

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

***Astragalus cryptocarpus* DC. VE *Astragalus rubrostriatus* Bunge BİTKİLERİNİN
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Meryem AKGÜL
DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Deniz İRTEM KARTAL

VAN-2022

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

***Astragalus cryptocarpus* DC. VE *Astragalus rubrostriatus* Bunge BİTKİLERİNİN
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Meryem AKGÜL

VAN-2022

KABUL VE ONAY SAYFASI

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Dr. Öğr. Üyesi Deniz İRTEM KARTAL danışmanlığında, Meryem AKGÜL tarafından sunulan “***Astragalus cryptocarpus* DC. ve *Astragalus rubrostriatus* Bunge Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi**” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 01/07/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Dr. Ö. Üyesi Can Yılmaz

İmza:

Üye: Doç. Dr. Ahmet ALTAY

İmza:

Üye: Dr. Ö. Üyesi Deniz İRTEM KARTAL

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Meryem AKGÜL

ÖZET

***Astragalus cryptocarpus* DC. VE *Astragalus rubrostriatus* Bunge BİTKİLERİNİN ANTIÖKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

AKGÜL, Meryem

Yüksek Lisans Tezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Deniz İRTEM KARTAL

Ağustos 2022, 47 sayfa

Van ili ve çevresinde birçok endemik bitki türü yer almaktadır. Bu çalışmada *Astragalus cryptocarpus* DC. ve *Astragalus rubrostriatus* Bunge türlerinin çiçek ve yaprak kısımları kullanılıp, metanol ekstreleri alınarak antioksidan kapasite tayini DPPH ve ABTS yöntemlerine göre yapıldı. Ekstrelerdeki toplam fenolik, toplam flavonoid madde içeriği ve metal şelatlama aktivitesi çeşitli yöntemlerle belirlendi. Deneyler sonucunda *A. cryptocarpus* türünün yaprakların fenolik ve flavonoid madde içeriği (1066 µg/g ve 561,7 µg/g) çiçeklerin fenolik ve flavonoid madde içeriğine (626,4 µg/g ve 369,1 µg/g) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha yüksek bulundu. *A. rubrostriatus* türünün yapraklarında da fenolik ve flavonoid madde içeriği (1225 µg/g ve 725,7 µg/g) çiçeklerin fenolik ve flavonoid madde içeriğine (804,1 µg/g ve 557,5 µg/g) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha yüksek bulundu. İki bitkinin fenolik ve flavonoid madde içeriği kıyaslandığında *A. rubrostriatus* daha yüksek bulundu. Bu doğrultuda *A. cryptocarpus* türünde ABTS radikalini süpürme kapasitesi yaprağın metanol ekstresinde (EC₅₀: 6,59 µg/ml) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha yüksek bulundu. DPPH radikalini süpürme aktivitesi ise *A. cryptocarpus* türünde yapraklarda (EC₅₀: 20,51 µg/ml) daha yüksek bulundu. *A. rubrostriatus* türünde de DPPH radikalini süpürme kapasitesi yapraklarda (EC₅₀: 17,91 µg/ml) daha yüksek bulundu. *A. rubrostriatus* türünde ABTS radikalini süpürme kapasitesi yapraklarda (EC₅₀: 6,94 µg/ml) daha yüksek bulunmuştur. İki tür arasındaki kıyaslama da ABTS radikalini süpürme kapasitesi, *A. rubrostriatus* türünde istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha yüksek bulundu.

Anahtar kelimeler: Antioksidan kapasite, *Astragalus cryptocarpus*, *Astragalus rubrostriatus*, Fitokimyasal aktivite.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *Astragalus cryptocarpus* DC. AND *Astragalus rubrostriatus* Bunge PLANTS

AKGÜL, Meryem

M.Sc. Thesis, Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Deniz İRTEM KARTAL

August 2022, 47 pages

There are many endemic plant species in and around the province of Van. In this study, the flower and leaf parts of *Astragalus cryptocarpus* DC. and *Astragalus rubrostriatus* Bunge species were used and methanol extracts were taken to determine the antioxidant capacity according to DPPH and ABTS methods. The total phenolic content in the extracts, the total flavonoid substance content and the metal chelating activity were determined by various methods. As a result of the experiments, the phenolic and flavonoid substance content (1066 µg/g and 561.7 µg/g) of the leaves of *A. cryptocarpus* species was found to be statistically significantly higher than the phenolic and flavonoid substance content of the flowers (626.4 µg/g and 369.1 µg/g). The phenolic and flavonoid content (1225 µg/g and 725.7 µg/g) was statistically significantly higher in the leaves of *A. rubrostriatus* compared to the phenolic and flavonoid content (804.1 µg/g and 557.5 µg/g) of the flowers. When the phenolic and flavonoid substance content of the two plants was compared, *A. rubrostriatus* was found to be higher. Accordingly, the capacity to sweep the ABTS radical in species *A. cryptocarpus* was statistically significantly higher in the leaf's methanol extract (EC50: 6.59 µg/ml). DPPH radical scavenging activity was higher in *A. cryptocarpus* species leaves (EC50: 20,51 µg/ml). In *A. rubrostriatus* species, the capacity to sweep the DPPH radical was higher in leaves (EC50: 17,91 µg/ml). In *A. rubrostriatus*, the capacity to sweep the ABTS radical was higher in leaves (EC50: 6,94 µg/ml). In the comparison between the two species, the capacity to sweep the ABTS radical was statistically significantly higher in *A. rubrostriatus* species.

Keywords: Antioxidant capacity, *Astragalus cryptocarpus*, *Astragalus rubrostriatus*, Phytochemical activity.



ÖN SÖZ

Bu tez çalışması süresince bana her zaman yol gösteren, yüksek lisans öğrenimim boyunca desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman eksik etmeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tez danışmanım ve değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Deniz İRTEM KARTAL'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışması kapsamında kullanılan bitkinin sistematik tayinini gerçekleştiren Dr. Öğr. Ü. Muzaffer MÜKEMRE'ye,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında vermiş olduğu destek ve katkılarından dolayı kıymetli arkadaşım Oktay ŞAYAK'a,

Hayatımın her aşamasında maddi, manevi desteklerini esirgemeyen özveri ile hep yanımda olan başta annem Güler SAĞLAM'a ve tüm aileme,

Ayrıca tez çalışmam süresince her zaman yanımda olup motivasyonumu arttıran, desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen değerli eşim Davut AKGÜL'e,

En içten duygularla teşekkürlerimi sunarım.

2022

Meryem AKGÜL



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Serbest Radikaller.....	2
1.1.1. Serbest radikal kaynakları	3
1.1.2. Serbest radikal çeşitleri.....	4
1.1.3. Serbest radikallerin etkileri.....	5
1.2. Antioksidanlar	6
1.2.1. Antioksidanların sınıflandırılması	7
1.2.1.1. Endojen antioksidanlar	7
1.2.1.2. Eksojen antioksidanlar.....	8
1.3. Oksidatif Stres	8
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	11
2.1. Bitkilerde Biyoaktif Bileşikler	11
2.1.1. Fenolik bileşikler	11
2.2. Farklı Bitki Türlerinde Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	13
2.3. <i>Astragalus</i> Cinsi Hakkında Genel Bilgiler	15
2.3.1. <i>Astragalus cryptocarpus</i> DC.	16
2.3.2. <i>Astragalus rubrostriatus</i> Bunge	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. Kullanılan cihaz ve malzemeler	19

	Sayfa
3.1.2. Kullanılan kimyasallar.....	19
3.1.3. Deney materyali.....	19
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Ekstraksiyon	20
3.2.2. Antioksidan aktivite çalışmaları	20
3.2.2.1. DPPH•serbest radikal yakalama aktivitelerinin belirlenmesi....	20
3.2.2.2. ABTS katyon radikalini giderme aktivitesi	21
3.2.2.3. Metal şelatlama etkisi	22
3.2.2.4. Toplam fenolik madde içeriği	23
3.2.2.5. Toplam flavonoid madde içeriği	24
3.2.3. Verim.....	25
3.2.4. Değerlendirme	25
4. BULGULAR	27
4.1. Verim	27
4.2. Antioksidan Aktivite Bulguları	27
4.2.1. DPPH• radikalini giderme bulguları.....	27
4.2.2. ABTS+ radikalini giderme bulguları.....	30
4.2.3. Metal şelatlama kapasite tayini bulguları	31
4.2.4. Toplam fenolik madde miktarı bulguları.....	33
4.2.5. Toplam flavonoid madde miktarı bulguları	35
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	37
5.1. Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde İçeriği	37
5.2. Antioksidan Kapasite Sonuçları	39
KAYNAKLAR.....	43
ÖZ GEÇMİŞ.....	47

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge

Sayfa

Çizelge 1.1. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri.....	5
Çizelge 1.2. Antioksidanların sınıflandırılması.....	8
Çizelge 4.1. <i>Astragalus cryptocarpus</i> DC.' nin ekstraktlarının ekstraksiyon verimleri	27
Çizelge 4.2. <i>Astragalus rubrostriatus</i> Bunge' nin ekstraktlarının ekstraksiyon verimleri	27
Çizelge 4.3. <i>Astragalus cryptocarpus</i> ve <i>Astragalus rubrostriatus</i> bitki türlerinin metanol ekstraktlarının DPPH radikal giderme kapasiteleri.....	30
Çizelge 4.4. <i>Astragalus cryptocarpus</i> ve <i>Astragalus rubrostriatus</i> bitki türlerinin metanol ekstraktlarının ABTS radikal giderme kapasiteleri.....	31
Çizelge 4.5. <i>Astragalus cryptocarpus</i> ve <i>Astragalus rubrostriatus</i> bitki türlerinin metanol ekstraktlarının metal şelatlama yeteneği	33
Çizelge 4.6. <i>Astragalus cryptocarpus</i> ve <i>Astragalus rubrostriatus</i> bitki türlerinin metanol ekstraktlarından elde edilen toplam fenolik madde içeriği	35
Çizelge 4.7. <i>Astragalus cryptocarpus</i> ve <i>Astragalus rubrostriatus</i> bitki türlerinin metanol ekstraktlarından elde edilen toplam flavonoid madde içeriği	36

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Haber-Weiss reaksiyonu ve fenton reaksiyonu	3
Şekil 1.2. Antioksidan gruplar ve görevleri.....	7
Şekil 1.3. Oksidatif denge	9
Şekil 2.1. Önemli fenolik asit türlerinin kimyasal yapısı	12
Şekil 2.2. Çalışma için kullanılan <i>Astragalus cryptocarpus</i> DC.'nin arazi fotoğrafi.....	17
Şekil 2.3. Çalışma için kullanılan <i>Astragalus rubrostriatus</i> Bunge'nin arazi fotoğrafi.....	18
Şekil 3.1. Kuersetinin $AlCl_3$ ile reaksiyonu	21
Şekil 3.2. ABTS radikal giderme aktivitesi.....	22
Şekil 3.3. Metal şelatlama reaksiyon modellemesi.....	23
Şekil 3.4. Folin-Ciocalteu reaksiyonu	24
Şekil 4.1. DPPH radikalının süpürme aktivitesi.....	28
Şekil 4.2. DPPH testi İçin kuersetin standart grafiği.....	29
Şekil 4.3. <i>Astragalus cryptocarpus</i> ve <i>Astragalus rubrostriatus</i> bitkilerinden elde edilen ekstrelerin DPPH radikalını giderme kapasitesi (%)	29
Şekil 4.4. ABTS testi için troloks standart grafiği.....	30
Şekil 4.5. <i>Astragalus cryptocarpus</i> ve <i>Astragalus rubrostriatus</i> bitkilerinden elde edilen ekstrelerin ABTS radikalını giderme kapasitesi (%)	31
Şekil 4.6. Metal şelatlama testi için EDTA standart grafiği.....	32
Şekil 4.7. <i>Astragalus cryptocarpus</i> ve <i>Astragalus rubrostriatus</i> bitkilerinden elde edilen ekstrelerin metal şelatlama yeteneği (%)	32
Şekil 4.8. Toplam fenolik madde içeriği için gallik asit standart grafiği	34
Şekil 4.9. <i>Astragalus cryptocarpus</i> ve <i>Astragalus rubrostriatus</i> bitkilerinden elde edilen ekstrelerin toplam fenolik madde içeriği	34

Şekil**Sayfa**

Şekil 4.10. Toplam flavonoid madde içeriği için kateşin standart grafiği.....36

Şekil 4.11. *Astragalus cryptocarpus* ve *Astragalus rubrostriatus* bitkilerinden elde edilen ekstrelerin toplam flavonoid madde içeriği36



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat
cm	Santimetre
dk	Dakika
DPPH•	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali
G	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IC ₅₀	İnhibisyon konsantrasyonu
L	Litre
Mg	Miligram
mL	Mililitre
Mm	Milimolar
NaCl	Sodyum klorür
nm	Nanometre
NO•	Nitrik oksit radikali
O ₂	Oksijen
OH•	Hidroksil radikali
ONOO-	Peroksinitrit
ROO•	Peroksit radikali
µg	Mikrogram

Kısaltmalar

Açıklama

A	Absorbans
ABTS	2,2'-Azino-Bis (3-ethylbenzothiazoline-sülfonik)
CAT	Katalaz
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DPPH	2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
GPx	Glutasyon Peroksidaz
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HAT	Hidrojen Atom Transferi
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler
MSR	Metiyonin Sülfoksit Redüktaz
NaOH	Sodyum Hidroksit
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RSA	Radikal Süpürme Aktivitesi
SD	Standart Sapma
SET	Tek Elektron Transferi
SOD	Süperoksit Dismutaz
TEAC	Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
UV	Ultraviyole

1. GİRİŞ

Günümüzde sağlığını olumsuz etkileyen dış faktörler hızla artmaktadır. Bu olumsuz dış faktörler vücudumuzdaki dengeyi bozup antioksidan seviyesini azaltarak serbest radikal oluşumuna sebep olup hastalıkların artmasıyla sonuçlanmaktadır. Birçok hastalığın temelinde vücudumuzda ki serbest radikal artışı yatmaktadır. Serbest radikal artışını önlemek hastalıkları önlememize yardımcı olmaktadır. İnsan vücudunda serbest radikallerle savaşıması için antioksidan koruma mekanizmaları mevcuttur. Fakat olumsuz dış faktörlerde (çevre kirliliği, radyasyon, tarım ilaçları, ağır metaller ve stres) bu koruma mekanizmaları yetersiz kalarak dışarıdan antioksidan takviyesine ihtiyaç duyulmaktadır (Ayvaz, 2021). Bitkiler insanlar için hayatın önemli parçalarından biri olmuştur. İnsanlar bitkileri birçok farklı amaçla kullanmıştır. Sadece yiyecek olarak değil bunun yanı sıra birçok hastalığın teşhis ve tedavisinde bitkilerden faydalanmışlardır (Njume ark., 2009).

Teknolojik ilerlemenin her geçen gün arttığı bu dönemde gıda endüstrilerinde sentetik antioksidanlara fazlasıyla yer verilmektedir. 1970'lerden bu yana sentetik antioksidanlar ticari boyutlarda gıdaların içerisine konulmaya başlanmıştır (Ayvaz, 2021). Fakat sentetik antioksidanların olumsuz etki gösterdiklerine araştırmalar sonucu dikkat çekilmektedir. Bunun sonucunda tüketicilerin doğal antioksidanlara yönelimi beraberinde gıda endüstrisini de doğal antioksidan kaynaklarını araştırmaya teşvik etmiştir. Gün geçtikçe doğal aromatik bitkiler üzerine yapılan araştırmalar hız kazanmaktadır (Deveci ve ark., 2016).

Bitkiler içeriğindeki maddelerin temel kaynağını doğal antioksidanlar oluşturdukları için süper antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır (Merken ve ark., 2001). Bitkiler yüzyıllardır hem beslenme ihtiyacı hem de hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Son dönemlerde bilimsel araştırmalar bitkilerin içeriğindeki bileşenlerin teröpatik (tedavi edici) özellikleri barındırdığını ortaya koymuştur. İnsan sağlığı üzerindeki pozitif tesirlerinden dolayı tıbbi bitkiler olarak tanımlanan bitki türleri bilim insanlarının ilgisini çekmiştir. Tıbbi bitkiler birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde destekleyici olarak kullanılmakla beraber son yıllarda tüm dünya çapında bu konuyla alakalı bilimsel araştırmalar hızla artmaktadır. Bu tıbbi bitkilere

örnek olarak *Hypericum* cinsine ait türler verilebilmektedir. *Hypericum* cinsine ait türler dünyanın çoğu bölgesinde yara iyileştirici, iltihap giderici ve yatıştırıcı faydalarından kaynaklı yüzyıllardır tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır (Çırak ve Kevseroğlu, 2004). Aynı şekilde *Rosa canina*, *Teucrium polium*, *Urtica dioica* ve *Viscum album* gibi tıbbi bitki türleri alternatif tıpta migren, yüksek tansiyon, diyabet ve ateroskleroz gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Bar-Sela, 2011).

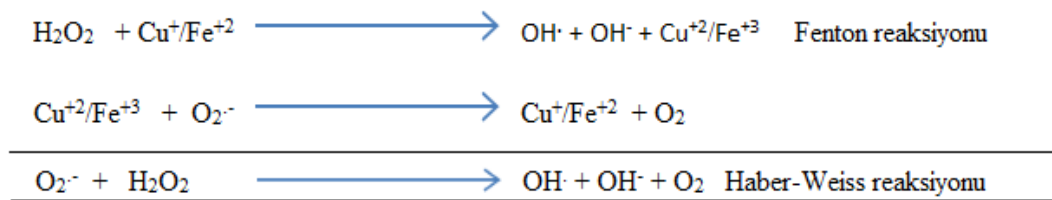
Belirli kimyasal bileşenleri içeren bir bitki tıbbi özelliğe sahip olabilmektedir. Bitkideki bu kimyasal bileşenler çoğu durumda izole edilip saflaştırılarak kesin olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan kimyasal bileşenler fitokimyasallar olarak adlandırılmaktadır. Fitokimyasallar besleyici olma özelliklerinin yanı sıra hastalık engelleyici ve koruyucu özelliklere sahiptir. Örneğin vitamin C, vitamin A vitamin K gibi vitaminleri de fitokimyasallara dâhil edebiliriz. -ki bu durumda besleyici olma özelliğine de sahip olduklarını söyleyebiliriz.- Başlangıçta bu kimyasal bileşenleri bitkilerin kendilerini korumak için oluşturdukları biliniyordu fakat yapılan son araştırmalar insanları hastalıklara karşı korumada önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Likopen, izoflavonlar ve flavanoidler iyi bilinen fitokimyasallardır (Wang ve ark., 2004). Fenolik bileşikler aromatik bitkilerin içeriğinde yer alan ve bitkinin antioksidan kapasiteye sahip olduğunu gösteren önemli yapılardır (Skerget ve ark., 2005). Doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluşturanlar fenolik bileşiklerdir (Deveci ve ark., 2016). Flavonoidler başta olmak üzere kumarinler, fenolik asitler, tokoferoller, sinnamik asit türevleri ve fenolik terpenler bitkilerde en fazla bulunan fenolik bileşiklerdir. (Javanmardi ve ark., 2003). Fenolik bileşikler antioksidan aktivite göstererek vücudumuzda artmış olan serbest radikalleri süpürme, inhibe etme ve azaltma gibi özelliklere sahiptir. Serbest radikaller tarafından oksidasyona uğrayacak biyomoleküllerin okside olmalarını fenolik bileşikler engellemektedirler (Burda ve ark., 2001). Flavonoidler ve fenolik bileşikler bitkinin kısımlarından en fazla çiçek ve yapraklarda bulunmaktadır (Kähkönen ve ark., 1999).

Ülkemizin bitki çeşitliliği, iklimi ve geniş yüz ölçümü bunun yanında bulunduğu konum tıbbi aromatik bitkilerin oldukça fazla yer almasını sağlamaktadır.

1.1. Serbest Radikaller

Hastalıklar ve serbest radikaller arasındaki bağlantının ortaya çıkmasıyla birlikte serbest radikaller bilim insanlarının odak noktası olmuştur (Karabulut ve Gülay, 2016). Vücudumuzun normal metabolik süreçlerinde serbest radikaller sürekli olarak üretilirler. Ancak bazı hastalık durumlarında oluşum hızları değişebilmektedir (Altınar ve ark., 2017). Biyolojik sistemlere bakıldığında serbest radikallerin önemli bir yer tuttuğu görülmektedir (Konukoğlu, 1997).

Reaktif oksijen türlerinin 1950'lerde hücre içerisinde oluştukları ortaya çıkmıştır. İlk kez Commoner ve ark. hücre içerisindeki serbest radikal oluşumunu elektron spin rezonanstan faydalanarak belirlemişlerdir. Aktif hücrelerde daha çok serbest radikal oluştuğu yine aynı çalışmayla ortaya atılmıştır. İlk kez 1956'da Denham Harman tarafından hücre ölümlerinin ve yaşlanmanın serbest radikallerden kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Ekici ve Sağdıç, 2007). Dış elektron yörüngesinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektrona ve yüksek aktiviteye sahip serbest radikaller birçok fizyolojik ve patolojik süreçte üretilen atom veya moleküllerdir. Bir bileşik elektron alarak ya da bir elektron kaybederek serbest radikale dönüşmektedir (Delibaş ve Özçankaya, 1995). Bu sebeple hem indirgeyici hem de yükseltgeyici (oksidan) olarak hareket ederler (Lobo ve ark., 2010).



Şekil 1.1. Haber-Weiss reaksiyonu ve Fenton reaksiyonu (Lloyd ve ark., 1997).

1.1.1. Serbest radikal kaynakları

Serbest radikaller hem endojen hem de ekzojen kaynaklı olabilmektedir (Ekici ve Sağdıç, 2007). Endojen kaynaklar;

- Mitokondriyal elektron transfer sistemi içerisinde yan ürün olarak radikal oluşabilir,

- sitokrom P450 mekanizmasında serbest radikal oluşabilir,
- iltihaplı hücreler, peroksizomlar ve araşidonik asit metabolizmasında serbest radikal oluşabilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).
- Bunun yanı sıra serbest radikaller ayrıca kadınlarda üreme ve ovulasyon esnasında da ortaya çıkmaktadır. Reaktif nitrojen ve oksijen türleri anaerobik kofullarda da oluşabilmektedir. İlk olarak radikal üretiminin hücre içerisinde doymamış yağ asitlerinde başladığı ortaya konulmuştur (Ekici ve Sağdıç, 2007). Ekzojen kaynaklar;

- Güneş ışınları, UV ışınlar ve radyasyon,
- Hava kirliliği, orman yangınları,
- Tüketilen katkı maddesi içeren gıdalar,
- Tütün ürünleri, alkol tüketimi, egzoz dumanı gibi durumlar serbest radikallerin ekzojen kaynaklarını oluşturmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016).

Bunlara ek olarak travma, yeterli beslenmeme, ilaç tedavisi, oksidatif stres ve enfeksiyon gibi durumlardan da kaynaklanabilmektedir. Radikal miktarının yükselmesine sebep olan kimyasal maddeler arasında demir ve etilalkol yer almaktadır (Ekici ve Sağdıç, 2007).

1.1.2. Serbest radikal çeşitleri

Serbest radikaller reaktif oksijen ve reaktif nitrojen çeşitleri 2 gruptan oluşmaktadır. Kendi aralarında da radikal olan ve radikal olmayan şeklinde 2 gruba ayrılmıştır (Ekici ve Sağdıç, 2007). Çizelge 1.1' de radikal isimleri belirtilmiştir.

Çizelge 1.1. Reaktif oksijen ve nitrojen türleri (Erol, 2020)

Radikaller	Radikal Olmayan Bileşikler
Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	
Süperoksit (O_2^-)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil ($OH\cdot$)	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Peroksil ($RO_2\cdot$)	Hipobromöz asit ($HOBr$)
Alkoksil ($RO\cdot$)	Ozon (O_3)
Hidroperoksil ($HO_2\cdot$)	Singlet oksijen (1O_2)
Reaktif Nitrojen Türleri	
Nitrik oksit ($NO\cdot$)	Nitröz ($HNO\cdot$)
Nitrojen dioksit ($NO_2\cdot$)	Nitrozil katyon (NO^+)
Nitrozil anyon (NO^-)	
Peroksinitrit ($ONOO\cdot$)	
Alkil peroksinitrit ($ROONO$)	
Nitril klörür (NO_2Cl)	

1.1.3. Serbest radikallerin etkileri

Oldukça yüksek aktiviteye sahip olan serbest radikaller biyomoleküllerle tepkimeye girerek çoğu zaman zararlı özelliklere sahip bileşikler oluştururlar (Konukoğlu, 1997). Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin çeşitli kötü etkileri bulunmaktadır. Serbest radikaller lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerde hasara sebep olmaktadır (Delibaş ve Özcankaya, 1995).

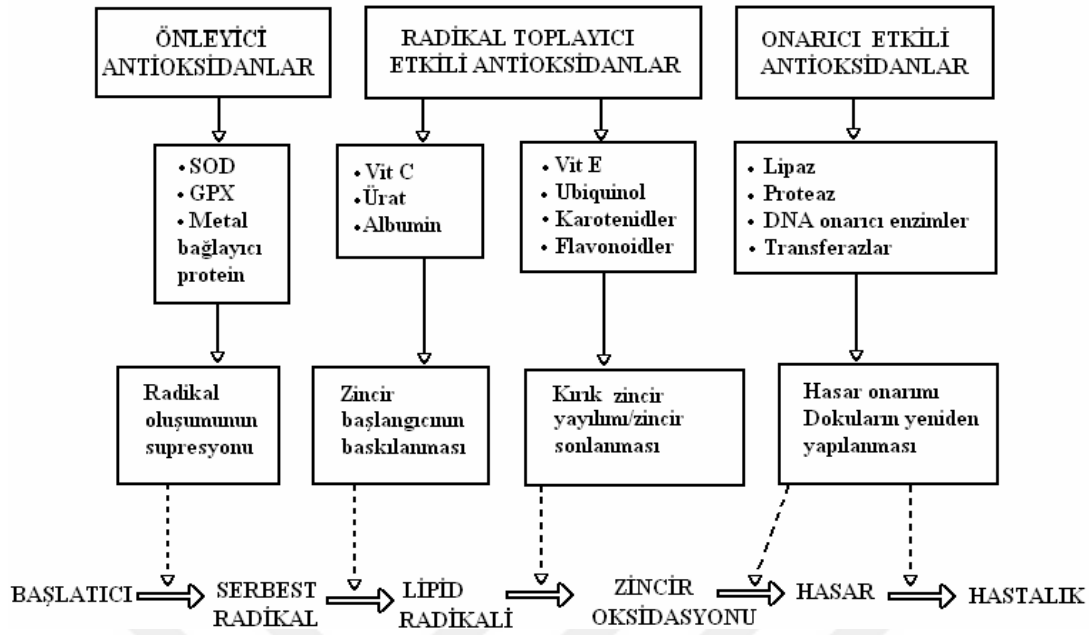
Lipitler hücre membranında bulunup serbest radikallerin saldırısına karşı oldukça hassastır. Lipitler ile serbest radikaller tepkimeye girdiklerinde gerçekleşen lipit peroksidasyonu oldukça fazla zararlı etkilerle sonuçlanabilir. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan bu hasar, hücresel özellikler içinde oldukça zararlıdır. Hücre membranında bulunan lipitler, lipit peroksidasyonu sonucu hücre zarının geçirgenliğinde ve akışkanlığında hasar yaratmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016). Proteinler tıpkı lipitler gibi serbest radikallere karşı duyarlıdır. Serbest radikaller birçok proteinin enzim aktivitesini ve yapısal proteinlerin fonksiyonunu inhibe ederek hasara sebep olabilir (Sarma ve ark., 2010). Protein oksidasyonu sonucunda yüksek seviyede reaktif ürünler ortaya çıkar. Geçiş metal iyonları ile bu ürünlerin reaksiyona girmesi neticesinde de serbest radikaller oluşmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016). UV ışınlar ve her çeşit radyasyon serbest radikal oluşumunu tetikler (Akpoyraz ve Durak, 1995).

Serbest radikal saldırıları DNA parçalanmalarına ve apoptoza sebep olmaktadır (Fang ve ark., 2002). Radyasyon sonucu artan serbest radikaller DNA ile tepkimeye girerek hücre içi mutasyona ve hücre ölümlerine sebep olmaktadır (Konukoğlu, 1997). Serbest radikaller, karbonhidratlarla tepkimeye girerek karbon merkezli radikal oluşumuna sebep olurlar. Bu karbon merkezli radikaller önemi fazla olan moleküllerde (hyaluronik asit gibi) zincir kırılmalarına sebebiyet verirler (Devasagayam ve ark., 2004).

1.2. Antioksidanlar

Serbest radikallerin üretimini inhibe etmek, bu maddelerin oluşturduğu hasarı önlemek amacıyla vücudumuzda görev yapan sistemler “antioksidan savunma sistemi” ya da “antioksidanlar” olarak adlandırılmaktadır (Şener ve Berrak, 2009). Serbest radikallerin zararlı tesirlerine karşı hücreleri korumak, fazla olan serbest radikalleri etkisiz hale getirmek ve serbest radikal kaynaklı hastalıkların oluşumunu önlemek antioksidanların önemli rolleri arasında yer almaktadır (Pham-Huy ve ark., 2008). Sebze ve meyveler yüksek miktarda antioksidan içeriğe sahip oldukları için bu besinlerin tüketilmesi hem radikallerin oluşturdukları doku ve hücre hasarlarına hem de insanları bazı hastalıklardan korumaktadır (Rang ve ark., 2006).

Antioksidan savunma sistemleri canlılarda serbest radikal oluşumu arttığı zaman organizmayı oksidatif stresten muhafaza etmek amacıyla devreye girer. Üç tane savunma mekanizması mevcuttur; Birinci savunma mekanizmasını serbest radikallerin oluşmasını inhibe eden antioksidanlar oluşturmaktadır. İkinci savunma mekanizmasını vitamin E ve vitamin C gibi antioksidanların zincirleme reaksiyonların yayılımını inhibe etmesi oluşturur. Üçüncü savunma mekanizmasını ise enzimler (transferazlar, proteazlar ve DNA onarıcı enzimler gibi antioksidanlar) oluştururlar. Bu enzimler hasarı onarma ve eski haline getirmeye çalışan onarıcı ve yeniden yapılandırıcı olarak rol oynarlar (Fridovich, 1975).



Şekil 1.2. Antioksidan gruplar ve görevleri (Fridovich, 1975).

1.2.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar iki gruba ayrılırlar; bunlar endojen ve eksojen antioksidanlardır (Aydemir ve Karadağ, 2009).

1.2.1.1. Endojen antioksidanlar

Endojen antioksidanlar Çizelge 1.2’de belirtildiği gibi enzimatik olan ve enzimatik olmayan olarak 2 grupta sınıflandırılabilir. Enzimatik endojen antioksidanlar: Glutasyon peroksidaz (GPx), Katalaz (CAT), Süperoksit dismutaz (SOD), ve Glutasyon redüktaz (GR) enzimatik savunma mekanizmasını oluşturmaktadırlar (Sen ve ark., 2010). Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar ise şunlardır: Glutasyon, Albümin, Melatonin, Transferrin, Bilirubin, Ürat, Hemoglobin, Ferritin, Sistein, Metiyonin, Laktoferrin, Seruloplazmin, Miyogloblin (Pham-Huy ve ark., 2008).

1.2.1.2. Eksojen antioksidanlar

Eksojen kaynaklı antioksidanları Çizelge 1.2’de verildiği şekliyle vitaminler ve ilaç olarak kullanım görenler olarak 2 gruba ayırabiliriz (Karabulut ve Gülay, 2016).

Vitamin kaynaklı antioksidanlar: folik asit (Vitamin B9), β -karoten (Vitamin A), α -Tokoferol (Vitamin E) ve askorbik asitten (Vitamin C) oluşmaktadır. Bu vitamin kaynaklı antioksidanlar dışarıdan alınmaktadır (Dündar ve Aslan, 1999).

İlaç kaynaklı eksojen antioksidanlar ise şunlardır: Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), Rekombinant süperoksit dismutaz, Troloks (vitamin E analogu), Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein), Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), Demir şelatörleri (Dündar ve Aslan, 1999).

Çizelge 1.2. Antioksidanların sınıflandırılması (Fridovich, 1975)

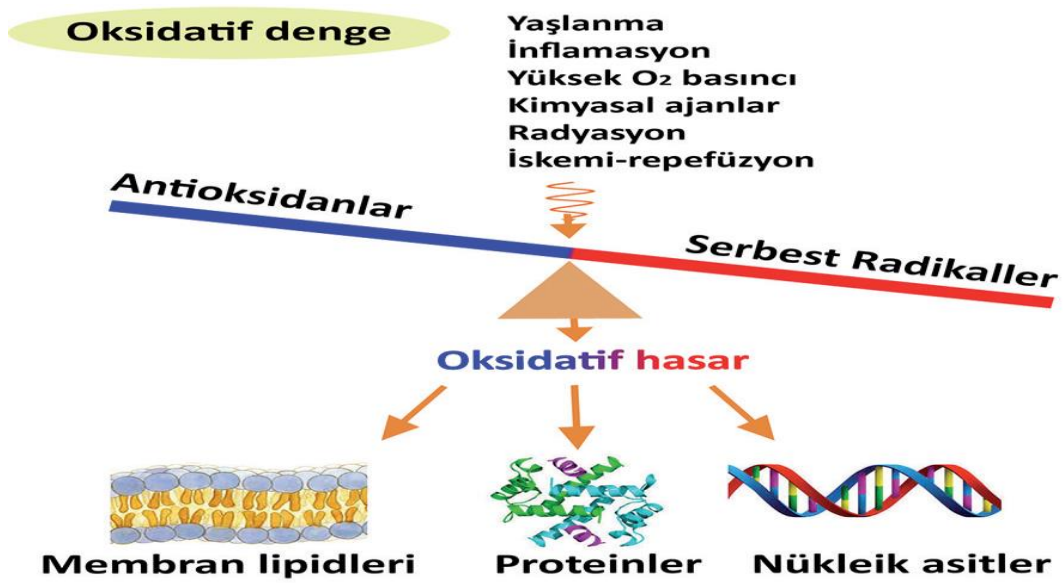
ANTIÖKSİDANLAR			
Vücutta Bulunan Antioksidanlar		Besin Kaynaklı Antioksidanlar	
Enzimler	Küçük Moleküller	Sentetik	Doğal
Katalaz	Askorbik Asit	BHA	Tokoferoller
Peroksidaz	Glutasyon	BHT	Karotenler
Süperoksit	Ürik Asit	TBHQ	Fenoller
Dismutaz	Metal	Propil Gallat	Flavonlar
Glutasyon	Bağlayıcılar		Kateşinler
Peroksidaz	(Hmg ve Myg		
Glutasyon Redüktaz	gibi)		
	Kuersetin		

1.3. Oksidatif Stres

Serbest radikaller ve onların oluşmasını engelleyen, organizmayı saldırılarına karşı koruyan antioksidanlar arasındaki dengenin kaybedilmesi ve bozulması (Şekil 1.3) oksidatif stres olarak adlandırılır (Dokuyucu ve Karateke, 2014). Serbest radikaller vücudumuzda yüksek oksijen basıncı, yaşlanma, radyasyon, inflamasyon ve kimyasal ajanlara maruz kalma gibi nedenlerden kaynaklı oluşabilmektedir (Şekil 1.3). Serbest

radikal artışı sonucunda oksidatif denge bozulmaktadır. Oksidatif stres birçok hastalığın patogeneğinde rol alır. Bu hastalıklar öncelikle kanser olmak üzere, nörolojik ve kardiyovasküler hastalıklar, inflamatuvar bozukluklar, ateroskleroz ve diyabettir (Şahin ve ark., 2012).

Oksidatif stresten kaynaklı lipidler, proteinler, karbonhidratlar, enzimler ve DNA zarar görebilmekte, hücre zarındaki hasarın sonucunda DNA zincirlerinde rastgele kırılmalar ve bağlanmalar oluşabilmekte bunların yanı sıra enzim ve yapısal proteinlerin hasar görmesi hücre ölümleriyle sonuçlanabilmektedir (Cemeli ve ark., 2009).



Şekil 1.3. Oksidatif denge (Özcan ve ark., 2015).



2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1. Bitkilerde Biyoaktif Bileşikler

Bitkilerin, ikincil metabolik faaliyetleri neticesinde oluşan, besin olarak tüketilemeyen fakat besin gibi insan sağlığı için faydalı tesirlerde bulunan biyoaktif bileşiklerin ‘fitokimyasalların’ (fenolik bileşikler, flavonoidler, saponinler, karotenoidler, tokoferoller, tanenler, kumarinler, terpenler, sülfidler, sülforafanlar, izotiyosiyanatlar, fitoestrogenler, terpenoidler, alkaloidler, fitosteroller ve indoller) hastalıklar üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (Fidan ve Dündar, 2007).

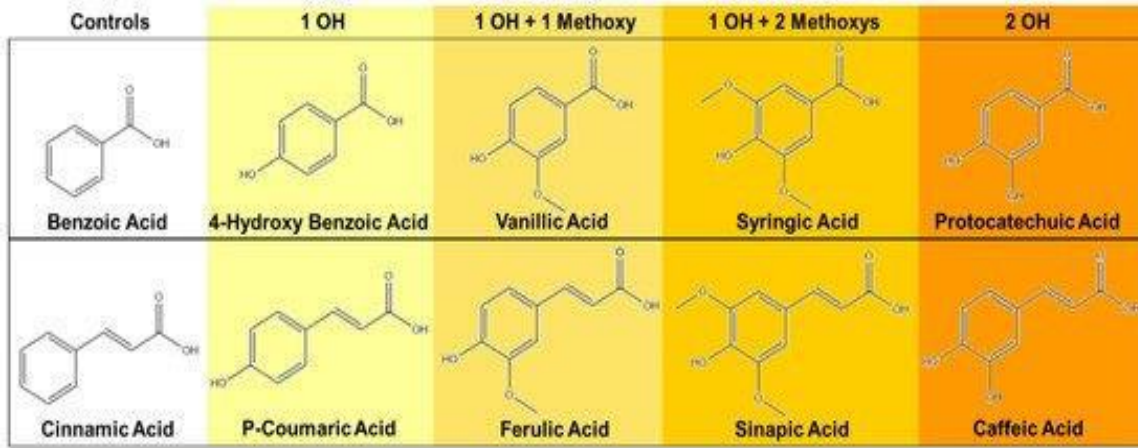
Bitki antioksidanları farklı mekanizmalarla ve oksidasyon sürecinin farklı aşamalarında koruyucu özelliklerini gösterebilirler. Bitki antioksidanları iki temel yolla ROS'lara karşı savaşırlar. Bunlar birincil (zincir kırma, serbest radikal temizleyiciler) ve ikincil (koruyucu) yollar olarak karşımıza çıkmaktadır (Ferreira ve ark., 2009; Brewer, 2011). Antioksidan aktivite sergileyen ve bitkilerden elde edilen bazı maddeler, indükleyici etki gösterirler veya hücre sinyalleri olarak işlev görürler ve ROS'u ortadan kaldıran enzimlerin aktivasyonu ile sonuçlanır (Jia ve ark., 2009; Ping ve ark., 2009).

2.1.1. Fenolik bileşikler

Doğal antioksidanların en kayda değer gruplarını oluşturan fenolik bileşikler, bitkilerin bütün kısımlarında bulunan polifenolik bileşiklerdir. Bitkilerde en yaygın olarak görülen bitkisel fenolik antioksidanlar ilk olarak flavonoidler olmak üzere tokoferoller, sinamik asit türevleri, kumarinler ve fenolik asitlerdir (Harborne ve Williams, 2000).

Normalde serbest radikallerin saldırıları antioksidan koruma sistemlerince kontrollü bir şekilde etkisiz hale getirilmeye çalışılır. Fakat bazı patolojik olaylarda antioksidan ve oksidan dengesi bozulur. Yapılan çalışmalarda, belli fenolik bileşiklerin oksidatif stres neticesinde oluşan hücre ölümünün önüne geçtiği açıklanmıştır (Parihar ve Hemnani, 2003). Bitkide bulunan bu fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri bilhassa redoks özelliklerinden kaynaklıdır. Bu özelliklerinden dolayı tekli oksijen önleyiciler,

metal şelasyonu yapıcılar, indirgeyici ajanlar, hidrojen vericiler olarak etki ederler. Bunun yanı sıra fenolik bileşikler kronik kalp yetmezliğinde de engelleyici role sahiptir (Summanen ve ark., 2001).



Şekil 2.1. Önemli fenolik asit türlerinin kimyasal yapısı (Liu ve ark., 2020).

Flavonlar antioksidan tesirlerini; lipooksijenaz, ksantin oksidaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidatif özelliğe sahip bileşilerle etkileşime girerek, lipid peroksil radikalleri, süperoksit anyonları ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri tutarak bu sayede göstermiş olurlar (Cadenas ve Packer, 1996). Son zamanlarda yapılan araştırmalarda kateşin, mirsetin, kuersetin, luteolin, siyanidin, morin gibi flavonların antioksidan tesirleri üzerine yoğunlaşmaktadır (Sun ve ark., 2007). C ve E vitamini ile kateşinin kullanımı neticesinde kronik böbrek hastalarında, aterosklerotik ve insülin rezistansı durumunda farklılık olmuştur (Korish ve Arafah, 2008). Kersetin böbrek, akciğer ve karaciğer gibi önemli organlarda sigara tüketiminden dolayı oluşan oksidatif hasara karşı koruyucu rol oynar. Vücudumuz için önemli olan bu organlarda lipid peroksidasyonunu azaltır, antioksidan koruma sistemini dengede tutar ve bununla beraber DNA'yı muhafaza eder (Muthukumaran ve ark., 2008). Kateşinlerin, önemli serbest radikallerden olan peroksinitrit, süperoksit ve birçok serbest radikali yok edici etkisinin yanında, lipit hidroperoksit oluşumunu ve zararlarını engelleyebildiği gösterilmiştir. Aynı zamanda araştırmalar antioksidan enzimlerin katalitik aktivitesinin kateşinler aracılığıyla arttığını bildirilmiştir. Bunun yanı sıra kateşinin, lipit

peroksidasyonundan kaynaklı olarak artan MDA (Malondialdehit) seviyesini önemli derecede önlediği gösterilmiştir (Yılmaz, 2010).

Polifenoller; antioksidan, antimutajen, antikanserojen, yaşlanma karşıtı ve antialerjik tesire sahip olan bileşiklerdir (Türkmen ve ark., 2005). Bitkilerdeki fenolik bileşikler bitki içeriğinde fazla miktarda bulunmaktadır. Fakat klorojenik asid, kateşin, siyanidin, peonidin, epikateşin gibi maddelerin yalnız bulunduklarında da kendi özel antioksidan özelliklerini sergiledikleri görülmüştür (Heo ve ark., 2007).

2.2. Farklı Bitki Türlerinde Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Arıdur (2013), çalışmasında Türkiye’de yetişen aynı zamanda tedavi amaçlı olarak da kullanılabilen bitkilerden Sedef Otu (*Ruta graveolens*), Pelin Otu (*Artemisia absinthium*), Civanperçemi (*Achillea millefolium*)’nin Balkanlarda yetişen türü Kunitsa otu ve Adaçayı (*Salvia officinalis*)’nin Balkanlarda yetişen türü Ciğertaze Otu bitkilerinin antioksidan aktivitelerini araştırmıştır. Dört farklı çözücü kullanarak (etanol, metanol, aseton ve etil asetat) antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Her ekstrenin Folin Cioceltau reaktifi kullanılarak toplam fenolik madde içeriği, alüminyum nitrat yöntemi ile toplam flavonoid madde miktarı, DPPH serbest radikal giderme etki tayini yapılmıştır. Toplam fenolik madde içeriği olarak en yüksek değeri Kunitsa otunun metanol ekstresinde (85,05 GAE mg/g) gözlemlenmiştir. Pelin otunun genel olarak diğer üç bitkiye göre değerlerinin düşük (17,55 GAE mg/g) olduğu görüldü. Sedef otunun metanol ekstraktının ise tüm bitki numunelerinin arasında en yüksek toplam flavonoid madde içerdiği (2481,82 KE µg/g) görüldü. Ciğertaze otunun DPPH serbest radikali giderme aktivitesinin metanol ekstresindeki %inhibisyon değerinin (%90.89) yüksek olduğu görüldü. Antioksidan aktivite çalışmalarına genel olarak bakıldığında bitkilerin aktivitelerinin kunitsa otu > ciğertaze otu > sedef otu > pelin otu şeklinde olduğu belirlenmiştir. Bu veri ve sonuçlara ciğertaze otu ve kanser türlerinde yine şifa amaçlı olarak tüketilen kunitsa otunun antioksidan özellikleri deneysel olarak belirlenmiştir (Arıdur, 2013).

İşbilir (2008), bu çalışmada dereotu (*Anethum graveolens* L.), kuzukulağı (*Rumex acetosella* L.), gelincik (*Papaver rhoeas* L.), roka (*Eruca sativa* Mill.) ve tere (*Lepidium sativum* subsp. *sativum*) gibi bitkilerin antioksidan aktiviteleri çeşitli

yöntemlerle incelemiştir. Üç farklı çözücü kullanarak (etanol, su ve aseton) antioksidan aktivitelerini araştırmıştır. Her bir ekstraktın Folin-Ciocalteu ayırıcı ile toplam fenolik madde içeriği, DPPH serbest radikali giderme aktivitesi ve metal iyonlarını şelatlama kapasitesi belirlenmiştir. Toplam fenolik madde tayini sonucu, ekstraktların toplam fenolik madde içeriklerinin gallik asit eşdeğeri olarak $49,63 \pm 2,5$ - $127,55 \pm 14,48$ mg/g aralığında değiştiği belirlenmiştir. En yüksek miktarlar kuzukulağı ve gelincik ekstrelerinde tayin edilmiştir. Serbest radikal giderme aktivitesinden elde edilen verilere göre kuzukulağının etanol ekstraktı, dereotu ve gelinciğin etanol ve su ekstreleri standart maddelerle karşılaştırılabilir düzeyde DPPH giderme aktivitesi gösterdi. Metal şelatlama aktivitesi tayininde Fe^{2+} çözeltisi kullanıldı, sonuçlar EDTA ile kıyaslandı. Dereotu, gelincik ve terenin su ekstreleri, kuzukulağı ve rokanın etanol ekstraktı diğer ekstrelere göre yüksek metal şelatlama aktivitesi gösterdi. Çalışılan ekstreler içinde en düşük EC_{50} değeri dereotu ve gelincik su ekstrelerinde (EC_{50} : 1.93 mg/ml ve EC_{50} : 1.39 mg/ml) , en yüksek EC_{50} değeri dereotu aseton ve kuzukulağı su ekstrelerinde (EC_{50} : 8,95 mg/ml ve 7,32 mg/ml) belirlenmiştir. Kuzukulağının su ve terenin aseton ekstreleri dışındaki diğer ekstrelerde Fe^{2+} şelatlama aktivitesinin konsantrasyona bağlı artış gösterdiği gözlemlendi (İşbilir, 2008).

Akagün (2009)'ün yaptığı çalışma kapsamında ise alabaş (*Brassica oleracea* var. *Gongylodes*) bitkisinin antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Bitkinin taze yaprak ve gövdesinin ayrı ayrı dört farklı çözücü kullanılarak (etanol, metanol, aseton ve su) antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Her bir ekstrenin Folin-Ciocalteu ayırıcı ile toplam fenolik madde içeriği, DPPH serbest radikali giderme aktivitesi, metal iyonlarını şelatlama kapasitesi belirlendi. Yaprak ve gövde ekstrelerinin fenolik madde içerikleri toplam fenolik madde miktarlarının gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı. En yüksek fenolik madde içeriği yaprağın aseton ekstresinde belirlendi. Toplam fenolik madde miktarlarının; yaprak için 16,473 – 27,582 mg/gr, gövde için 7,323 – 8,303 mg/gr arasında değiştiği belirtildi. DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçları; gövde ekstraktları arasında en iyi aktiviteye metanol ekstresinin, yaprak ekstreleri arasında ise aseton ve etanol ekstrelerinin sahip olduğu belirlenmiştir. DPPH radikalini giderme aktivitesi deneyinde en düşük EC_{50} değerini yaprağın aseton ekstresi (9,04 µg/ml), en yüksek değeri ise gövdenin su ekstresi (28,5 µg/ml) göstermiştir. Metal şelatlama aktivitesi deneyinde, standartlara en yakın aktivite gösteren ekstre yaprağın su

ekstraktıdır. Yaprak ve gövde kısımları kıyaslandıklarında ise her ikisinde de en iyi aktiviteyi su ekstreleri göstermiştir. Yaprığın su ekstresi hariç diğer ekstraktların hiçbirinin Fe^{2+} iyonlarını şelatlama kapasitesinin EDTA ile karşılaştırılabilir düzeyde olmadığı belirlendi (Akagün, 2009).

2.3. Astragalus Cinsi Hakkında Genel Bilgiler

Astragalus L. (Fabaceae) genusu iki filogenetik dala sahiptir; bunlardan biri Eski Dünya (Asya, Avrupa, Afrika) ve bir diğeri ise Yeni Dünya (Amerika)'dır. Eski Dünya'nın 136 bölümden oluşan yaklaşık 2000 taksonu vardır (Podlech ve Zarre, 2013). En geniş damarlı bitki genusundan olan *Astragalus* L. (Fabaceae) yıllık ve çok yıllık yaklaşık 3000 tür barındırır (Maassoumi, 1998).

Ülkemizde toplam 211 endemik *Astragalus* taksonu belirlenmiş olup, bu taksonların tamamı çok yıllıktır. Yaşam formu bakımından 64 takson otsu, 33 bodur veya cüce çalı, 27 çalı, 7 odunsu-ot ve 5 yarı-çalı şeklinde olup, 75 taksonun ise durumu belirlenememiştir. Bölgelerimize göre en fazla *Astragalus* taksonu İç Anadolu bölgesinde (100 takson) (%29.1) tespit edilirken, bu bölgeyi sırasıyla; 77 takson (%22.4) ile Akdeniz, 63 takson (%18.3) ile Doğu Anadolu ve 52 takson (%15.1) ile Karadeniz bölgeleri izlemiştir (Başbağ ve ark., 2018).

Türkiye, fitocoğrafik bakımdan Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz floristik bölgelerinin kesişiminde bulunmasıyla, iklimik, topografik ve edafik faktörlerin çeşitliliğinden dolayı oldukça zengin bir floraya sahiptir. Ayrıca Türkiye'nin Güney Doğu Avrupa ile Güney Batı Asya Floraları arasında köprü konumunda bulunmasının da floranın zengin olmasına katkısı olmuştur. Bu nedenle, ülkemiz hem tarımı yapılan pek çok bitkinin anavatanı hem de ülkemizde yayılış gösteren pek çok cins ve tür için gen merkezi veya genetik farklılaşma noktasıdır. Ülkemiz bunun yanı sıra birçok kültür bitkisinin anavatanıdır (Davis, 1965; 1985). Özellikle Doğu Anadolu Bölgesi ve bilhassa endemizm bakımından zengin Van, Bitlis ve Hakkari çevreleri floristik açıdan esrarını koruyan ve keşfedilmeyi bekleyen önemli bitki alanlarıdır (Ekim ve ark., 2000).

Astragalus (Leguminosea) cinsine ait türler, bu türlerin ekstreleri ve bunlardan izole edilen bileşikler, bağışıklık uyarıcı, karaciğer koruyucu, antioksidan, antiviral, ateş düşürücü, kardiovasküler, iltihap giderici ve anti kanser etkiler göstermeleri nedeniyle

giderek artan bir şekilde ilgi odağı haline gelmiştir (Rios ve Waterman, 1997; Verotta ve El- Sebakhy, 2001).

Endemik *Astragalus* taksonları bakımından çok zengin olduğu, bölgelerimize göre değişmek üzere, ülkemizin hemen her tarafında yayılış gösterdiği ortaya konmuştur. Bu genetik zenginlik, günümüzde çeşitli nedenlerle (insan, hayvan ve doğal nedenler) tehdit altındadır. Özellikle çayır-meraların aşırı ve zamansız otlatılmaları, odunsu ve çalı formuna sahip olanların kökünden sökülerek yakacak olarak kullanılması ve iklimsel faktörler bu tehditlerin başında gelmektedir (Başbağ ve ark., 2018).

2.3.1. *Astragalus cryptocarpus* DC.

Astragalus cryptocarpus DC. *Astragalus* cinsinin bir türüdür. İran, Türkiye, Azerbaycan gibi kara ülkelerinde yetişir. Türkiye'de taksonların en fazla bulunduğu coğrafi yerler sırasıyla; Adana, Antalya, Yukarı Fırat ve orta Kızılırmak, Konya, Orta Karadeniz ve Van'dır. Bu tür Van'daki 14 endemik *Astragalus* türlerinden biridir (Başbağ ve ark., 2018).

Astragalus cryptocarpus DC.'nin sınıflandırılması;

Alem: Bitkiler

Şube: Trakeobionta

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Alt sınıf: Gülgiller (Rosidae)

Takım: Fabales

Aile: Fabaceae

Cins: *Astragalus* (Leguminosea)

Tür: *Astragalus cryptocarpus* DC. (Turkish Plants Data Service)



Şekil 2.2. Çalışma için kullanılan *Astragalus cryptocarpus* DC.'nin arazi fotoğrafı.

2.3.2. *Astragalus rubrostriatus* Bunge

Astragalus rubrostriatus Bunge *Astragalus* cinsinin bir türüdür. İran, Türkiye gibi kara ülkelerinde yetişir. Van'da ise Bahcesaray, Gürpınar, Kırkgeçit ve Taşınacak'ta bulunmaktadır. Bu tür Van'daki 14 endemik *Astragalus* türlerinden biridir (Karaman ve ark., 2015).

Astragalus rubrostriatus Bunge'nin sınıflandırılması;

Alem: Bitkiler

Şube: Trakeobionta

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Alt sınıf: Gülgiller (Rosidae)

Takım: Fabales

Aile: Fabaceae

Cins: *Astragalus* (Leguminosea)

Tür: *Astragalus rubrostriatus* Bunge (Turkish Plants Data Service)



Şekil 2.3. Çalışma için kullanılan *Astragalus rubrostriatus* Bunge'nin arazi fotoğrafı.

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan cihaz ve malzemeler

Antioksidan aktivite ve fenolik içerik tayininde kullanılan cihazlar ve sarflar; Mikro pipet; 1000, 200, 100, 10, 2.5 µL (Eppendorf), Hassas terazi (Radway, Poland), Manyetik Karıştırıcı (Velp), Evaporatör (Heidolph), Liyofilizatör (Azbil Telstar Technologies LYOQUEST-85), Santrifüj (Isolab 5810 R), Ultrasonik Banyo (Isolab), ELISA plaka okuyucusu (Multiskan TM GO- Thermo Scientific, ABD).

3.1.2. Kullanılan kimyasallar

Antioksidan aktivite ve fenolik içerik tayininde kullanılan kimyasallar ve sarflar; Na₂CO₃ (Sigma Aldrich-Germany), AlCl₃ (Sigma Aldrich-Germany), NaNO₂ (Merc, Germany), Gallik Asit (Sigma-Aldrich-Germany), Troloks (Sigma-Aldrich-Germany), DPPH[·] (Sigma-Aldrich-Germany), ABTS⁺ (Sigma-Aldrich-Germany), Etanol (Merc, Germany), EDTA (Sigma-Aldrich-Germany), K₂S₂O₈ (Sigma-Aldrich-Germany), Folin-Ciocalteu Reaktifi (Merck-Germany), NaOH (Merck-Germany), Ferrozine (Sigma-Aldrich-Germany), FeCl₂ (SigmaAldrich-Germany), Hekzan (Sigma-Aldrich-Germany), Metanol (Merck-Germany), 0.45 µm Enjektör filtresi (Millipore, Almanya), çeşitli pipet uçları (Isolab)

3.1.3. Deney materyali

Van bölgesinde endemik tür olarak bulunan *A. cryptocarpus* Van'ın Çatak ilçesinden *A. rubrostriatus* Bunge Van'ın Bahcesaray ilçesinden Temmuz 2021'de toplanarak çalışma materyali olarak belirlendi. Çalışma materyali olarak kullanılacak olan *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* türleri belirlenen bölgelerden toplandıktan sonra teşhis edildi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Herbaryum'undan herbaryum kayıt numaraları alındı (*A. cryptocarpus* Herbaryum kayıt no: 16271, *A. rubrostriatus* Bunge

Herbaryum kayıt no: 16273). Bitki teşhisi Hakkari Üniversitesi MYO Öğretim Üyelerinden Dr. Öğr. Ü. Muzaffer MÜKEMRE tarafından yapılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstraksiyon

A. cryptocarpus ve *A. rubrostriatus* türleri direk güneşe maruz kalmayacak şekilde kurutulduktan sonra öğütülerek eşit gramajlarda tartıldı. Örnekler hassas terazide 8'er gr tartıldı üzerine 80 mL hekzan konularak 40 °C'de 6 saat süreyle ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda bırakıldı. Örneklerden hekzan süzüldü ve tüpte kalan bitki örneklerinin üzerine 50 ml su ve 50 ml metanol eklenerek 48 saat inkubasyona bırakılıp 30 dakika sonikatöre konuldu. 48 saat sonunda hidrometanol süzüldü ve metanol uçması evaporatör kullanılarak sağlandı. 50 mL'lik falcon tüplere alındıktan sonra 45° lik açılı ile -80°C de 48 saat kalacak şekilde konuldu. Örnekler -80 °C den çıkarıldıktan sonra liyofilizatörde 72 saat bekletilerek su uzaklaştırılması hedeflendi. Elde edilen özütler analizler yapılincaya kadar -20°C'de saklanıldı. Verim yüzdesi aşağıda belirtilen "Eş 3.1" e göre hesaplandı.

$$\text{Verim Yüzdesi (w/w)} = (\text{Kurutulmuş ekstrakt kütlesi} / \text{toplam bitki kütlesi}) \times 100 \quad (3.1)$$

3.2.2. Antioksidan aktivite çalışmaları

3.2.2.1. DPPH serbest radikal süpürme aktivitelerinin belirlenmesi

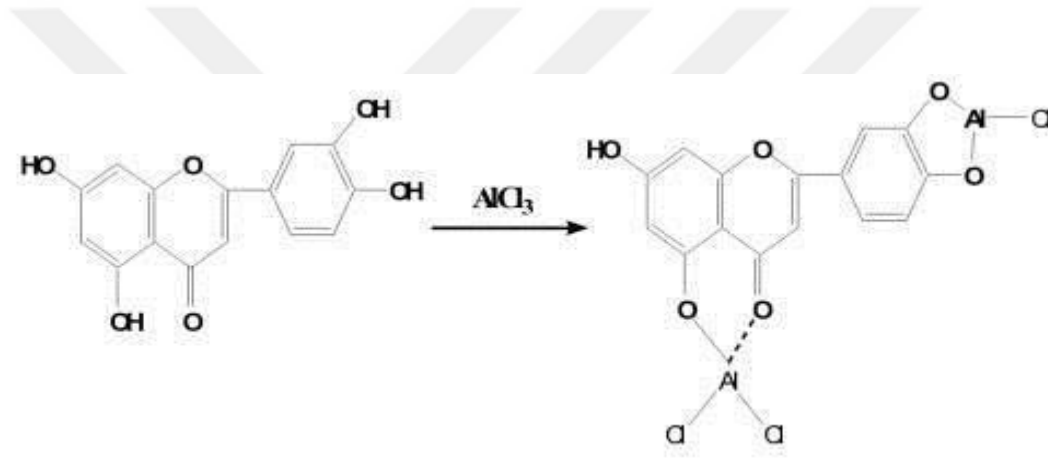
Özütlerin antioksidan aktivitesi hidrojen bağlama kabiliyeti ya da başka bir deyişle DPPH radikalini yakalama kabiliyetine dayanılarak ölçüldü. DPPH serbest radikal giderme Blois metodunun (1958) modifiye şekline göre yapıldı. Bitki özütlerinin serbest radikal DPPH (:2,2-difenil-1-pikril hidrazil) giderme aktivitesinin ölçümünde standart olarak kuersetin ve değişik konsantrasyonlarda *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* özütleri hazırlandı. 0.05 mg/ml DPPH etanolle çözüldü ve kullanılmadan önce 30 dk sonikasyon yapıldı. Yönteme göre *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus*

özütleri ve standartlardan, her bir mikro plaka kuyucuğuna 10 µl su koyuldu ve üzerlerine 140 µl DPPH eklendi. Karanlık ortamda 20 dk bekletildikten sonra 517 nm de absorbans değerleri ölçülerek DPPH serbest radikalının indirgenmesi belirlendi. Serbest radikal yakalama aktiviteleri yüzde olarak aşağıdaki “Eş 3.2” göre hesaplandı ve DPPH radikal yakalama aktivitesi her bir örnek için IC₅₀ değerleri hesaplanarak karşılaştırıldı.

$$\% \text{ RSA (Radikal süpürme aktivitesi)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.2)$$

A₀: Blank absorbansı

A₁: Ekstre absorbansı



Şekil 3.1. Kuersetinin AlCl₃ ile reaksiyonu (Chang ve ark., 2002).

3.2.2.2. ABTS katyon radikalini giderme aktivitesi

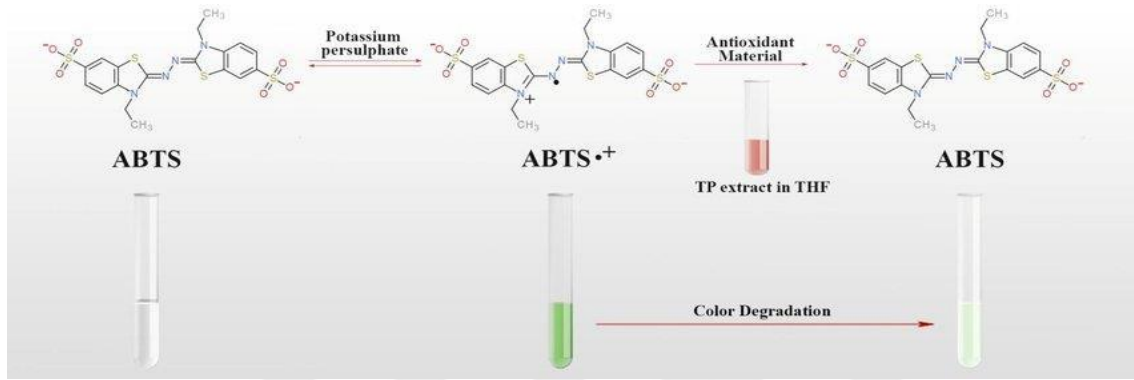
ABTS (2, 2'-Azino-Bis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid) radikal süpürme kapasitesi Re ve arkadaşlarının (1999) modifiye edilmiş yöntemine göre gerçekleştirildi. ABTS⁺ radikalının oluşturulması için 7 mM ABTS çözeltisi 2.45 mM potasyum persulfat (K₂S₂O₈) çözeltisi 1:1 oranında karıştırılarak reaksiyona sokulur. Radikal kullanılmadan önce 16 saat oda sıcaklığında karanlık ortamda bekletilir. Daha sonra karışım 350 µl ABTS radikale 10 ml etanol eklenerek 734 nm' de 0.70 (± 0.02) absorbans aralık değeri elde edilecek şekilde seyreltilti. 96 kuyucuklu plaka içerisine 3 tekrar olacak şekilde özütlerden 2,5 µl ve üzerine seyreltilmiş ABTS radikalinden 250 µM eklendi, karıştırıldı ve 6 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 734 nm de absorbans okuması gerçekleştirildi. Bu çalışma için troloks standart

olarak kullanıldı. Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) değerleri serbest radikal temizleme kapasitesini göstermek için kullanılmıştır. Yüzde inhibisyon, aşağıda gösterilen “Eş 3.3” kullanılarak hesaplandı;

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.3)$$

A_0 : Blank Absorbans

A_1 : Ekstre Absorbans



Şekil 3.2. ABTS radikal giderme aktivitesi (Üstündaş ve ark., 2018).

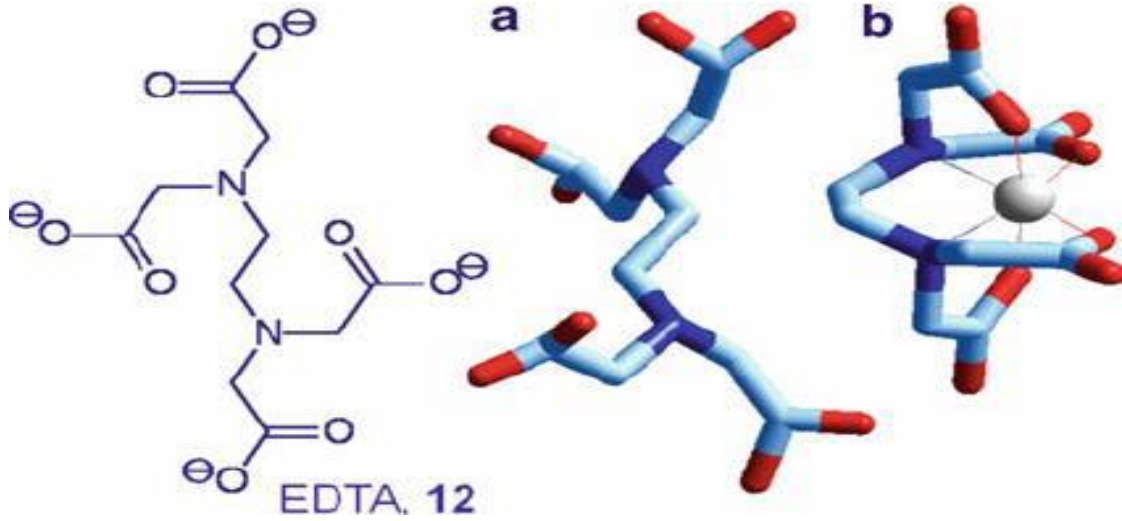
3.2.2.3. Metal şelatlama etkisi

Metal şelasyon aktivitesi Dinis ve arkadaşlarının (1994) geliştirdiği metodun modifiye şekline göre yapıldı. EDTA standart şelasyon ajanı olarak kullanıldı. 96 kuyucuklu plaka içerisine 50 μ L çeşitli konsantrasyonlarda EDTA ve özüt eklendi. Üzerine 185 μ L saf su eklendikten sonra 5 μ L 2 mM FeCl_2 eklendi ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 10 μ L 5 mM Ferrozin eklendi. 10 dakika daha oda sıcaklığındaki inkübasyondan sonra 562 nm’de absorbans okuması gerçekleştirildi. Sonuçlar IC_{50} değerleri olarak ifade edildi. Her bir test en az üç kez tekrar edildi. Yüzde inhibisyon, aşağıda gösterilen “Eş 3.4” kullanılarak hesaplandı;

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.4)$$

A_0 : Blank Absorbans

A_1 : Ekstre Absorbans



Şekil 3.3. Metal şelatlama reaksiyon modellemesi (Fabbrizzi, 2011).

3.2.2.4. Toplam fenolik madde içeriği

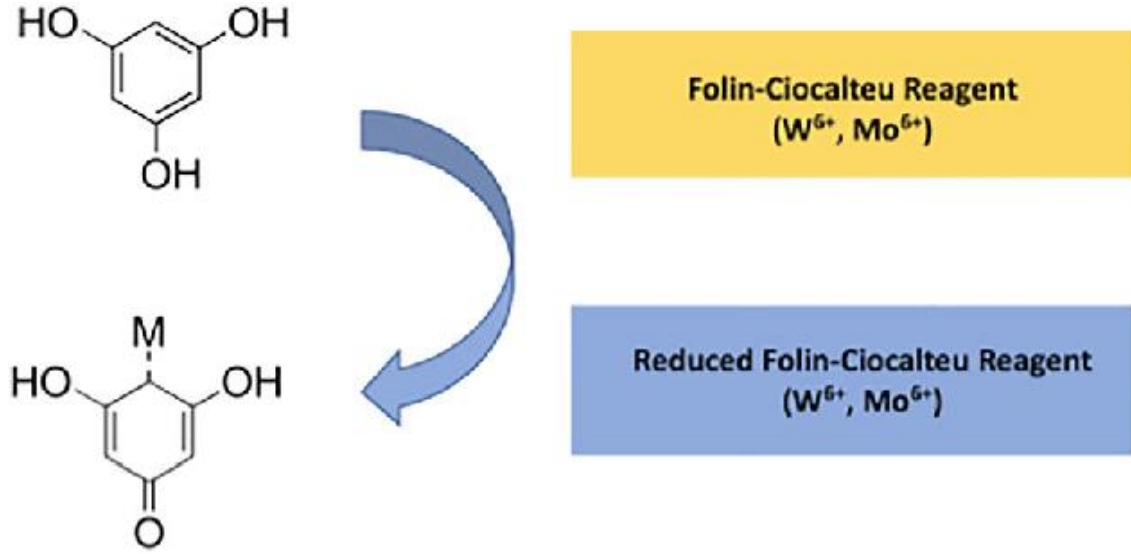
A. cryptocarpus ve *A. rubrostriatus* bitkilerinin özütlerinde bulunan toplam fenolik madde içeriği Singleton ve Rossi (1965)' nin uyguladığı yöntemin modifiye şekline göre belirlendi. Standart olarak gallik asit kullanıldı. Bu yöntemde özüt ve standartlardan 20 µl mikro plaka kuyucuklarına konuldu. Üzerlerine 20 µl Folin reaktifi eklendi ve pipetajlama ile karıştırıldı. Ardından üzerlerine 80 µl %10'lık (w/v) sodyum karbonat eklendi ve oda sıcaklığında 30 dk inkübasyon sonrası 750 nm'de örnek yerine 20 µl etanol içeren köre karşı absorbans okundu. Gallik asit ile oluşturulmuş standart kalibrasyon eğrisi kullanılarak her 1 mg özüt içinde bulunan toplam fenolik içerik miktarları aşağıdaki "Eş 3.5" e göre hesaplandı;

$$\text{Ekstre yüzdesi(w/w)} = ((A_1 - A_0) / y \text{ değeri}) / \text{dilüsyon katsayısı} \times 100 \quad (3.5)$$

A_0 : Kontrolün absorbansı,

A_1 : Ekstrenin absorbansı,

y değeri: Standart grafiği denkleminde oluşan y değeri



Şekil 3.4. Folin-Ciocalteu reaksiyonu (Ford ve ark., 2019).

3.2.2.5. Toplam flavonoid madde içeriği

Toplam flavonoid miktarları, Zhishen ve arkadaşlarının (1999) modifiye edilmiş yöntemine göre metanol özütleri içerisinde belirlendi. Farklı konsantrasyonlarda Kateşin %99.5 etanol ile çözüldü ve toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesinde standart olarak kullanıldı. Yönteme göre, 80 µl dH₂O içeren mikropilaya kuyucuklarına, 20 µl standart veya örnek eklendi, ardından % 5'lik NaNO₂'den 6 µl kuyucuklara eklendi. 5 dk sonra 6 µl % 10 alüminyum klorid (AlCl₃) kuyucuklara eklendi ve 6 dk sonra 1 M NaOH'ten 40 µl ilave edildi. Toplam hacim dH₂O ile 200 µl'ye tamamlandı. 510 nm'de abs değerleri elde edildi. Toplam flavonoid içeriği 1 mg özüt içerisindeki flavonoid miktarı olarak, kateşin standart grafiğine göre hesaplandı (Pal ve ark., 2010). Toplam flavonoid madde miktarları aşağıda gösterilen “Eş 3.6” e göre hesaplandı;

$$\text{Ekstre yüzdesi(w/w)} = ((A_1 - A_0) / y \text{ değeri}) / \text{dilüsyon katsayısı} \times 100 \quad (3.6)$$

A_0 : Kontrolün absorbansı,

A_1 : Ekstrenin absorbansı,

y değeri: Standart grafiği denkleminde oluşan y değeri

3.2.3. Verim

A. cryptocarpus ve *A. rubrostriatus* bitkilerinin örnekleri öğütücü ile toz haline getirildi. Ardından sırasıyla hekzan, metanol ve su içerisinde ekstraksiyon bölümde belirtildiği gibi belli sürelerde manyetik karıştırıcı ile çalkalanmaya bırakıldı. Daha sonra sırasıyla elde edilen sıvılardan hekzan ve metanol çözümleri evaporatör yardımıyla uçuruldu. Metanolden ekstrenin ağırlığı hassas terazi ile tartılıp verimi hesaplandı. Hekzan için kayda değer bir özüt elde edilemediği için verimi hesaplanamadı. Su özütü; posadan geriye kalan sıvı falkon tüpler içerisinde donduruldu ve daha sonra liyofilizatör yardımı ile suyu kurutuldu. Kalan kısım bitkinin su özütü şeklinde deneylerde kullanılmak için tartıldı ve verimi materyal metot kısmında verilen denkleme göre hesaplandı.

3.2.4. Değerlendirme

Tüm deneyler birbirine paralel üç ölçüm şeklinde yapıldı. Grafikler GraphPad Prism 5 Demo programı kullanılarak çizildi.



4. BULGULAR

4.1. Verim

A. cryptocarpus ve *A. rubrostriatus* türlerinin bitki kısımlarından elde edilen verim Çizelge 4.1 ve 4.2’ de belirtildi.

Çizelge 4.1. *Astragalus cryptocarpus* DC.’ nin özütlerinin ekstraksiyon verimleri

Ekstraksiyon	İlk ağırlık (gr)	Son ağırlık(gr)	Verim (%)
Metanol Çiçek	8	1.875	23.437
Metanol Yaprak	8	2.237	27.962

Çizelge 4.2. *Astragalus rubrostriatus* Bunge’ nin özütlerinin ekstraksiyon verimleri

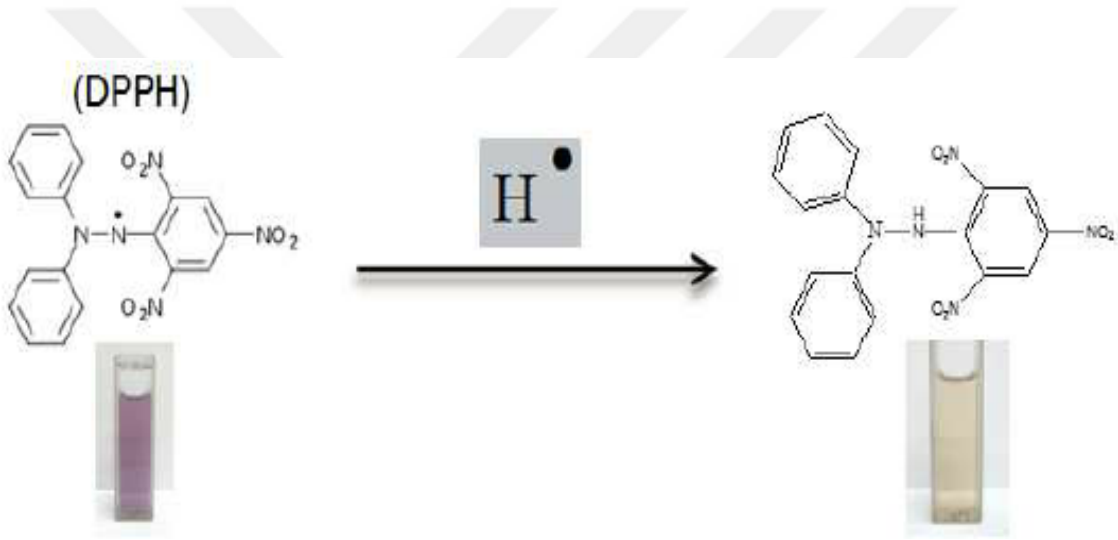
Ekstraksiyon	İlk ağırlık (gr)	Son ağırlık(gr)	Verim (%)
Metanol Çiçek	8	0.992	12.4
Metanol Yaprak	8	2.105	26.312

4.2. Antioksidan Aktivitesi Bulguları

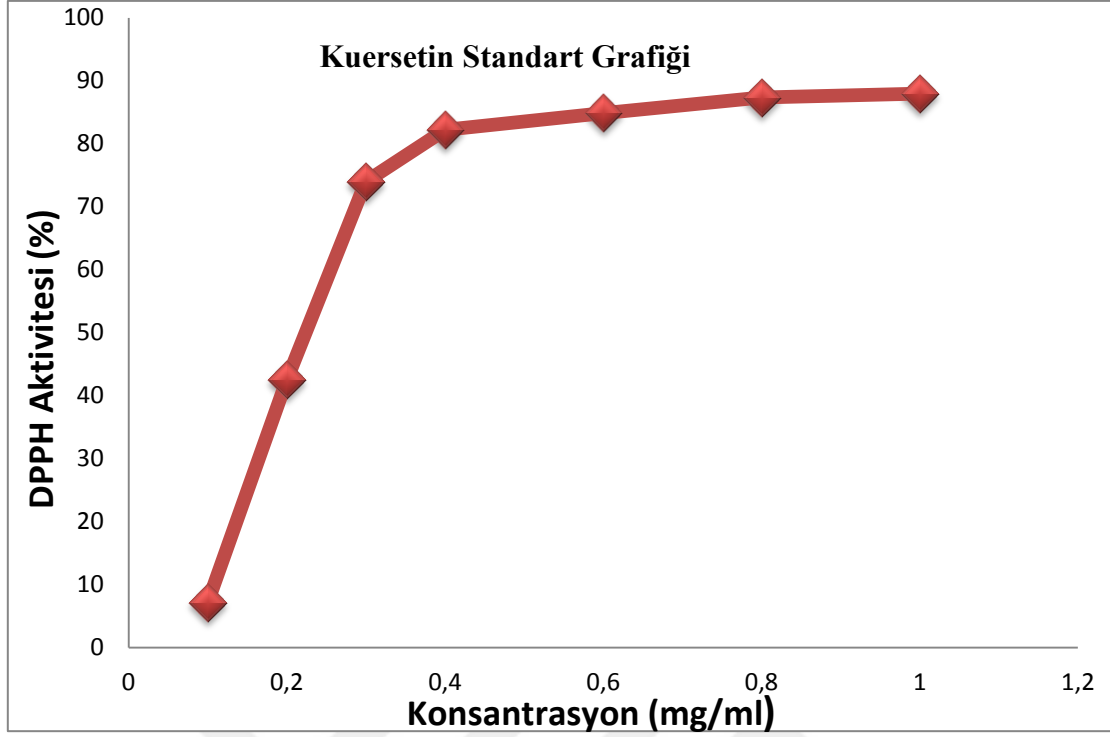
4.2.1. DPPH• radikalini giderme bulguları

DPPH testi, bir antioksidan molekülün serbest radikal süpürme aktivitesinin ölçülmesine dayanan ve renk değişimi ile değerlendirilen yoğunlukla kullanılan kolay bir metottur. Metanol içerisinde sonikatör aracılığıyla çözödürölen DPPH radikali mor renk verir. Bu yöntemin temel prensibi DPPH radikalinden bir hidrojen alınarak

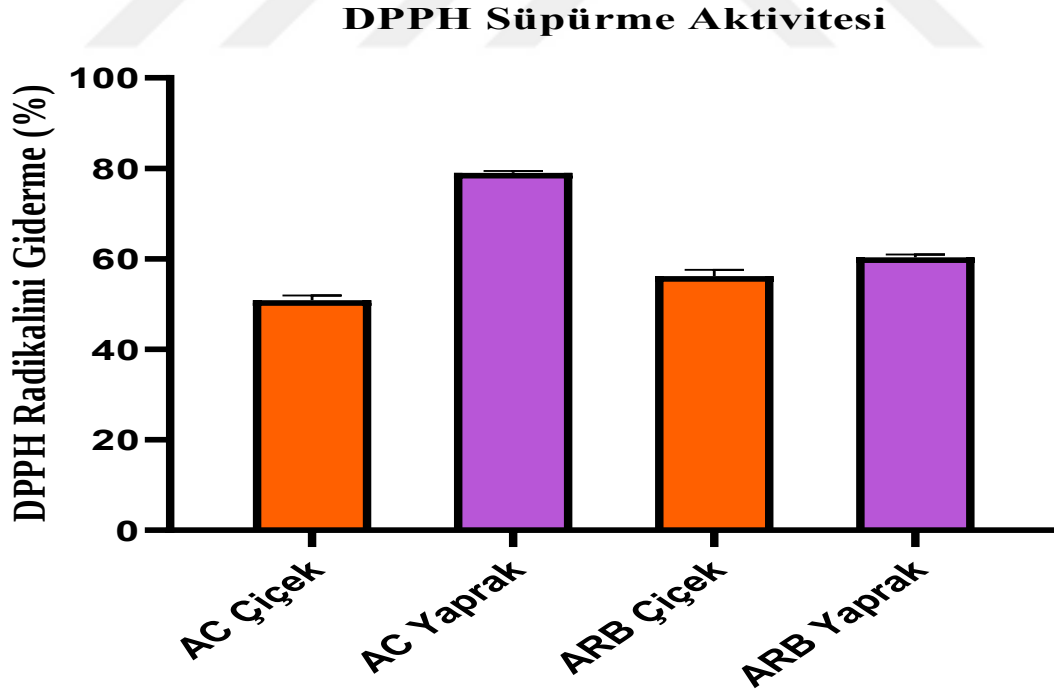
indirgenmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu indirgenme sonucunda Şekil 4.1’de görüldüğü gibi mor renk olan çözelti sarı renge döner. Renk değişimi kalorimetrik olarak izlenir ve antioksidan özellikler için parametrelerin belirlenmesinde kullanılır. Bu metot sisteminin stabil bir serbest radikal olan DPPH’ tan bir H atomu aldığını tespit eden Blois (1958) tarafından geliştirilmiştir. Bu test için kuersetin standart olarak kullanılmıştır. Ve çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan kuersetin çözeltisiyle Şekil 4.2’ de verilen grafik elde edildi. Yapılan çalışmalar sonucunda *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitkilerinin kuru özütlerinden elde edilen DPPH radikalini süpürme aktiviteleri Şekil 4.3’ de ve Çizelge 4.3’de belirtildi. Elde edilen değerler üç bağımsız denemenin ortalama $\pm$ SS temsil etmektedir.



Şekil 4.1. DPPH radikali süpürme aktivitesi (Cahyana ve ark., 2015).



Şekil 4.2. DPPH testi için kuersetin standart grafiği.



Şekil 4.3. *A. rubrostriatus* ve *A. cryptocarpus* bitkilerinden elde edilen ekstrelerin DPPH radikalini giderme kapasitesi (%).

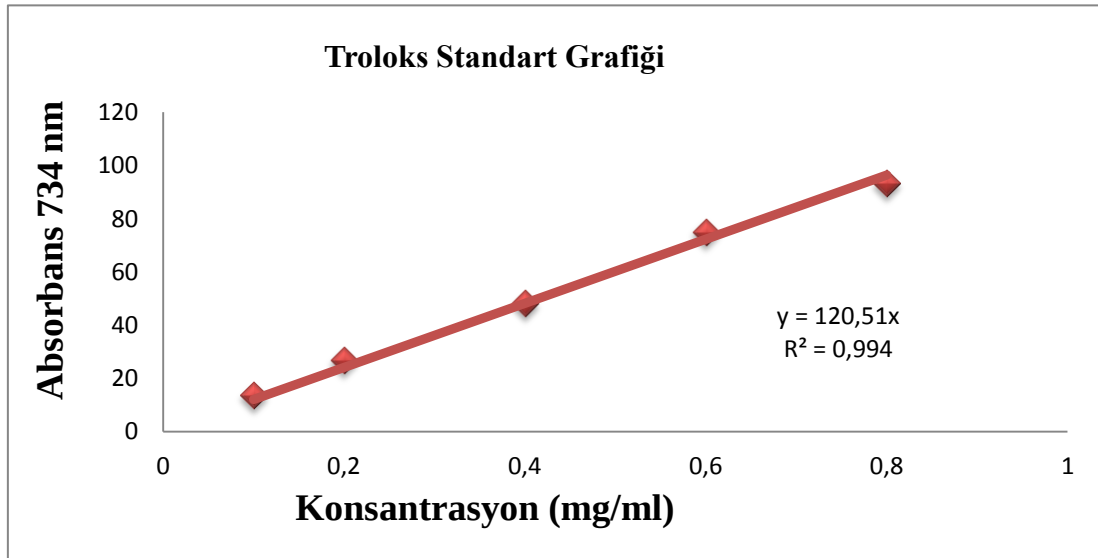
Çizelge 4.3. *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitki türlerinin metanol ekstrelerinin DPPH radikal giderme kapasiteleri

DPPH	Çiçek EC ₅₀ (µg/ml)	Yaprak EC ₅₀ (µg/ml)
<i>A. cryptocarpus</i>	27.52± 0.4 ^a	20.51± 0.1 ^c
<i>A. rubrostriatus</i>	27.13± 0.1 ^b	17.91± 0.2 ^d

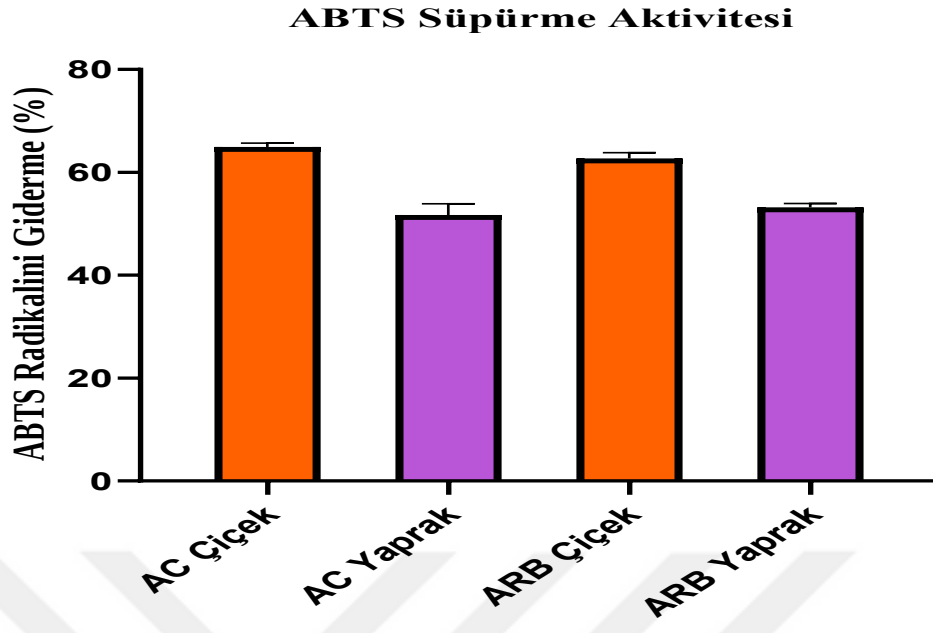
Aynı tablo içinde farklı üst-yazılarla (a, b, c ve d) işaretlenmiş olan verinin istatistiksel olarak anlamlı bir farkı olduğunu göstermektedir (p <0.0001).

4.2.2. ABTS⁺ radikalini giderme bulguları

ABTS radikalini giderme testi bazı modifikasyonlar yapılarak bitki özütlerine uygulandı. 2,5 µl ekstre 96'lık mikroluka kuyucukları içerisine üç tekrar olacak şekilde koyuldu ve üzerine 147,5µl seyreltilmiş ABTS radikali koyuldu. Karanlık bir ortamda 6 dk bekletildikten sonra 734 nm de absorbans değerleri kalorimetrik olarak ölçüldü. Bu çalışma için troloks standart olarak kullanıldı. Troloks kullanılarak elde edilen standart grafiği Şekil 4.4' de gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitkilerinin kuru ekstrelerinden elde edilen ABTS radikalini süpürme aktiviteleri Şekil 4.5'de ve Çizelge 4.4'de belirtildi. Elde edilen değerler üç bağımsız denemenin ortalama ±SS temsil etmektedir.



Şekil 4.4. ABTS için troloks standart grafiği.



Şekil 4.5. *A. rubrostriatus* ve *A. cryptocarpus* bitkilerinden elde edilen ekstrelerin ABTS radikalini giderme kapasitesi (%).

Çizelge 4.4. *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitki türlerinin metanol ekstrelerinin ABTS radikal giderme kapasiteleri

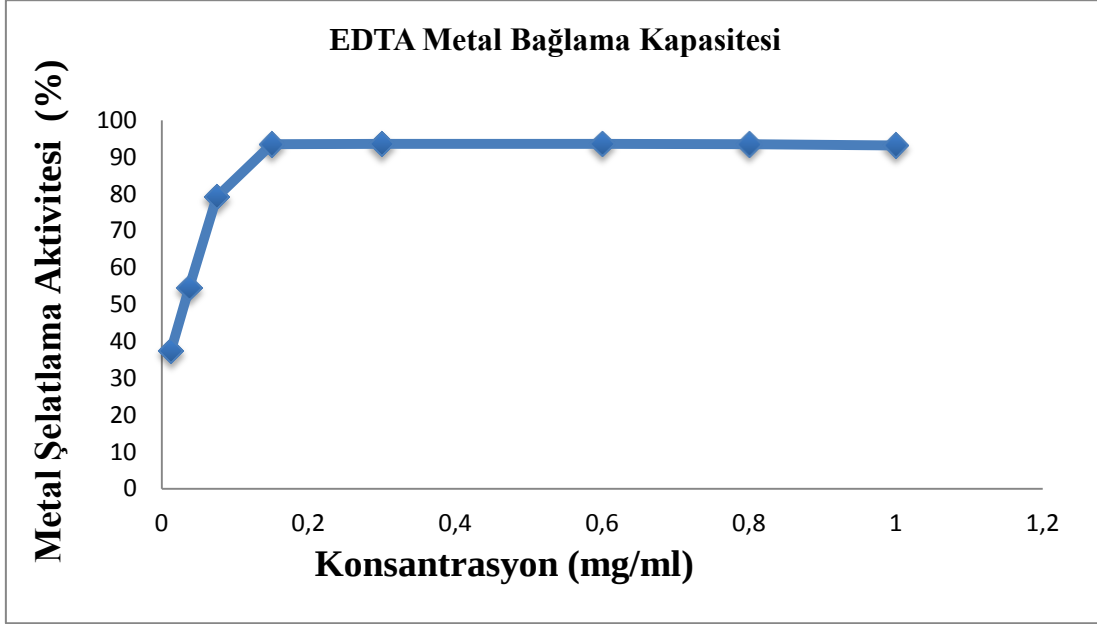
ABTS	Çiçek EC ₅₀ (µg/ml)	Yaprak EC ₅₀ (µg/ml)
<i>A. cryptocarpus</i>	24.87± 0.1 ^a	6.59± 0.2 ^c
<i>A. rubrostriatus</i>	21.88± 0.09 ^b	6.94± 0.03 ^d

Aynı tablo içinde farklı üst-yazılarla (a, b, c ve d) işaretlenmiş olan verinin istatistiksel olarak anlamlı bir farkı olduğunu göstermektedir (p <0.0001).

4.2.3. Metal şelatlama kapasite tayini bulguları

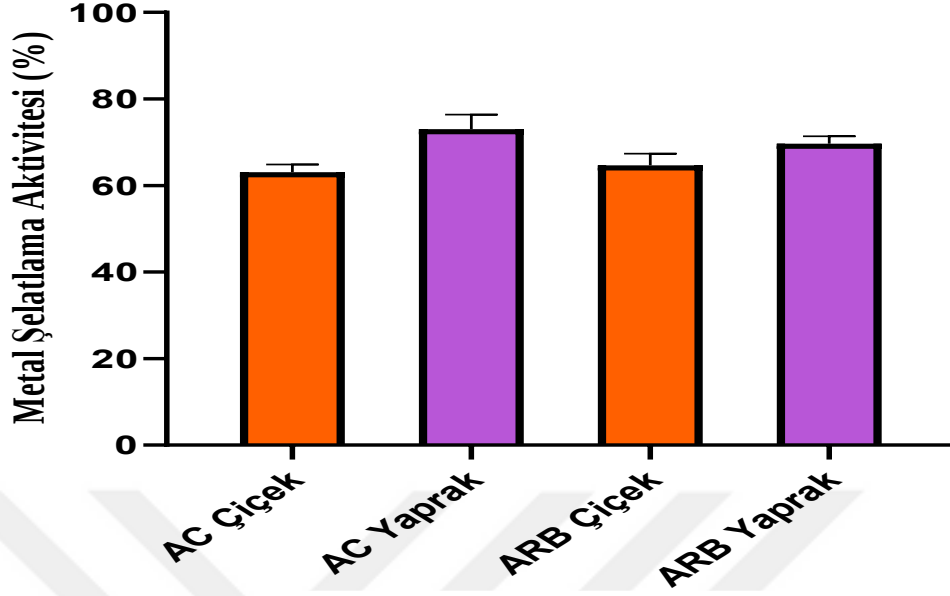
A. cryptocarpus ve *A. rubrostriatus* bitki özütlerinin metalleri bağlama kapasitesi Dinis ve arkadaşlarının 1994 yılında geliştirdikleri yöntemle göre belirlendi. Bu yöntemde temel prensip materyal metot kısmında da belirtildiği gibi özütlerde bulunan metal bağlama yeteneğine sahip antioksidanlar ile çok güçlü bir Fe^{+2} şelatlayıcı olan ferrozin reaktifinin rekabetine dayanır. Kuru ekstrede metal bağlama kabiliyeti olan antioksidan miktarı ne kadar fazla ise Fe^{+2} ferrozin bileşiğinin oluşumu o derece engellenir. Ve bu durumda bileşikten kaynaklı kırmızı renk o kadar açık olur. Bu çalışma da pozitif kontrol

için güçlü bir metal şelatlayıcı olan EDTA kullanıldı. Çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan EDTA örnekleriyle oluşturulan standart ölçümleme eğrisi Şekil 4.6’ da verilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* kuru özütlerinden elde edilen metal şelatlama aktiviteleri Şekil 4.7’ de ve Çizelge 4.5’de belirtildi. Elde edilen değerler üç bağımsız denemenin ortalama $\pm$ SS temsil etmektedir.



Şekil 4.6. Metal şelatlama için EDTA standart grafiği.

Metal Şelatlama Kapasitesi



Şekil 4.7. *A. rubrostriatus* ve *A. cryptocarpus* bitki türlerinden elde edilen ekstrelerin metal şelatlama yeteneği(%).

Çizelge 4.5. *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitki türlerinin metanol ekstrelerinin metal şelatlama yeteneği

Metal Şelatlama	Çiçek EC ₅₀ (µg/ml)	Yaprak EC ₅₀ (µg/ml)
<i>A.cryptocarpus</i>	5.90± 0.2 ^a	2.04± 0.2 ^c
<i>A. rubrostriatus</i>	5.15± 0.6 ^b	1.57± 0.1 ^d

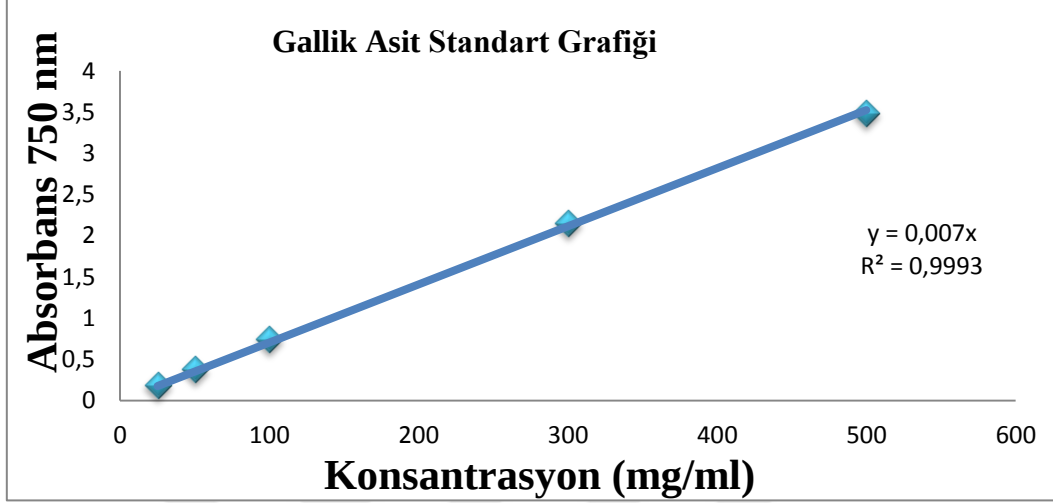
Aynı tablo içinde farklı üst-yazılarla (a, b, c ve d) işaretlenmiş olan verinin istatistiksel olarak anlamlı bir farkı olduğunu göstermektedir (p <0.0001).

4.2.4. Toplam fenolik madde miktarı bulguları

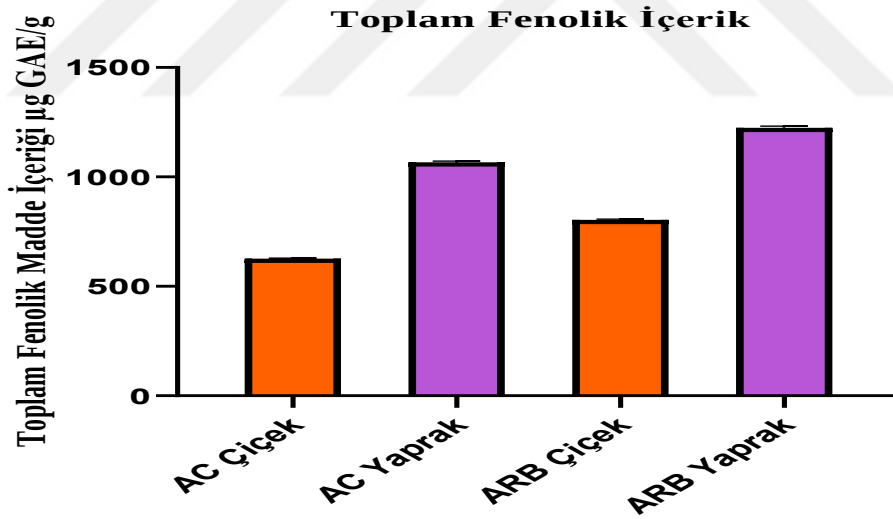
A. cryptocarpus ve *A. rubrostriatus* bitkilerinin özütlerindeki total fenolik madde içeriği Singleton ve Rossi' nin 1965 yılında geliştirdiği ve mikro düzeye modifiye edilerek kullanılan yönteme göre belirlendi. Total fenolik madde düzeyini belirlemek için etkili bir fenolik bileşik olan gallik asit kontrol olarak kullanıldı.

Gallik asit standart grafiği Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri şeklinde hesaplandı. Yapılan çalışmalar sonucunda *A.*

cryptocarpus ve *A. rubrostriatus* bitkilerinin kuru özütlerinden elde edilen toplam fenolik madde içerikleri Şekil 4.9’ da ve Çizelge 4.6’da belirtildi. Elde edilen değerler üç bağımsız denemenin ortalama $\pm$ SS temsil etmektedir.



Şekil 4.8. Toplam fenolik madde içeriği için gallik asit standart grafiği.



Şekil 4.9. *A. rubrostriatus* ve *A. cryptocarpus* bitki türlerinden elde edilen ekstrelerin toplam fenolik madde içeriği.

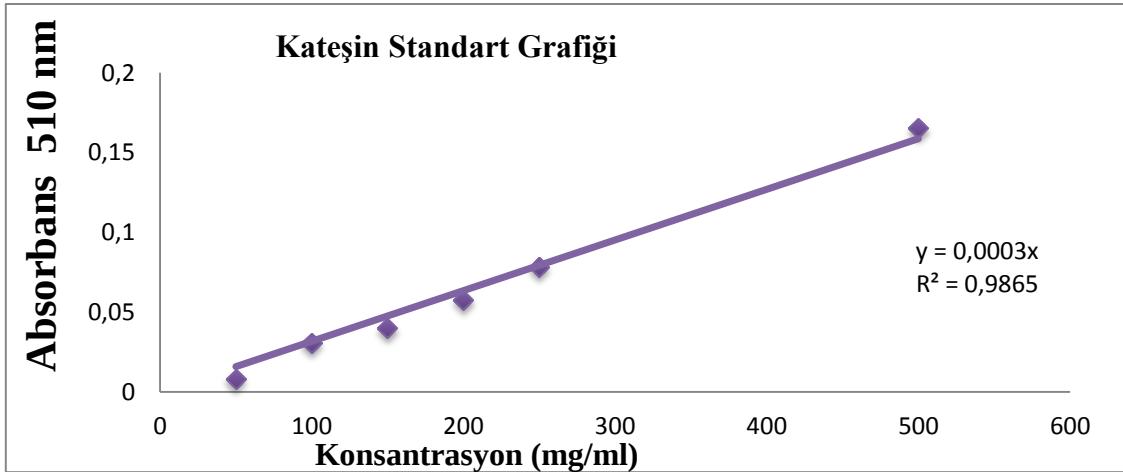
Çizelge 4.6. *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitki türlerinin ekstrelerinden elde edilen toplam fenolik madde içeriği

Toplam Fenol (Gallik Asit)	Çiçek ($\mu\text{g/g}$ kuru ekstre)	Yaprak ($\mu\text{g/g}$ kuru ekstre)
<i>A. cryptocarpus</i>	626.4 $\pm$ 2.2 ^a	1066 $\pm$ 6.3 ^c
<i>A. rubrostriatus</i>	804.1 $\pm$ 2.4 ^b	1225 $\pm$ 7.4 ^d

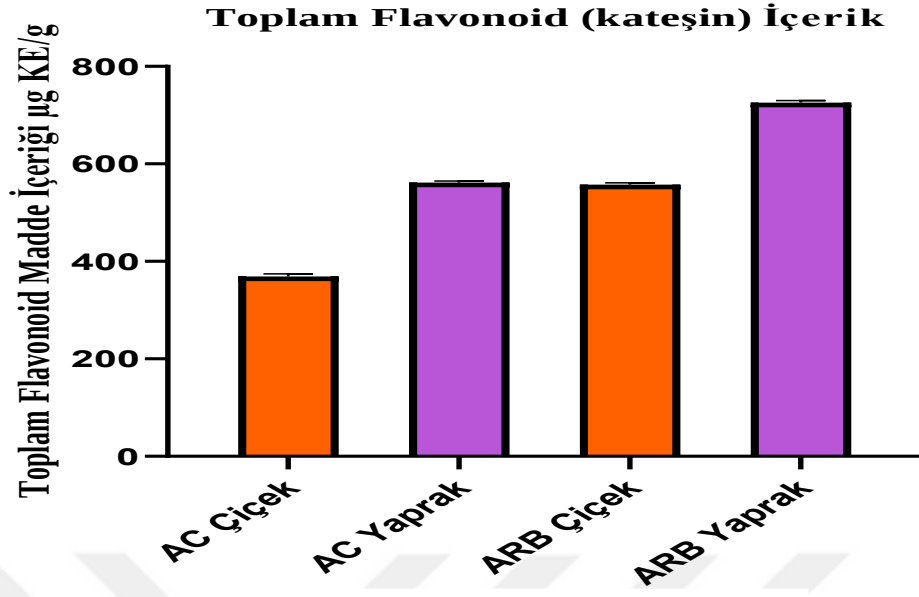
Aynı tablo içinde farklı üst-yazılarla (a, b, c ve d) işaretlenmiş olan verinin istatistiksel olarak anlamlı bir farkı olduğunu göstermektedir ($p < 0.0001$).

4.2.5. Toplam flavonoid madde miktarı bulguları

A. cryptocarpus ve *A. rubrostriatus* bitkilerinin özütlerinin toplam flavonoid madde miktarını belirlemek için Zhishen ve arkadaşlarının 1999 yılında geliştirdiği ve alimünyum klorik eklenmesinden kaynaklı renk değişimi prensibine dayanan metoda göre yapıldı. Bu deneyde kuru özütlerdeki toplam flavonoid madde içeriğini belirlemek için kateşin standart olarak kullanıldı. Çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan kateşinden absorbans grafiği çizildi. Bu grafik Şekil 4.10'da belirtildi. Yapılan çalışmalar sonucunda *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitkilerinin kuru özütlerinden elde edilen toplam flavonoid madde içerikleri Şekil 4.11'de ve Çizelge 4.7'de belirtildi. Elde edilen değerler üç bağımsız denemenin ortalama $\pm$ SS temsil etmektedir.



Şekil 4.10. Toplam flavonoid madde içeriği için kateşin standart grafiği.



Şekil 4.11. *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitki türlerinden elde edilen ekstrelerin toplam flavonoid madde içeriği.

Çizelge 4.7. *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitki türlerinin ekstrelerinden elde edilen toplam flavonoid madde içeriği

Toplam Flavonoid (Kateşin)	Çiçek (µg/g kuru ekstre)	Yaprak (µg/g kuru ekstre)
<i>A.cryptocarpus</i>	369.1± 5.0 ^a	561.7± 2.9 ^c
<i>A. rubrostriatus</i>	557.5± 3.8 ^b	725.7± 4.3 ^d

Aynı tablo içinde farklı üst-yazılarla (a, b, c ve d) işaretlenmiş olan verinin istatistiksel olarak anlamlı bir farkı olduğunu göstermektedir ($p < 0.0001$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde İçeriği

Astragalus (Leguminosea) cinsine ait türler, bu türlerin ekstreleri ve bunlardan izole edilen bileşikler, bağışıklık uyarıcı, karaciğer koruyucu, antioksidan, antiviral, ateş düşürücü, kardiovasküler, iltihap giderici ve anti kanser etkiler göstermeleri nedeniyle giderek artan bir şekilde ilgi odağı haline gelmiştir (Rios ve Waterman, 1997; Verotta ve El- Sebakhy, 2001).

Bu tez kapsamında *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitkilerinin çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri çeşitli metodlarla incelenmiştir. Çalışmaya başlamadan önce yapılan kaynak araştırması neticesinde *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitki türleriyle ilgili yapılmış antioksidan aktivite çalışması bulunmamıştır. Sonuçlara bakıldığında, çalışılan bitkilerin fenolik madde içeriğindeki farklılıkların, gösterdikleri antioksidan özelliklerini etkilediği belirlenmiştir.

Haşimi ve ark. (2017)'nın Anadolu'dan toplanan üç *Astragalus* türü olan *A. leporinus* var. *hirsutus*, *A. distinctissimus* ve *A. schizopteru* bitkilerini dört farklı çözücü (etanol, su, aseton ve petrol eteri) olarak kullanılarak antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışılan *Astragalus* en fazla bulunan flavonoidin rutin (1,03-13,35 mg/g ekstre) ve hesperidin (1.6-9.7 mg/g ekstre) olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmalarımızda standart olarak kullandığımız kuersetin miktarı ise Haşimi ve ark.'nın çalıştığı *Astragalus* türlerinde anlamlı düzeyde belirlenmemiştir. *A. schizopterus* metanol ekstresinde de yüksek miktarda kuinik asit (111,3 mg/g ekstre) bulunduğu belirlenmiştir. Fenolik ve flavonoid bileşikler açısından *A. schizopterus*' nun metanol ekstresi en zengin ekstre olarak belirlenmiştir.

A. cryptocarpus türünün çiçek kısımlarından alınan metanol ekstresinin fenolik içeriği 626,4 µg GAE/g ölçülürken, yaprak kısımlarından alınan metanol ekstresinin fenolik içeriği 1066 µg GAE/g olarak bulundu. Yapılan çalışmada *A. cryptocarpus*' un çiçeği ve yaprağı kullanılarak elde edilen metanol ekstraktına bakıldığında fenolik madde içeriği en yüksek yaprak ekstresinde (1066 µg GAE/g ekstre) elde edildi.

Toplam fenolik madde içeriği gallik asit eşdeğerine bakılarak ortaya konuldu. *A. rubrostriatus* türünün çiçek kısımlarından elde edilen metanol ekstresinin toplam fenolik içeriği ise 804,1 µg GAE/g iken, yaprak kısımlarının metanol ekstresinin fenolik içeriği ise 1225 µg GAE/g olarak bulundu. Yapılan çalışmada *A. rubrostriatus*' un çiçeği ve yaprağı kullanarak elde edilen metanol ekstraktına bakıldığında fenolik madde içeriği en yüksek yaprak ekstresinde (1225 µg GAE/g ekstre) elde edildi. İki bitki türü kıyaslandığında ise *A. rubrostriatus*'un çiçek ve yaprak ekstralarında *A. cryptocarpus*'a göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.0001$) daha yüksek fenolik madde içeriği gözlemlendi. Açık bir şekilde görülüyor ki bitkinin farklı kısımlarından elde edilen metanol ekstraktları arasındaki farkın fazla olduğu ve yaprağın çiçeğe göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.0001$) fenolik madde içerdiği gözlemlendi.

Toplam flavonoid madde içeriği ise kateşin eşdeğerine göre hesaplandı. *A. cryptocarpus* türünün toplam flavonoid içeriğine bakıldığında ekstraktların içerdiği kateşin eş değeri çiçeğin metanol ekstresinde 369,1 µg KE/g, yaprağın metanol ekstresinde ise 561,7 µg KE/g kuru ekstre olarak belirlendi. Kateşin eşdeğerinin ekstre içeriklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Çiçek kısmında kateşin eş değeri yaprak kısmına (561,7 µg KE/g kuru ekstre) kıyasla düşük olarak ölçüldü ve bu sonuçlara göre *A. cryptocarpus* bitkisinde kateşin eş değerinin oldukça az olduğu kanısına varılmıştır.

A. rubrostriatus türünün toplam flavonoid içeriğine bakıldığında bitkinin içerdiği kateşin eş değeri çiçeğin metanol ekstresinde 557,5 µg KE/g, yaprağın metanol ekstresinde ise 725,7 µg KE/g kuru ekstre olarak belirlendi. Kateşin eşdeğeri *A. cryptocarpus* türünün ekstraktlarına kıyasla yüksek olarak ölçüldü. Çiçek kısmında yaprak kısmına oranla kateşin eş değeri düşük olarak ölçüldü ve bu sonuçlara göre *A. rubrostriatus* bitkisinde kateşin eş değerinin *A. cryptocarpus* türüne kıyasla orta seviye de olduğu kanısına varılmıştır. İki bitki türü kıyaslandığında kateşin eş değerinde *A. rubrostriatus* türü istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.0001$) daha yüksek ölçüldü.

5.2. Antioksidan Kapasite Sonuçları

Serbest radikal süpürücü olarak bir bileşik ya da ekstraktın kabiliyetini test etmek yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Literatüre bakıldığında *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus*'la aynı cinsten olan *A. sibthorpianus* türünün DPPH radikalini süpürme aktivitesi çiçek kısmının metanol ekstresinde IC_{50} değeri: $22,09 \pm 0,75 \mu\text{g/ml}$ olarak ölçülmüştür. Yapılan çalışma da birçok bitki arasından en yüksek aktiviteye sahip tür *A. sibthorpianus* olarak gözlemlenmiştir (Sarımahmut, 2016).

Haşimi ve ark. (2017)'nın yaptığı çalışmada ABTS radikalini süpürme aktivitesi, *A. schizopterus*'un metanol ve su ekstrelerinde (IC_{50} : 22.01 ± 0.07 and $32.91 \pm 0.80 \mu\text{g/mL}$) en yüksek bulunmuştur. *A. schizopterus*'un metanol ekstresi DPPH ve ABTS radikalini süpürme aktivitesinde en yüksek aktiviteyi göstermiştir.

Yaptığımız çalışmada *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitki türlerinin çiçek ve yapraklarından alınan metanol ekstrelerinin antioksidan kapasitesini belirlemek için, DPPH radikali giderme aktivitesine, ABTS radikalini süpürme aktivitesine ve metal şelatlama aktivitesine bakıldı.

DPPH radikalini süpürme aktivitesi için kontrol olarak kuersetin (EC_{50} : $0,348 \mu\text{g/ml}$) eş değeri kullanıldı. *A. cryptocarpus* türünün çiçek ve yaprak bölümlerinden alınan metanol ekstresinin aktiviteleri incelendiğinde çiçek için; EC_{50} $27,52 \mu\text{g/ml}$ kapasitede radikal süpürdüğü görüldü. Bir diğer kısım olan yapraktan alınan ekstrele bakıldığında metanol ekstresinin aktiviteleri incelendiğinde EC_{50} : $20,51 \mu\text{g/ml}$ olarak ölçüldü. En yüksek DPPH radikali süpürme aktivitesi yaprağın metanol ekstresinde gözlemlendi.

ABTS radikalini süpürme aktivitesini ölçmek için kontrol olarak troloks (EC_{50} : $0,407 \mu\text{g/ml}$) eş değeri kullanıldı. *A. cryptocarpus* türünün çiçekten elde edilen metanol ekstresinin aktivitesi incelendiğinde EC_{50} : $24,87 \mu\text{g/ml}$ olarak belirlendi. Yaprığın metanol ekstresinin aktivitesi incelendiğinde ise EC_{50} : $6,59 \mu\text{g/ml}$ olarak hesaplandı. Buradaki sonuçlara göre en yüksek ABTS radikalini süpürme aktivitesini yapraktan alınan metanol ekstresinde gösterdiği belirlendi.

Metal şelatlama aktivitesinde demir iyonu reaktif bir metal olduğundan fenton reaksiyonlarına katılması sebebiyle hidroksil radikallerinin oluşmasına yol açmaktadır.

Bu yüzden şelatlama aktivitesi oluşabilecek bir oksidatif hasarın önlenmesi için önemli bir parametredir. *A. cryptocarpus* türünün metal şelatlama aktivitesi EDTA (EC_{50} : 0,041 $\mu\text{g/ml}$) kullanılarak belirlendi. Çiçekten elde edilen metanol ekstresinin aktivitesi EC_{50} : 5,90 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplandı. Yapraktan elde edilen metanol ekstresinin aktivitesi EC_{50} : 2,04 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlendi. Yapraktan alınan ekstrelerin metal şelatlama aktivitelerinin çiçeğin metanol ekstrelerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.0001$) daha yüksek olduğu gözlemlendi.

DPPH radikalini süpürme aktivitesi için kontrol olarak kuersetin (EC_{50} : 0,348 $\mu\text{g/ml}$) eş değeri kullanıldı. *A. rubrostriatus* türünün çiçek ve yaprak bölümlerinden alınan metanol ekstresinin aktiviteleri incelendiğinde çiçek için; EC_{50} : 27,13 $\mu\text{g/ml}$ kapasitede radikal süpürdüğü görüldü. Bir diğer kısım olan yapraktan alınan ekstrele bakıldığında metanol ekstresinin aktivitesi EC_{50} : 17,91 $\mu\text{g/ml}$ olarak ölçüldü. En yüksek DPPH radikali süpürme aktivitesi yaprağın metanol ekstresinde gözlemlendi.

ABTS radikalini süpürme aktivitesini ölçmek için kontrol olarak troloks (EC_{50} : 0,407 $\mu\text{g/ml}$) eş değeri kullanıldı. *A. rubrostriatus* türünün çiçekten elde edilen metanol ekstresinin aktivitesi EC_{50} : 21,88 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlendi. Yaprığın metanol ekstresinin aktivitesi EC_{50} : 6,94 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplandı. Burdaki sonuçlara göre en yüksek ABTS radikalini süpürme aktivitesini yapraktan alınan metanol ekstresinde gösterdiği istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.0001$) olarak belirlendi.

Metal şelatlama aktivitesinde demir iyonu reaktif bir metal olduğundan fenton reaksiyonlarına katılması sebebiyle hidroksil radikallerinin oluşmasına yol açmaktadır. Bu yüzden şelatlama aktivitesi oluşabilecek bir oksidatif hasarın önlenmesi için önemli bir parametredir. *A. rubrostriatus* türünün metal şelatlama aktivitesi EDTA (EC_{50} : 0,041 $\mu\text{g/ml}$) kullanılarak belirlendi. Çiçekten elde edilen metanol ekstresinin aktivitesi EC_{50} : 5,15 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplandı. Yapraktan elde edilen metanol ekstresinin EC_{50} : 1,57 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlendi. Yapraktan alınan ekstrelerin metal şelatlama aktivitelesinin çiçekten alınan ekstrele kiyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.0001$) daha yüksek olduğu gözlemlendi.

İki türün antioksidan aktiviteleri kıyaslandığında DPPH radikalini süpürme aktivitesi; *A. rubrostriatus*'un ve *A. cryptocarpus*'un yapraktan alınan metanol ekstresi çiçek ekstrelerine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.0001$) daha yüksek bulundu. ABTS radikalini süpürme aktivitesi ise; *A. cryptocarpus*'un yapraktan alınan

metanol ekstresi *A. rubrostriatus*'un ekstreleriyle neredeyse aynı aktiviteye sahipken çiçek kısımlarında *A. rubrostriatus*'un ekstreleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.0001$) daha yüksek bulunmuştur. Metal şelatlama aktivitesinde ise *A. rubrostriatus*'un ekstreleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.0001$) daha yüksek bulundu. *A. rubrostriatus*'un metal şelatlama aktivitesinde yaprak ekstreleri çok iyi sonuçlar vermiştir. EDTA (EC_{50} : 0,041 $\mu\text{g/ml}$) ve *A. rubrostriatus*'un yaprak ekstrelerindeki (EC_{50} : 1,57 $\mu\text{g/ml}$) aktivitelerin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık gözlemlenmemiştir.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitkileriyle aynı cinse ait *A. sibthorpianus* türünün DPPH radikalini giderme aktiviteleri kıyaslandığında, *A. sibthorpianus* türünün DPPH radikalini giderme aktivitesi daha yüksek bulunmuştur.

Bir diğer çalışmada ise farklı bir tür olan *A. schizopterus*'un ABTS radikalini giderme aktivitesi *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitkileriyle kıyaslandığında, *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus* bitkilerinin ABTS radikalini giderme aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.0001$) yüksek bulunmuştur.

Astragalus bitkisinin farklı türlerinin ekstraktlarında 10-15 $\mu\text{g/ml}$ ve altında IC_{50} değerleri görülmüştür (Yan ve ark. 2009; Huang ve ark. 2012). Bunun yanı sıra IC_{50} değerlerinin yaklaşık 0,5 mg/ml seviyelerinde olduğu yayınlar da mevcuttur (Arıcan ve ark., 2014). Literatür çalışmaları incelendiğinde çalışılmış olan *Astragalus* türlerinin hepsinin antioksidan aktivite kapasitelerinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

Çalıştığımız bitki türleri olan *A. cryptocarpus* ve *A. rubrostriatus*'un da çiçek ve yaprak kısımlarının antioksidan içeriklerinin yüksek olduğu ve diğer türlerde olduğu gibi iyi bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.



KAYNAKLAR

- Akpoyraz, M., Durak, İ., 1995. Serbest radikallerin biyolojik etkileri. *Ankara Tıp Mecmuası*, 253-262.
- Altınır, A., Atalay, H., Bilal, T., 2017. Serbest radikaller ve stres ile ilişkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 51-55.
- Arıcan, G.O., Çakır, O., Arıcan, E., Kara, T., Dağdeviren, O., Arı, S. 2014. Effects of Geven root extract on proliferation of HeLa cells and bcl-2 gene expressions. *African Journal of Biotechnology*, 11(18): 4296-4304.
- Aydemir B, Karadağ Sarı E., 2009. Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 56-60.
- Ayvaz, Z., 2021. Serbest radikallerle savaşan antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Ekoloji Dergisi*, 26-33.
- Azqueta, A., Arbillaga, L., Pach, G., Cascante, M., Creppy, E., Lopez de Cerain, A., 2007. A quinoxaline 14-di-N-oxide derivative induces DNA oxidative damage not attenuated by vitamin C and E treatment. *Chemico Biological Interactions*, 168: 95-105.
- Azzi, A., Gysin, R., Kempna, P., Ricciarelli, R., Villacorta, L., Visarius, T., Zingg, JM., 2003. The role of α -tokopherol in preventing disease: from epidemiology and molecular events. *Molecular aspects of medicine*, 24: 324- 336.
- Bader, N., Bosy-Westphal, A., Koch, A., Mueller, MJ., 2006. Influence of vitamin C and E supplementation on oxidative stress induced by hyperbaric oxygen in healthy men. *Ann Nutr Metab*, 503: 173-176.
- Başbağ, M., Kavak, B., Fırat, M., Çağan, E., Sayar, S., 2018. Türkiye florasında yer alan endemik Astragalus taksonları. *In International Congress on Agriculture and Animal Sciences, Antalya*.
- Bar-Sela, G., 2011. White-Berry Mistletoe (*Viscum album* L.) as complementary treatment in Cancer: Does it help?. *European Journal of Integrative Medicine*, 3: 55-62.
- Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Kızıl, O. A. S., Telci, İ., 2010. Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları. *Tmmob Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi*, 11-5.
- Burda, S., Oleszek, W., 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoid. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 49(6):2774-2779.
- Cadenas, E., Packer, L., 1996. Handbook of antioxidants. *Marcel dekker, New York*.
- Cemeli, E., Baumgartner, A., Anderson, D., 2009. Antioxidants and the Comet assay. *Mutation Research/Journal*, 681: 51-67.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Chern, J. C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10 (3): 178-182.
- Çırak, C., Ayan, A., Kevseroğlu, K., 2004. The effects of light and some presoaking treatments on germination rate of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) seeds. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7: 182-186.
- Davis, P.H., 1970. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. *Edinburgh Univ. Press*, Vol. 3, Edinburgh.
- Delibaş, N., Özçankaya, R., 1995. Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2 (3): 11-17.

- Devasagayam, TPA., Tilak, JC., Bloor, KK., 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal Assoc Physicians India*, **52**: 794-804.
- Deveci, A., Nur, G., Kırpık, A., Yıldız, Y., Harmankaya, A., 2016. Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bil. Enst. Dergisi*, **9** (1): 26-32.
- Dündar, Y., Aslan, R., 1999. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller, antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, **2** (2): 134-142.
- Dokuyucu, R., Karateke, A., Gokce, H., 2014. Antioxidant effects of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **183**: 23-27.
- Ekici, L., Sağdıç, O., 2007. Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu. *Gıda Dergisi*, **33** (5): 251-260.
- Fabrizzi, L., 2011. Living in a cage is a restricted privilege. In *Beauty in Chemistry*, 127-166.
- Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, **18** (10): 872-879
- Ford, L., Theodoridou, K., Sheldrake, G. N., Walsh, P. J., 2019. A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. *Phytochemical Analysis*, **30**(6), 587-599.
- Fridovich, I., 1975. Superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, **44**: 147-159.
- Fidan, A.F., Dündar, Y., 2007. Yucca schidigera ve içerdiği saponinler ile fenolik bileşiklerinin, hipokolesterolemik ve antioksidan etkileri. *Lalahan Enstitü Dergisi*, **47** (2): 31-39.
- Harborne, JB., Williams, CA., 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**: 481.
- Haşimi, N., Ertaş, A., Yılmaz, M., 2017. LC-MS/MS and GC-MS analyses of three endemic *Astragalus* species from Anatolia towards their total phenolic-flavonoid contents and biological activities. *Biological Diversity and Conservation*, **10** (1):18-30.
- Heo, HJ., Kim, YJ., Chung, D., Kim, DO., 2007. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chemistry*, **104** (1): 87-92.
- Huang, HY., Caballero, B., Chang, S., 2006. Multivitamin/mineral supplements and prevention of chronic disease. *Evidence report/technology assessment*, **139**: 1-117.
- Huang, L.H., Yan, Q.J., Kopparapu, N.K., Jiang, Z.Q., Sun, Y. 2012. Astragalus membranaceus lectin (AML) induces caspase- dependent apoptosis in human leukemia cells. *Cell proliferation*, **45** (1): 15-21.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J. M., 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian ocimum accessions. *Food Chemistry*, **83** (4): 547-550.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, **47** (10): 3954-3962.

- Karabulut, H., Gülay, M.Ş., 2016. Serbest Radikaller. *MAKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **4** (1): 50-59.
- Karaman, S., Bagheri, A., Maassoumi, A., Rahiminejad, M.R., 2015. Notes on Astragalus sect. Hymenostegis (Fabaceae) from Turkey. *Tübitak Dergisi*, **39**: 205-207.
- Konukoğlu, D., 1997. Serbest radikaller ve önemleri. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*, **1** (4): 197-200.
- Korish, AA., Arafah, MM., 2008. Catechin combined with vitamins C and E ameliorates insulin resistance IR and atherosclerotic changes in aged rats with chronic renal failure CRF. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, **461**: 25-39.
- Kra-Kud, M., Dusin, M., Valach, M., 2006. Products of DNA protein and lipid oxidative damage in relation to vitamin C plasma concentration. *Physiol Research*, **552**: 227-231.
- Larson, RA., 1997. Naturally occurring antioxidants. *Lewis publishers*, New York.
- Liu, J., Du, C., Beaman, H. T., Monroe, M. B. B., 2020. Characterization of phenolic acid antimicrobial and antioxidant structure–property relationships. *Pharmaceutics*, **12** (5): 419.
- Maassoumi, A.A., 1998. Astragalus in the Old World, check-list. *Research Institute of Forests and Rangeland*, 194.
- Merken, HM., Merken, CD., Beecher, GR., 2001. Kinetics method for the quantitation of anthocyanins, flavonal and flavones in food. *J. Agric. Food Chemistry*, **49**: 2727-2732.
- Muthukumaran, S., Sudheer, AR., Menon, VP., Nalini, N., 2008. Protective effect of quercetin on nicotine-induced prooxidant and antioxidant imbalance and DNA damage in Wistar rats. *Toxicology*, **243** (1-2): 207-215.
- Njume, C., Afolayan, AJ., Ndip, RN. 2009. An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of Helicobacter pylori Infections. *African Journal Pharmacy Pharmacology*, **3**: 685-699.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z., 2015. Oksidatif stres ve hücre içi lipid protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, **6** (3): 331-336.
- Parihar, MS., Hemnani, T., 2003. Phenolic antioxidants attenuate hippocampal neuronal cell damage against Kainic acid induced excitotoxicity. *Journal of Biosciences*, **28**: 121-128.
- Pham-Huy, LA., He, H., Pham-Huy, C., 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, **4** (2): 89-96.
- Podlech, D., Zarre, SH., 2013. A Taxonomic Revision of the genus *Astragalus* L. (Leguminosae) in the Old World. *Naturhistorisches Museum Wien Journal*, Vol. **II**: 1039–1150.
- Rang, R.Y., Tsou, S.C.S., Lee, T.C., Wu, W.J., Hanson, P.M., Kuo, G., Engle, L.M., Lai, P.Y., 2006. Distribution of 127 edible plant species for antioxidant activities by two assays. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86**: 2395-2403.
- Rios, J.L., Waterman, P.G., 1997. A review of the pharmacology and toxicology of Astragalus. *Phytotherapy Research*, **11** (6): 411-418.

- Sarma, AD., Mallick, AR., Ghosh, AK., 2010. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 1 (3): 185-192.
- Sarımahmut, M. 2016. *Bazı bitki türlerinin antioksidatif, genotoksik, sitotoksik ve apoptotik özelliklerinin araştırılması* (doktora tezi, basılmamış). BUÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., 2010. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 3 (1): 91-100.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., Knez, T., 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89 (2): 191-198.
- Summanen, J., Vuorela, P., Marjamäki, K., Pasternack, M., Törnquist, K., Vuorela, H., 2001. Effect of simple aromatic compounds and flavonoids on Ca^{+2} fluxes in rat pituitary gh4c1 cells. *European Journal Pharmacology*, 414: 125-133.
- Sun, T., Powers, JR., Tang, J., 2007. Evaluation of the antioxidant activity of asparagus broccoli and their juices. *Food Chemistry*, 1051: 101- 106.
- Şahin, DY., Elbasan, Z., Gür, M., 2012. Relationship between oxidative stress markers and cardiac syndrome X. *Journal of Clinical Experimental Investigations*, 3: 174-180.
- Şener, G., Yeğen, Berrak, Ç., 2009. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, 22: 5-13.
- Üstündaş, M., Yener, H. B., Helvacı, Ş. Ş., 2018. Parameters affecting lycopene extraction from tomato powder and its antioxidant activity. *Anadolu University of Sciences & Technology-A: Applied Sciences & Engineering*, 19 (2).
- Verotta, L., El-Sebakhy, N.A., 2001. *Studies in natural products chemistry*. Elsevier Science Publishing Company, 125:179-234.
- Yan, Q., Li, Y., Jiang, Z., Sun, Y., Zhu, L., Ding, Z. 2009. Antiproliferation and apoptosis of human tumor cell lines by a lectin (AMML) of Astragalus mongholicus. *Phytomedicine*, 16 (6): 586-593.
- Yılmaz, İ., 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17 (2): 143-153.
- Wang, Y.H., Chao, P.D., Hsiu, S.L., Wen, K.C., Hou, Y.C., 2004, Lethal quercetin digoxin interaction in pigs. *Life Sciences*, 74: 1191-1197.
- Zhang, P., Omaye, ST. 2001. Antioxidant and prooxidant roles for β -carotene α -tocopherol and ascoric acid in human lung cells. *Toxicology in vitro*, 15: 13 -24.

ÖZ GEÇMİŞ

İlköğretimini Ercişli Emrah İlkokulu'nda, ortaöğretimini Ercişli Emrah Ortaokulu'nda, lise öğrenimini ise Erciş Anadolu İmam Hatip Lisesi'nde tamamladı. 2019 yılında Van-Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nden mezun oldu.





T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih:/...../2022

Tez Başlığı / Konusu:

Astragalus cryptocarpus DC. VE *Astragalus rubrostriatus* Bunge BİTKİLERİNİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 69 sayfalık kısmına ilişkin,/.../2022 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % (19) dur.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Meryem AKGÜL

Öğrenci No: 199100011776

Anabilim Dalı: MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK

Programı:

Statüsü: Y. Lisans ☒

Doktora ☐

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR

Dr. Öğr. Üyesi Deniz İRTEM KARTAL

(Unvan, Ad Soyad, İmza)

ENSTİTÜ ONAYI

UYGUNDUR

(Unvan, Ad Soyad, İmza)