibroblast hücreleri üzerine uygulandığında ortaya çıkan *in vitro* sitotoksik etki ekstraların kendi aralarında ve süreye bağlı olarak farklılık göstermektedir. 24 saat sonrası uygulamalarda % canlılık oranında düşüşler çok fazla değildir. Sadece *A. gumnifer*'in 25, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında sırasıyla canlılık oranları % 79.54, % 76.99 ve % 84.27 olarak belirlenmiştir. 48 saat sonrasında ise % canlılık oranında bir azalma gözlenmemiştir.

Teyeb *et al.* [142] *A. gombiformis*'in yapraklarından elde ettikleri metanol, diklorometan ve petrol eter ekstralarının MTT yöntemi ile 24, 48 ve 72 saatlik inkubasyon süresinde A549 (İnsan Akciğer Epitel Kanseri Hücresi hatları) hücreleri üzerinde *in vitro* sitotoksik etkisini araştırmışlardır. En güçlü sitotoksik aktivitenin 48. saatte 200 µg/ml diklorometan ekstralarında olduğunu belirlemişlerdir.

Ionkova *et al.* [143] *A. membranaceus*'dan izole edilen 3 bileşiğin (Astragaloside 1, 2 ve 3) MTT yöntemi ile 72 saatlik inkubasyon süresinde HT-29 (Kolon Kanseri Hücresi), MDA-MB-231 (Göğüs Kanseri Hücresi), SKW-3 (Lenf Kanseri Hücresi), HL-60 (Akut Promiyelosit Lösemi Hücresi) ve HL-60/Dox (İlaça Karşı Dirençli Akut Promiyelosit Lösemi Hücresi) hücreleri üzerinde *in vitro* sitotoksik etkisini araştırmışlardır. En güçlü sitotoksik aktiviteyi 72 saatte ($0,075 \pm 0,009$ mg/ml) HL-60/Dox hücrelerine karşı gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak bu çalışmada test edilen *Astragalus* taksonlarının metanollü ekstraları yüksek antioksidan, antiradikal, hidrojen peroksit giderme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, demir ve bakır iyonu indirgeme aktivitesi göstermektedir. Türkiye florasında yer alan *A. argaeus*, *A. gummifer*, *A. microcephalus*, *A. talasseus* ve *A. acmophyllus*'un Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde ve Alüminyum Klorür Kolorimetrik

yöntemi ile toplam flavonoid madde miktarı ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir. Yapılan çalışmada taksonların fenolik bileşik analizleri LC-MS/MS analiz metodu ile yapılmıştır. Çalışılan taksonların 14 adet bakteri ve 1 adet mayayı içeren toplam 15 mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitesi ayrıntılı şekilde bu çalışma ile gerçekleştirilmiştir.

Günümüzde gıda sanayinde kullanılan, ancak son yıllarda toksik etkisi olduğu belirtilen sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidanlarla ilgili çalışmalar hızla devam etmektedir. Antioksidan aktiviteye sahip bitki ekstraktlarının gıda sanayinde antioksidan etkilerinin incelenmesi ile bu çalışmaların endüstriyel uygulamaya yönelik devamlılığının sağlanması düşünülmektedir. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri çeşitli parametrelere bağlı olduğundan, bir bileşiğin antioksidan aktivitesini tayin etmek için standart bir yöntem yoktur. Bu yüzden antioksidan aktivite tayini birçok yöntem kullanılarak yapılır [144].

Özellikle bitkisel gıdalarda bulunan fenolik bileşikler de indirgen ajan, hidrojen verici, tekli oksijen yakalayıcı ve metal şelatör olmaları nedeniyle önemli antioksidanlar arasında sayılmaktadır [145].

Astragalus türlerinden elde edilen ekstraktların biyolojik aktivitesi ile ilgili yapılmış pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışma sonuçlarının fonksiyonel gıda katkı maddesi olarak doğal antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin kullanılmasına yönelik son zamanlarda artan çalışmalara katkı sağlayacağına inanılmaktadır. Daha sonraki çalışmalarda *in vivo* etki mekanizmaları ile ilgili çalışmalar gerçekleştirilebilir.

KAYNAKLAR

1. Block, G., Patterson, B., Subar, A., 1992. Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. **Nutrition and Cancer-An International Journal**, **18**: 1–29.
2. Ness, A.R., Powles, J.W., 1997. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. **International Journal of Epidemiology**, **26**: 1–13.
3. Heber, D., 2004. Vegetables, fruits and phytoestrogens in the prevention of disease. **Postgraduate Medicine**, **50**: 145–149.
4. Finaud, J., Lac, G., Filaire, E., 2006. Oxidative stress relationship with exercise and training. **Sports Medicine**, **36**: 327–358.
5. Baytop, T., 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavide: Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
6. Stephen, B.M.D., Richard, Ko., Pharm, D., Phd. 2004. Commonly Used Herbal Medicines in the United States. **The American Journal of Medicine**, **116**: 478–485.
7. Samec, D., Gruz, J., Strnad, M., Kremer, D., Kosalec, I., Grubescic, R.J., Karlovic, K., Lucic, A., Piljac-Zegarac, J., 2010. Antioxidant and antimicrobiyal properties of *Teicruium arduini* L. (Lamiaceae) flower and infusions (*Teucrium arduini* L. antioxidant capacity). **Food and Chemical Toxicology**, **48** (1): 113–119.
8. Carlsen, M.H., Halvorsen, B.L., Holte, K., Bohn, S.K., Dragland, S., Sampson, L., Willey, C., Senoo, H., Umezono, Yuko., Sanada, C., Barikmo, I., Behre, N., Willett, W.C., Phillips, K.M., Jr, D.R.J., Blomhoff, R., 2010. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. **Nutrition Journal**, **9**(3): 1–11.
9. Rodríguez Vaquero, M.J., Tomassini Serravalle, R., Manca de Narda, M.C., Strasser de Saad, A.M., 2010. Antioxidant capacity and antibacteriyel activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions. **Food Control**, **21** (5): 779–785.
10. Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, **86** (6): 985–990.
11. Bisignano, G., Germano, M.P., Nostro, A., Sanogo, R., 1996. Drugs used in Africa as dyes: Antimicrobial Activies. **Phytotherapy Research**, **9**: 346–350.
12. Lis-Balchin, M., Deans, S.G., 1996. Antimicrobial ejects of hydrophilic extracts of *Pelargonium* species (Geraniaceae). **Letters in Applied Microbiology**, **23**(4): 205–207.
13. Maoz, M., Neeman, I., 1998. Antimicrobial ejects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporium canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. **Letters in Applied Microbiology**, **26** (1): 61–63.

14. Rice-Evans, C.A., Sampson, J., Bramley, P.M., Holloway, D.E., 1997. Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo. **Free Radical Research**, **26** (4): 381–398.
15. Mccall, M.R., Frei, B., 1999. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans. **Free radical Biology and Medicine**, **26** (1-7): 1034–1053.
16. Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E.M., 2004. Fundamentals of Pharmamacognosy and Phytotherapy. Churchill Livingstone, Edinburg.
17. Yıldırım, Ş., 2004. Etnobotanik ve Türk Etnobotaniği. Kebikeç, Alp Matbaası, Ankara, 17: 175–193.
18. Baytop, T., 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitapevi, 145 s.
19. Altan, Y., Uğurlu, E., Gücel, S., 1999. Şenkaya (Erzurum) ve çevresinin Etnobotanik Özellikleri. 1st International Symposium on Protection of Natural Environment and Ehrami. Karaçam, Kütahya-Türkiye, 132–139.
20. Lev, E., Amar, Z., 2000. Ethnopharmacological Survey of Traditional Drugs sold in Israel at the end of the 20th century. **Journal of Ethnopharmacology**, **72**: 191–205.
21. Tütenocaklı, T., 2002. Ayvacık (B1, Çanakkale) ve Çevresinin Etnobotaniği. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
22. Koçyiğit, M., 2005. Yalova İli’nde Etnobotanik Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
23. Deniz, L., Serteser, A., Kargioğlu, M., 2010. Uşak Üniversitesi ve yakın çevresindeki bazı bitkilerin mahalli adları ve etnobotanik özellikleri. **Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi**, **1**: 57–72.
24. Kendir, G., Güvenç, A., 2010. Etnobotanik ve Türkiye’de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış. **Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi**, **Cilt: 30**, Sayı: 1, 49–80.
25. Akdur, R., Çöl, M., Işık, A., İdil, A., Durmuşoğlu, M., Tunçbilek, A., 1998. **Halk Sağlığı** I. Baskı, s: 3-13, Ankara.
26. Balandrin, M.F., Klocke, J.A., Wurtele, E.S., Bollinger, W.H., 1985. Natural Plant Chemicals. **Sources of Industrial and Medicinal Materials Science**, **228**: 1154–1160.
27. Han, K.H., 2001. Molecular Biology of Secondary Growth. **Journal of Plant Biotechnology**, **3**: 45–57.
28. Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. **Nutrients**, **2**: 1231–1246.
29. Cadenas, E., Packer, L., 2002. Handbook of Antioxidants, Revised and Expanded, 2nd Ed., Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.
30. Harborne, J.B., 1986. In: Cody, V., Middleton, E., Harborne, J.B., Alan, R., (eds) Plant flavonoids in biology and medicine. Liss, New York.

31. Friedli, G.L., 2011. Flavonoids [online], [http:// www. friedli.com /herbs / phytochem / flavonoids. html](http://www.friedli.com/herbs/phytochem/flavonoids.html) [Ziyaret Tarihi: 18 Kasım 2012].
32. Prochazkova, D., Bousva, I., Wilhelmova, N., 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**, **82**: 513–523.
33. Kahraman, A., Serteser, M., Köken, T., 2002. Flavonoidler. **Kocatepe Tıp Dergisi**, **3**: 1–8.
34. Booyse, F.M., Pan, W., Grenett, H.E., Parks, D.A., Darley-Usmar, V.M., Bradley, K.M., Tabengwa, E.M., 2007. Mechanism by which alcohol and wine polyphenols affect coronary heart disease risk. **Annals of Epidemiology**, **17**: S24–S31.
35. Kim, D., Lee, J.T., Lee, I.K., Ha, J., 2008. Comperative anticancer effects of flavonoids and diazepam in cultured cancer cells. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, **31**: 255–259.
36. Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, **99**: 191–203.
37. Rossi, R.J., 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **51**: 2866–2887.
38. Terpinc, P., Polak, T., Segatin, N., Hanzlowsy, A., Ulrich, N.P., Abramovic, H., 2011. Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids. **Food Chemistry**, **128**: 62–69.
39. Krimmel, B., Swoboda, F., Solar, S., Reznicek, G., 2010. OH-radical induced degradation of hydroxybenzoic- and hydroxycinnamic acids and formation of aromatic products *A. gamma* radiolysis study. **Radiation Physics and Chemistry**, **79**: 1247–1254.
40. Aydın, S.S., Üstün, F., 2007. Tanenler 1: Kimyasal yapıları, farmakolojik etkileri, analiz yöntemleri. **İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, **33**: 21–31.
41. Beecher, G.R., 2004. Proanthocyanidins: Biological activities associated with human health. **Pharmaceutical Biology**, **42**: 2–20.
42. Gaziano, M.J., Hennekens, C.H., 1993. The role of beta carotene in the prevention of cardiovascular disease. **Annals of New York Academy of Science**, **691**: 148–155.
43. Quiros, A.R.B., Costa, H.S., 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: a review. **Journal of Food Composition and Analysis**, Williams and Wilkins, Baltimore, 0781741335.
44. Stahl, W., Sies, H., 1996. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, **336**: 1–9.
45. Krinsky, N.I., 1998. Overview of lycopene, carotenoids, and disease prevention. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, **218**: 95–97.

46. Lessin, W.J., Catigani, G.I., Schawrtz, S.J., 1997. Quantification of cis-trans isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **45**: 3728–3732.
47. Liebler, D.C., 1993. Antioxidant reactions of carotenoids. **Annals of the New York Academy of the Sciences**, **691**: 20–31.
48. Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal antioksidanlar. **Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, **23**: 85-89.
49. Serteser, A., Gök, V., 2003. Doğal antioksidanların biyoyararlılığı. In: 3. Gıda Mühendisliği Kongresi. 2–4 October 2007; Ankara, Turkey, pp. 83–98 (in Turkish).
50. Nizamuddin, A., 1987. NADPH-dependent and O₂-dependent lipid peroxidation. **Biochemical Education**, **15** (2): 58–62.
51. Takao, T., 1994. A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. **Biosence Biotechnology and Biochemistry**, **58** (10): 1780–1783.
52. Altınığne, N., 2002. Beslenmede serbest radikaller ve antioksidanların etki mekanizmaları. Türkiye 7. Gıda Kongresi, Ankara, 646.
53. Koşar, M., Bozan, B., Temelli, F., Baser, H.K.C., 2002. Sumak (*Rhus coriaria*)’ın fenolik bileşikleri ve antioksidan etkileri. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs, Eskişehir.
54. Altan, N., Dinçel, A.S., Koca, C., 2006. Diabetes mellitus ve oksidatif stress. **Türk Biyokimya Dergisi**, **31** (2): 51–56.
55. Yılmaz, D., 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stress. **İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi**, **17** (2): 143–153.
56. Lewis, G., Schrire, B., MacKinder, B., Lock, M., (eds). 2005. Legumes of the world. Royal Botanical Gardens, Kew, UK.
57. Seçmen, O., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E., 2004. Tohumlu Bitkiler Sistematiği. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
58. Zeybek, N., Zeybek, U., 1994. Farmasötik botanik: Kapalı tohumlu bitkiler (Angiospermea) sistematiği ve önemli maddeler (2.Baskı). İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.
59. McKey, D., 1994. Legumes and nitrogen: the evolutionary ecology of a nitrogendemanding lifestyle. Pages 211–228 in Advances in Legume Systematics, part 5, the nitrogen factor (J. I. Sprent and D. McKey, eds.). Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
60. Sprent, J.I., McKey, D., (eds.) 1994. Advances in legume systematics, part 5, the nitrogen factor. Royal Botanic Gardens, Kew.
61. Graham, P.H., Vance, C.P., 2003. Legumes: importance and constraints to greater use. **Plant physiology**, **131**: 872 – 877.
62. Davis, P.H., 1970. Flora of Turkey and The East Aegean Islands” Edinburgh Univ. Press. Edinburgh, 3, 49–254.
63. Maassoumi, A.A., 1998. “*Astragalus* in the Old World, Check-List”, **Research Institute of Forest and Rangelands**, İran.

64. Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C., 2000. "Flora of Turkey and The East Aegean Islands", 11, 79–88.
65. Ekici, M., Aytaç, Z., Akan, M., Pınar, M., 2008. "A new species *Astragalus* L. (section: Onobrychoidei DC.: Fabaceae) from Turkey". **Botanical Journal of the Linnean Society**, **157**: 741–747.
66. Uysal, İ., 2000. *Astragalus trojanus* Endemik Türünün Morfolojisi Anatomisi ve Ekolojisi Üzerinde Gözlemler. **Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, **13**: 54–66.
67. Kaçmaz, S., 2007. Kıymeti Bilinmeyen Bitki: GEVEN, **Ekoloji Magazin Dergisi**, Sayı: **13** Ocak-Mart.
68. Rios, J.L., Waterman, P.G., 1997. A review of the pharmacology and toxicology of *Astragalus*. **Phytotherapy Research**, **11**: 411–418.
69. Tang, W., Eisenbrand, G., 1992. Chinese Drugs of Plant Origin. Springer-Verlag, Berlin.
70. Lasztity, R., Hidvegi, M., Bata, A., 1998. Saponins in food. **Food Reviews International**, **14**: 371–390.
71. Hostettmann, K., Marston, A., 2005. Saponins. Chemistry and pharmacology of natural products. Cambridge University Press, Cambridge, isbn-10: 0521020174.
72. Oleszek, W.A., 2002. Chromatographic determination of plant saponins. **Journal of Chromatography A**, **967**: 147–162.
73. Wink, M., 2008. Plant secondary metabolism: diversity, function and its evolution. **Journal of Natural Products**, **3**: 1205–16.
74. Lacaille-Dubois, M.A., Wagner, H., 2000. Bioactive saponins from plants: an update. In: Studies in Natural Products Chemistry (Atta-ur-Rahman, ed.), Elsevier. 633–687 pp. London.
75. Mamedova, R.P., Isaev, M.I., 2004. Triterpenoids from *Astragalus* plants. **Chemistry of Natural Compounds**, **40**: 303–357.
76. Bedir, E., Çalış, I., Aquino, R., Piacente, S., Pizza, C., 1998a. Cycloartane triterpeneglycosides from the roots of *Astragalus brachypterus* and *Astragalus microcephalus*. **Journal of Natural Products**, **61**: 1469–1472.
77. Bedir, E., Çalış, I., Aquino, R., Piacente, S., Pizza, C., 1999a. Secondary metabolites from the roots of *Astragalus trojanus*. **Journal of Natural Products**, **62**: 563–568.
78. Bedir, E., Çalış, I., Aquino, R., Piacente, S., Pizza, C., 1999b. Trojanoside H: acycloartane-type secondary glycoside from the aerial parts of *Astragalus trojanus*. **Phytochemistry**, **51**: 1017–1020.
79. Bedir, E., Çalış, I., Dunbar, C., Shara, R., Buolamwini, J.K., Khan, I.A., 2001. Two novel cycloartane-type triterpene glycosides from the roots of *Astragalus prusianus*. **Tetrahedron**, **57**: 5961–5966.
80. Çalış, I., Yürüker, A., Tasdemir, D., Wright, A.D., Sticher, O., Luo, Y.D., Pezzuto, J.M., 1997. Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus melanophrurius*. **Planta Medica**, **63**: 183–186.

81. Çalış, I., Dönmez, A.A., Perrone, A., Pizza, C., Piacente, S., 2008. Cycloartane glycosides from *Astragalus campylosema* Boiss. ssp. *campylosema*. **Phytochemistry**, **69**: 2634–2638.
82. Gülcemal, D., Alankuş-Çalışkan, O., Perrone, A., Özgökçe, F., Piacente, S., Bedir, E., 2011. Cycloartane glycosides from *Astragalus aureus*. **Phytochemistry**, **72**: 761–768.
83. Gülcemal, D., Masullo, M., Bedir, E., Festa, M., Karayıldırım, T., Alankuş-Çalışkan, Ö., Piacente, S., 2012. Triterpene Glycosides from *Astragalus angustifolius*. **Planta Medica**, **78**: 720–729.
84. Horo, I., Bedir, E., Perrone, A., Özgökçe, F., Piacente, S., Alankuş-Çalışkan, Ö., 2010. Triterpene glycosides from *Astragalus icmadophilus*. **Phytochemistry**, **71**: 956–973.
85. Polat, E., Alankuş-Çalışkan, Ö., Perrone, A., Piacente, S., Bedir, E., 2009. Cycloartanetype glycosides from *Astragalus amblolepis*. **Phytochemistry**, **70**: 628–634.
86. Polat, E., Bedir, E., Perrone, A., Piacente, S., Alankuş-Çalışkan, Ö., 2010. Triterpenoid saponins from *Astragalus wiedemannianus*. **Phytochemistry**, **71**: 658–662.
87. Savran, T., Gülcemal, D., Masullo, M., Karayıldırım, T., Polat, E., Piacente, S., Alankuş Çalışkan, Ö., 2012. Cycloartane glycosides from *Astragalus erinaceus*. **Records of Natural Products**, **6**: 230–236.
88. Yeşilada, E., Bedir, E., Çalış, I., Takaishi, Y., Ohmoto, Y., 2005. Effects of triterpene saponins from *Astragalus* species on in vitro cytokine release. **Journal of Ethnopharmacology**, **96**: 71–77.
89. Özipek, M., Dönmez, A.A., Çalış, I., Brun, R., Rüedi, P., Taşdemir, D., 2005. Leishmanicidal cycloartane-type triterpene glycosides from *Astragalus oleifolius*. **Phytochemistry**, **66**: 1168–1173.
90. Gariboldi, P., Pelizzoni, F., Tato, M., Verotta, L., El-Sebakhy, N.A., Asaad, A.M., Abdallah, R.M., Toaima, S.M., 1995. Cycloartane triterpene glycosides from *Astragalus trigonus*. **Phytochemistry**, **40**: 1755–1760.
91. Radwan, M.M., El-Sebakhy, N.A., Asaad, A.M., Toaima, S.M., Kingston, D.G.I., 2004. Kahiricosides II-V cycloartane glycosides from an Egyptian collection of *Astragalus kahiricus*. **Phytochemistry**, **65**: 2909–2913.
92. Khushbaktova, Z.A., Agzamova, M.A., Syrov, V.N., Radchenko, N.V., Mirsalikhova, N.M., Umarova, F.T., 1994. Influence of cycloartanes from plants of the genus *Astragalus* and their synthetic analogs on the contractive function of the myocardium and the activity of Na, K-ATPase. **Khimiya Prirodnykh Soedinenii**, **4**: 510–514.
93. Sevimli-Gür, C., Onbasilar, I., Atilla, P., Genç, R., Çakar, N., Deliloğlu-Gürhan, I., Bedir, E., 2011. In vitro growth stimulatory and in vivo wound healing studies on cycloartane-type saponins of *Astragalus* genus. **Journal of Ethnopharmacology**, **134**: 844–850.

94. Kikuchi, T., Akihisa, T., Tokuda, H., Ukiya, M., Watanabe, K., Nishino, H., 2007. Cancer chemopreventive effects of cycloartane-type and related triterpenoids in in vitro and in vivo models. **Journal of Natural Products**, **70**: 918–922.
95. Adıgüzel, A., Sökmen, M., Özkan, H., Ağar, G., Güllüce, M., Şahin, F., 2009. In vitro antimicrobial and antioxidant activities of methanol and hexane extract of *Astragalus* species growing in the eastern anatolia region of Turkey. **Turkish Journal of Biology**, **33**: 65–71.
96. Denizli, N., Horo, I., Gülcemal, D., Masullo, M., Festa, M., Capasso, A., Koz, Ö., Piacente, S., Alankuş-Çalışkan, Ö., 2014. Cycloartane glycosides from *Astragalus plumosus* var. *krugianus* and evaluation of their antioxidant potential. **Fitoterapia**, **92**: 211–218.
97. Türker, A.U., Yıldırım, A.B., 2013. Evaluation of antibacterial and antitumor activities of some turkish endemic plants. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, **12** (6): 1003–1010.
98. Keskin, C., 2009. *Astragalus diptherites* Fenzl var. *diptherites* ve *Astragalus gymnalocepias* Rech (Fabaceae) Taksonlarının Farklı Polariteye Sahip Çözücüler ile Hazırlanan Özütlelerinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin “Araştırılması. T.C. Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Diyarbakır, 120 s.
99. Güllüce, M., Agar, G., Barış, Ö., Karadayı, M., Orhan, F., Şahin, F., 2010. Mutagenic and Antimutagenic Effects of Hexane Extract of some *Astragalus* Species Grown in the Eastern Anatolia Region of Turkey. **Phytotherapy Research**, **24**: 1014–1018.
100. Horo, İ., Bedir, E., Masullo, M., Piacente, S., Özgökçe, F., Alankuş-Çalışkan, Ö., 2012. Saponins from *Astragalus hareftae* (NAB.) SIRJ. **Phytochemistry**, **84**: 147–153.
101. Yalçın, F.N., Piacente, S., Perrone, A., Capasso, A., Duman, H., Çalış, İ., 2012. Cycloartane glycosides from *Astragalus stereocalyx* Bornm. **Phytochemistry**, **73**: 119–126.
102. Gülcemal, D., Masullo, M., Napolitano, A., Karayıldırım, T., Bedir, E., Alankuş-Çalışkan, Ö., Piacente, S., 2013. Oleanane glycosides from *Astragalus tauricolus*: Isolation and structural elucidation based on a preliminary liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry profiling. **Phytochemistry**, **86**: 184–194.
103. Karabey, F., Khan, İ.A., Bedir, E., 2012. Cycloartane-type glycosides from *Astragalus schottianus*. **Phytochemistry Letters**, **5**: 320–324.
104. Avunduk, S., Mitaine-Offer, A.C., Alankuş-Çalışkan, Ö., Miyamoto, T., Şenol, S.G., Lacaille-Dubois, M.A., 2008. Triterpene Glycosides from the Roots of *Astragalus flavescens*. **Journal of Natural Products**, **71**: 141–145.
105. Tabanca, N., Bedir, E., Alankuş-Çalışkan, Ö., Khan, İ.A., 2005. Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus gilvus* Boiss. **Biochemical Systematics and Ecology**, **33**: 1067–1070.

106. Djimtombayea, B.J., Alankuş-Çalışkan, Ö., Gülcemal, D., Khan, İ.A., Anıla, H., Bedir, E., 2013. Unusual Secondary Metabolites from *Astragalus halicacabus* Lam. **Chemistry & Biodiversity**, Vol. 10.
107. Baştürk, R., 2011. *Astragalus strictipinus*‘dan Saponinlerin İzolasyonu ve Karakterizasyonu. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 41 s.
108. Polat, E., 2009. *Astragalus amblelepis* ve *Astragalus wiedemannianus*’un Sekonder Metabolitlerinin İzolasyonu ve Yapı Analizi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir, 300 s.
109. Davis, P.H., (ed.), 1975. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, 5. University Press, Edinburg.
110. Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K., (ed.), 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, 10. University Press, Edinburg.
111. Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C., 2000. Flora of Turkey and The East Aegean Islands, 11, 79–88.
112. Albayrak, S., Aksoy, A., Sağdıç, O., Hamzaoglu, E., 2010. Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. **Food Chemistry**, 119: 114–122.
113. Sağdıç, O., Özcan, M., 2003. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. **Food Control**, 14 (3): 141–143.
114. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., Shahabimajd, N., 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, 5(11): 1142–1145.
115. Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex.: Specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, 269 (2): 337–341.
116. Cao, L., Si, J.Y., Liu, Y., Sun, H., Jin, W., Li, Z., Zhao, X.H., Pan, R.L., 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* Maxim. **Food Chemistry**, 115 (3): 801–805.
117. Lee, S.K., Mbawambo, Z.H., Chung, H., Luyengi, L., Gamez, E.J., Mehta, R.G., Kinghorn, A.D., Pezzuto, J.M., 1998. Evaluation of the antioxidant potential of natural products. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, 1 (1): 35–46.
118. Ruch, R.J., Cheng, S.J., Klaunig, J.E., 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. **Carcinogenesis**, 10: p. 1003.
119. Decker, E.A., Welch, B., 1990. The role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 38: 674–677.
120. Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. **Japanese Journal of Nutrition**, 44: 307–315.

121. Benzie, I.F.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “ antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, **239**(1): 70–76.
122. Apak, R., Güçlü, K., Özyurek, M., Karademir, S.E., Ercağ, E., 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, **57** (5/6): 292–304.
123. SPSS; SPSS Version 10.0., 2001. SPSS Inc, 233 S. Wacker Drive, Chicago, Illinois.
124. Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., 2006. Antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-o-(β -d-glucopyranosyl)-hederagenin. **Phytotherapy Research**, **20**: 130–134.
125. Zarena, A.S., Manohar, B., Udaya-Sankar, K., 2010. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of xanthones from mangosteen pericarp by response surface methodology. **Food and Bioprocess Technology**. doi: 10.1007/s11947-010-0404-7.
126. Abdel-Hameed, E.S., 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian ficus species leaf samples. **Food Chemistry**, **114**: 1271–1277.
127. Statue-Garcia, M.T., Heionen, M., Frankel, E.N., 1997. Antioxidant activity of anthocyanin in LDL and lecithin liposome systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **5**: 362–367.
128. Asgarpanah, J., Motamed, S.M., Farzaneh, A., Ghanizadeh, B., Tomraee, S., 2011. Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of *Astragalus squarrosus* Bunge. **African Journal of Biotechnology**, Vol. **10**(82), pp. 19176–19180.
129. Mole, S.J, Ross, A.M., Waterman, P.G., 1988. Light-induced variation in phenolic levels in foliage of rain forest plants. I. Chemical change. **Journal of Chemical Ecology**, **14**: 1–21.
130. Smith, H., 1983. Regulatory mechanisms in the photocontrol of flavonoid biosynthesis. In: Milborrow BV (ed.): Biosynthesis and its control in plants (pp 303-320). New York: Academic Press.
131. Jun, M.Y., Kim, E.H., Lim, J.J., Kim, S.H., Kim, Se.H., Lim, J.D., Cheoi, D.S., Cheoi, Yu.S., Chang, Ye.Y., Chung, I.M., 2012. Variation of Phenolic Compounds Contents in Cultivated *Astragalus membranaceus*. **Korean Journal of Medicinal Crop Science**, **20**(6): 47–453.
132. Krasteva, I.N., 2013. Phenolic Compounds in Four *Astragalus* Species. **European Journal of Medicinal Plants**, **3**(4): 616–623.
133. Yang, C., Yang, Y., Aisa, H.A., Xin, X., Ma, H., Yili, A., Zhao, Y., 2012. Bioassay guided isolation of antioxidants from *Astragalus altaicus* by combination of chromatographic techniques. **Journal of Separation Science**, **35**: 977–983.
134. Kumaran, A., Karunakaran, J., 2006. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. **LWT–Food Science and Technology**, **40** (2): 344–352.

135. Mariod, A.A., Ibrahim, R.M., İsmail, M., Ismail, N., 2009. Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. **Food Chemistry**, **116** (1): 306–312.
136. Lee, J., Koo, N., Min, D.B., 2004. Reactive Oxygen Species, Aging and Antioxidati Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol. 3. Syf 22.
137. Gordon, M.H., 1990. The Mechanism of Antioxidant Action in vitro. In: B.J.F. Hudson, Editor, *Food antioxidants*, Elsevier Science, pp. 1–18, London.
138. Lim, D.H., Choi, D.B., Choi, O.Y., Cho, K.A., Kim, R., Choi, H.S., Cho, H., 2011. Effect of *Astragalus sinicus* L. seed extract on antioxidant activity. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, **17**: 510–516.
139. Peksel, A., Arisan-atac, I., Yanardağ, R., 2010. Evaluation of Antioxidant and Antiacetylcholinestrease Activities of the Extracts of *Pistacia Atlanttica* Dsef. Leaves. **Journal of Food Biochemistry**, **34**: 451–476.
140. Mathew, S., Abraham, T.E., 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. **Food Chemistry**, **94**: 520–528.
141. Pistelli, L., Bertoli, A., Leporia, E., Morellia, I., Panizzi, L., 2002. Antimicrobial and antifungal activity of crude extracts and isolated saponins from *Astragalus errucosus*. **Fitoterapia**, **73**: 336–339.
142. Teyeb, H., Zanina, N., Neffati, M., Douki, W., Najjar, M.F., 2012. Cytotoxic and antibacterial activities of leaf extracts of *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae) growing wild in Tunisia. **Turkish Journal of Biology**, **36**: 53–58.
143. Ionkova, I., Momekov, G., Proksch, P., 2010. Effects of cycloartane saponins from hairy roots of *Astragalus membranaceus* Bge., on human tumor cell targets. **Fitoterapia**, **81**: 447–451.
144. Bayrak, B.B., 2013. Çiriş'in (*Eremurus spectabilis* Bieb.) ve bazı Kükürtlü Bileşiklerin Antioksidan Aktiviteleri. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. İstanbul.
145. Rice-Evans, C.A., 1995. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research**, **22**: 375–383.

ÖZGEÇMİŞ

01.09.1990 tarihinde Kayserinin Kocasinan ilçesinde doğdu. 1996 yılında okul öncesi eğitimine başladı. 1997 yılında Kayseri Şeker İlköğretim Okulunda ilkokul eğitimine başladı. İlkokul 4. sınıfa kadar Şeker İlköğretim Okulunda ilkokul eğitimini sürdürdü. Sonra ilkokul 4.sınıfı Hacı Mustafa Gazioğlu ilköğretim okulunda devam etti ve aynı okulda ilköğretim eğitimini bitirdi. 2004 yılında orta öğretimini Kayseri Sümer Lisesinde başladı. 2007 yılında liseden mezun oldu. 2008 yılında üniversite sınavında Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü lisans programını kazandı. 2012 yılında Biyoloji Bölümü lisans programından yüksek derece ile mezun oldu. 2013 yılında Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümünde, tezli yüksek lisans programına başladı. Şu an tezli yüksek lisans programına devam etmektedir.

İletişim Bilgileri

Onur KAYA

Tel: 05384008606

E-posta: hatkoyonurr@gmail com