

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*Astragalus diphtherites* Fenzl var. *diphtherites* ve *Astragalus gymnaocepias* Rech (FABACEAE) TAKSONLARININ  
FARKLI POLARİTEYE SAHİP ÇÖZÜCÜLER İLE  
HAZIRLANAN ÖZÜTLERİNİN ANTIOKSİDAN ve  
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Cumali KESKİN**

**DOKTORA TEZİ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYARBAKIR  
AĞUSTOS 2009**

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*Astragalus diphtherites* Fenzl var. *diphtherites* ve *Astragalus gymnaocepias* Rech (FABACEAE) TAKSONLARININ FARKLI POLARİTEYE SAHİP ÇÖZÜCÜLER İLE HAZIRLANAN ÖZÜTLERİNİN ANTIOKSİDAN ve ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Cumali KESKİN**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN: Prof. Dr. H. Çetin ÖZEN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYARBAKIR  
AĞUSTOS 2009**

**T.C.**  
**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**  
**DİYARBAKIR**

Cumali KESKİN tarafından yapılan “*Astragalus diphtherites* Fenzl var. *diphtherites* ve *Astragalus gymnalocepias* Rech (Fabaceae) Taksonlarının Farklı Polariteye Sahip Çözücüler ile Hazırlanan Özütlelerinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Araştırılması” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında **DOKTORA** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

Ünvanı      Adı Soyadı      İmzası

Başkan : Prof. Dr. Hasan Çetin ÖZEN.....

Üye : Doç. Dr. Eyüp BAĞCI.....

Üye : Doç. Dr. Murat KIZIL.....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Süreyya NAMLI.....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Zuhale TOKER.....

**Tez Savunma Sınavı Tarihi : 27 / 08 / 2009**

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

/ / 2009

Prof. Dr. Hamdi TEMEL

Enstitü Müdürü

## ÖZET

Bu çalışmada *Astragalus diphtherites* Fenzl var. *diphtherites* ve *Astragalus gymnalocepias* Rech (Fabaceae) taksonlarının gövde ve kök kısımlarından elde edilen hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin total fenolik, total flavanoid, 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH) radikalini söndürme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, indirgeme gücü, hidroksi radikalini söndürme aktivitesi gibi *in vitro* antioksidan özellikleri ile antimikrobiyal aktiviteleri araştırıldı.

*A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinde en yüksek total fenolik bileşen miktarı; gövdede metanol ( $76.1 \pm 0.9$  µg GAE/mg), kökte ise aseton özütünden ( $48.02 \pm 1.5$  µg GAE/mg) elde edildi. Bu oranlar *A. gymnalocepias* için gövde metanol özütünde  $54.66 \pm 2.25$  µg GAE/mg ve kök etil asetat özütünde ise  $35.83 \pm 1.75$  µg GAE/mg olarak saptandı.

Toplam flavanoid bileşen miktarı ölçülürken kuersetin standart flavanoid olarak kullanıldı. *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinde en yüksek total flavanoid miktarı; gövdede aseton ( $42.20 \pm 0.46$  µg QUE /mg), kökte ise etil asetat özütünden ( $4.23 \pm 0.26$  µg QUE /mg) elde edildi. *A. gymnalocepias* bitkisinde de aynı şekilde gövde aseton ( $80.15 \pm 0.33$  µg QUE /mg) ve kök etil asetat özütlerinde ( $14.01 \pm 0.10$  µg QUE /mg) toplam flavanoid miktarının yüksek olduğu belirlendi.

*A. diphtherites* var. *diphtherites* için en yüksek DPPH radikalini söndürme aktivitesi, gövdede metanol (% $79.01 \pm 0.74$ ) kökte ise aseton özütünde (% $91.55 \pm 0.24$ ) ölçüldü. *A. gymnalocepias* bitkisinde ise bu aktivite gövde metanol % $86.83 \pm 2.24$  ve kök etil asetat özütünde % $84.10 \pm 1.99$  değerine sahip olduğu gözlemlendi.

En yüksek indirgeme gücü aktivitesi; *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias* bitkilerinin gövde ve kök kısımları için sırasıyla aseton ve etil asetat özütlerinden elde edildi.

Metal şelatlama aktivitesinde standart olarak etilendiamintetraasetik asit (EDTA) kullanıldı. *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde kısmından elde edilen metanol (%74.35±1.51) ve kök kısmından elde edilen hekzan özütü (%62.42±0.73), *A. gymnaocephias* bitkisinde ise gövde (%89.63±0.58) ve kök (%76.41±0.90) kısımlarının metanol özütlerinin en yüksek metal şelatlama aktivitesine sahip olduğu gözlemlendi.

Hidroksi radikalini söndürme aktivitesi ölçümünde standart olarak dimetil sülfoksit (DMSO) kullanıldı. *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocephias* bitkilerinin gövde ve kök etil asetat özütleri en yüksek hidroksi radikali söndürme aktivitesi gösterdi.

*A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocephias* bitkilerinin gövde ve kök kısımlarının hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile test edildi. *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 Eritromisin, Amoksisilin, Ofloksasin, Netilmisin ile Amfoterisin B standart antibiyotikleri ve 80 ve 160 µg/kağıt disk'lik bitki özütleri denendi. Denemeler sonucunda sadece *A. gymnaocephias* bitkisinin gövde kısmının aseton ve metanol özütlerinin test edilen standart mikroorganizmalardan *Streptococcus pyogenes*'in büyümesi üzerinde inhibisyon etkisine sahip olduğu tesbit edildi.

**Anahtar sözcükler:** *Astragalus diphtherites* Fenzl var. *diphtherites*, *Astragalus gymnaocephias* Rech, Antioksidan, DPPH, Hidroksi Radikali, Metal Şelatlama, İndirgeme Gücü ve Antimikrobiyal aktivite.

## ABSTRACT

Present work reports *in vitro* antimicrobial activity and antioxidant characteristics, hydroxyl radical scavenging activity, reducing power, metal chelating activities, 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH) radical scavenging activity, total phenolic and total flavonoid content of hexane, ethyl acetat, acetone and methanol extracts obtained in the supernatant of stem and roots of *Astragalus diphtheries* Fenzl var. *diphtherites* and *Astragalus gymnaocephias* Rech (Fabaceae) taxa.

The highest total phenolic content was obtained from the stem ( $76.1 \pm 0.9$   $\mu\text{g}$  GAE/mg) in the methanol and the root ( $48.02 \pm 1.5$   $\mu\text{g}$  GAE/mg) in the acetone extracts of *A. diphtheries* var. *diphtherites*. For *A. gymnaocephias*, the highest phenolic content was obtained from methanol extract of stem ( $54.66 \pm 0.25$   $\mu\text{g}$  GAE/mg) and ethyl acetate extract of root ( $35.83 \pm 1.75$   $\mu\text{g}$  GAE/mg).

The flavonoid content of extracts calculated as quercetin equivalent. The highest total flavonoid content of *A. diphtheries* var. *diphtherites* was measured in the stem ( $42.20 \pm 0.46$   $\mu\text{g}$  QUE/mg) with acetone, and in root ( $4.23 \pm 0.26$   $\mu\text{g}$  QUE/mg) with ethyl acetate extract. For *A. gymnaocephias*, the total flavonoid content was obtained from stem ( $80.15 \pm 0.33$   $\mu\text{g}$  QUE/mg) in the acetone, and the root ( $14.01 \pm 0.10$   $\mu\text{g}$  QUE/mg) in the ethyl acetate extract.

For *A. diphtheries* var. *diphtherites*, the highest DPPH radical scavenging activity was measured in the stem ( $79.01 \pm 0.74\%$ ) extract with methanol, and in the root extract ( $91.55 \pm 0.24\%$ ) with acetone extract, respectively. In the case of *A. gymnaocephias*, this activity was  $86.83 \pm 2.24\%$  with methanol and  $84.10 \pm 1.99\%$  with ethyl acetate fraction.

The highest reducing power activity was shown with the stem and the root extracts of *A. diphtheries* var. *diphtherites* and *A. gymnalocepias* plants with acetone and ethyl acetate extract respectively.

Ethylene Diamine Tetra Acetate (EDTA) was used as standarts for the metal chelating activity. The highest chelating activity was determined in the stem (74.35±1.51%) with methanol and the root (62.42±0.73%) with hexane extracts of *A. diphtheries* var. *diphtherites*. In the case of *A. gymnalocepias*, this activity was 89.63±0.58% and 76.41±0.90% with methanol extracts.

Dimethyl sulfoxide (DMSO) was used as standard for DPPH radical scavenging activity. The highest DPPH radical scavenging activity was determined in the stem and the root with ethyl acetate extracts of *A. diphtheries* var. *diphtherites* and *A. gymnalocepias*.

The antimicrobial activities for hexane, ethyl acetate, acetone and methanol extracts of the stem and root of *A. diphtheries* var. *diphtherites* and *A. gymnalocepias* were tested by disc diffusion method. *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 11774 together with the *Candida albicans* yeast ATCC 10231 and the standart antibiotics such as Eritromisin, Amoxicillin, Ofloksasin, Netilmisin and Amfoterisin B and 80 and 160 µg/paper disc plant extracts were evaluated using. As a result of the study, it was observed that there is inhibition only the stem extracts of *A. gymnalocepias* with acetone and methanol on the growth of *Streptococcus pyogenes*.

**Key words:** *Astragalus diphtherites* Fenzl var. *diphtherites*, *Astragalus gymnalocepias* Rech, Antioxidant, DPPH, Hydroxyl Radical, Metal Chelating, Reducing Power, Antimicrobial Activity.

## TEŞEKKÜR

Doktora tezim için konu seçimi, materyal temini ve çalışmaların yönlendirilmesinden sonuçlanmasına kadarki süreçte her türlü sorunla büyük özveriyle ilgilenen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Botanik Anabilim Dalı Başkanı ve Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Hasan Çetin ÖZEN'e ve Yrd. Doç. Dr. Zuhale TOKER'e ayrıca çalışmamın materyalini oluşturan bitkilerin toplanması ve teşhisinde desteğini esirgemeyen Prof. Dr. A. Selçuk ERTEKİN'e en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım süresince bilgi, deneyim ve laboratuvar olanakları konusunda benden desteklerini esirgemeyen Kimya Bölümü, Biyokimya ABD. Öğretim Üyeleri Doç. Dr. Murat KIZIL ve Doç. Dr. Göksel KIZIL'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu projeye maddi destek sağlayan Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na (DÜBAP-07-01-25) teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarım sırasında benden desteklerini esirgemeyen Mardin Artuklu Üniversitesi Rektörü Sayın Prof. Dr. Serdar Bedii OMAZ'a ve Sağlık Yüksekokulu Akademik ve İdari personeline teşekkürü borç bilirim.

Çalışmalarım süresince laboratuvar tecrübesini ve dostluğunu benden esirgemeyen sevgili kardeşim Biyokimya ABD. Arş. Gör. Murat YAVUZ'a şükranlarımı sunarım.

Kendileri ile geçireceğim zamanlardan feragat edip destekleri ile hep yanımda olan annem ve babam ile biricik eşim ve sevgili çocuklarıma teşekkür ederim.



# İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ.....	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	18
2.1. TIBBİ BİTKİLER .....	18
2.1.1. Tıbbi Bitkilerin Halk Hekimliğinde Genel Kullanım Şekilleri.....	19
2.1.2. Bitkilerin Tedavideki Yeri .....	21
2.2. BİTKİSEL SEKONDER METABOLİTLER.....	25
2.3. OKSİDATİF STRES SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR... 27	
2.3.1. Oksidatif Stres.....	27
2.3.2. Serbest Radikaller .....	27
2.3.3. Reaktif Oksijen Türleri .....	28
2.3.3.1. Süperoksit Radikali .....	29
2.3.3.2. Hidrojen Peroksit .....	30
2.3.3.3. Hidroksil Radikali .....	31
2.3.3.4. Nitrik Oksit Radikali .....	31
2.3.4. Serbest Radikallere Karşı Hücrel Savunma (Antioksidan Savunma Sistemleri) .....	32

2.3.4.1. Antioksidan Enzimler.....	33
2.3.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	33
2.3.4.1.2. Katalaz (CAT).....	34
2.3.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	34
2.3.4.1.4. Glutasyon Redüktaz.....	35
2.3.4.1.5. Glutasyon-S-Transferazlar (GST) .....	35
2.3.4.2. Antioksidan Vitaminler.....	36
2.3.4.2.1. E Vitamini ( $\alpha$ -tokoferol) .....	36
2.3.4.2.2. A Vitamini.....	37
2.3.4.2.3. C Vitamini (Askorbik Asit).....	38
2.4. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	39
2.5. KAYNAKLAR .....	47
3. MATERYAL VE METOD .....	57
3.1. MATERYAL .....	57
3.1.1. <i>Astragalus diphtherites</i> var. <i>diphtherites</i> .....	57
3.1.2. <i>Astragalus gymnalocepias</i> .....	58
3.1.3. Kullanılan Mikroorganizmalar.....	59
3.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	60
3. 1. 5. Kullanılan Aletler.....	61
3. 2. METOD .....	61
3.2.1. Bitki Özütlerinin Hazırlanması .....	61
3.2.2. Bitki Stoklarını Hazırlanması.....	62
3.2.3. Total Fenolik Bileşen Miktar Tayini.....	62
3.2.4. DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi.....	64

3.2.5. IC <sub>50</sub> Değerlerinin Hesaplanması.....	65
3.2.6. Total Flavonoid Bileşen Miktar Tayini.....	65
3.2.7. Metal Şelatlama Aktivitesi.....	67
3.2.8. İndirgeme Gücü.....	68
3.2.9. OH Radikali Söndürme Aktivitesi.....	69
3.2.10. Antimikrobiyal Aktivite.....	70
3.2.10.1. Stok Bitki Çözeltilerinin Hazırlanması.....	70
3.2.10.2. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Disk Diffüzyon Testinin Kültürlere Uygulanması.....	71
3.2.11. İstatiksel Analiz.....	72
3.3. KAYNAKLAR.....	73
4. BULGULAR.....	75
4.1. TOTAL FENOLİK BİLEŞEN MİKTAR TAYİNİ.....	75
4.2. DPPH RADİKALİNİ SÖNDÜRME AKTİVİTESİ.....	76
4.3. TOTAL FLAVONOİD BİLEŞEN MİKTAR TAYİNİ.....	79
4.4. METAL ŞELATLAMA AKTİVİTESİ.....	80
4.5. İNDİRGEME GÜCÜ.....	83
4.6. OH RADİKALİ SÖNDÜRME AKTİVİTESİ.....	85
4.7. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE.....	86
4.8. ÇİZELGELER, ŞEKİLLER, RESİMLER.....	88
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	110
5.1. KAYNAKLAR.....	117
ÖZGEÇMİŞ.....	120

## ÇİZELGELER DİZİNİ

**Çizelge 4.8.1.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin içindeki gallik asite eşdeğer total fenolik bileşen miktarları.

**Çizelge 4.8.2.** *A. gymnalocepias* bitkisinin hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin içindeki gallik asite eşdeğer total fenolik bileşen miktarları.

**Çizelge 4.8.3.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin farklı polariteye sahip çözücüler ile hazırlanan özütlerinin, BHT ve BHA'nın DPPH radikalini söndürme aktivitelerinin % inhibisyon değerleri.

**Çizelge 4.8.4.** *A. gymnalocepias* bitkisinin farklı polariteye sahip çözücüler ile hazırlanan özütlerinin, BHT ve BHA'nın DPPH radikalini söndürme aktivitelerinin % inhibisyon değerleri.

**Çizelge 4.8.5.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin içindeki kuersetine eşdeğer total flavonoid bileşen miktarları.

**Çizelge 4.8.6.** *A. gymnalocepias* bitkisinin hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin içindeki kuersetine eşdeğer total flavonoid bileşen miktarları.

**Çizelge 4.8.7.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin  $Fe^{+2}$ -ferrozine kompleksinin inhibisyon yüzdesi verileri.

**Çizelge 4.8.8.** *A. Gymnalocepias* bitkisinin  $Fe^{+2}$ -ferrozine kompleksinin inhibisyon yüzdesi verileri.

**Çizelge 4.8.9.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* gövde ve kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verileri.

**Çizelge 4.8.10.** *A. gymnalocepias* gövde ve kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verileri.

**Çizelge 4.8.11.** *A. diptherites* var. *diptherites* bitkisinin farklı polariteye sahip çözücüler ile hazırlanan özütlerinin ve DMSO' nun farklı konsantrasyonlarının TBA metodu ile OH radikalini söndürme gücü (%).

**Çizelge 4.8.12.** *A. gymnalocepias* bitkisinin farklı polariteye sahip çözücüler ile hazırlanan özütlerinin ve DMSO'nun farklı konsantrasyonlarının TBA metodu ile OH radikalini söndürme gücü (%).

**Çizelge 4.8.13.** *A. diptherites* var. *diptherites* gövde ve kök özütlerinin mikroorganizmaların büyümeleri üzerinde engelleme etkisi.

**Çizelge 4.8.14.** *A. gymnalocepias* gövde ve kök özütlerinin mikroorganizmaların büyümeleri üzerinde engelleme etkisi.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 2.3.4.1.** Antioksidan Savunma Sistemleri

**Şekil 4.8.1.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinden elde edilen gövde ve kök özütlerinin gallik asitin artan konsantrasyonlarına karşılık ölçülen absorbans değerlerinin grafiği.

**Şekil 4.8.2.** *A. gymnalocepias* bitkisinden elde edilen gövde ve kök özütlerinin gallik asitin artan konsantrasyonlarına karşılık ölçülen absorbans değerlerinin grafiği.

**Şekil 4.8.3.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda DPPH radikalini söndürme aktivitesinin spektrofotometrik analiz verileri.

**Şekil 4.8.4.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda DPPH radikalini söndürme aktivitesinin spektrofotometrik analiz verileri.

**Şekil 4.8.5.** *A. gymnalocepias* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda DPPH radikalini söndürme aktivitesinin spektrofotometrik analiz verileri.

**Şekil 4.8.6.** *A. gymnalocepias* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda DPPH radikalini söndürme aktivitesinin spektrofotometrik analiz verileri.

**Şekil 4.8.7.** Kuersetininin artan konsantrasyonlarına karşılık ölçülen absorbans değerlerinin grafiği.

**Şekil 4.8.8.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda metal şelatlama kapasitesi grafiği.

**Şekil 4.8.9.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda metal şelatlama kapasitesi grafiği.

**Şekil 4.8.10.** *A. gymnaocepia*s bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda metal şelatlama kapasitesi grafiği.

**Şekil 4.8.11.** *A. gymnaocepia*s bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda metal şelatlama kapasitesi grafiği.

**Şekil 4.8.12.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verilerinin grafiği.

**Şekil 4.8.13.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verilerinin grafiği.

**Şekil 4.8.14.** *A. gymnaocepia*s bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verilerinin grafiği.

**Şekil 4.8.15.** *A. gymnaocepia*s bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verilerinin grafiği.

**Şekil 4.8.16.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda TBA metodu ile  $Fe^{2+}$  /Askorbat/EDTA/ $H_2O_2$  sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi (%).

**Şekil 4.8.17.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda TBA metodu ile  $Fe^{2+}$  /Askorbat/EDTA/ $H_2O_2$  sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi (%).

**Şekil 4.8.18.** *A. gymnaocepia*s bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda TBA metodu ile  $Fe^{2+}$  /Askorbat/EDTA/ $H_2O_2$  sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi (%).

**Şekil 4.8.19.** *A. gymnalocepias* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda TBA metodu ile  $Fe^{2+}$  /Askorbat/EDTA/ $H_2O_2$  sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi (%).



## RESİMLER DİZİNİ

**Resim 3.1.** *A. diphtherites* var. *diphtherites*.

**Resim 3.2.** *A. gymnalocepias*.

**Resim 4.8.1.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde özütlerinin *S.pyogenes*'in üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 4.8.2.** *A. gymnalocepias* bitkisinin gövde özütlerinin *S.pyogenes*'in üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 4.8.3.** Çeşitli antibiyotiklerin *B. subtilis* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 4.8.4.** Çeşitli antibiyotiklerin *E. coli* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 4.8.5.** Çeşitli antibiyotiklerin *P aeruginosa* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 4.8.6.** Çeşitli antibiyotiklerin *S. pyogenes* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 4.8.7.** Çeşitli antibiyotiklerin *S. aureus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 4.8.8.** Amfoterisin B'nin *C. Albicans* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

## KISALTMALAR DİZİNİ

AIDS:	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ALT:	Alanin Transaminaz
AMC:	Amoksisilin
AST:	Aspartat Transaminaz
ATCC:	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
ATP:	Adenozintrifosfat
BHA:	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT:	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
CAT:	Katalaz
C-BSA:	Katyonik Sığır Serum Albumini
CCl <sub>4</sub> :	Karbontetraklorid
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
DPPH:	2,2-difenil-1-pikril-hidrazil
E:	Eritromisin
EDTA:	Etilendiamintetraasetik Asit
EtOAc:	Etil asetat
FAD:	Flavin Adenin Dinükleotid
GAE:	Gallik Asit Ekvivalenti
GSH-Px:	Glutatyon Peroksidaz
GST:	Glutatyon-S-Transferaz
HIV:	Human Immunodeficiency Virus
HSV-1:	Herpes Simpleks Virüs Tip 1
LDL:	Low Density Lipoprotein

MKP-1:	Mitogen-activated Protein Kinase Phosphatase-1
NA:	Nutrient Agar
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
N.C.C.L.S.:	National Committee for Clinical Laboratory Standarts
NET:	Netilmisin
NB:	Nutrient Broth
NO:	Nitrikoksit
NOS:	Nitrikoksit Sentetaz
OFX:	Ofloksasin
RNS:	Reaktif Azot Türleri
ROS:	Reaktif Oksijen Türleri
SD:	Standart Sapma
SDA:	Sabouraud % 4 Dextrose Agar
SDB:	Sabouraud % 2 Dextrose Broth
SOD:	Süperoksit Dismutaz
SPSS:	Statistical Package for the Social Sciences
SW:	Swainsonin
TBA:	Tiyobarbutirik Asit
TBARS	Tiyobarbutirik Asit Reaktif Türleri
TCA:	Trikoloroasetik Asit
UV:	Ultraviyole
WHO:	Dünya Sağlık Teşkilatı

## 1. GİRİŞ

Çok eski çağlardan beri bitkiler tedavi amacı ile yaygın bir şekilde kullanılmıştır.<sup>1</sup> İlaç sanayinin gelişmesiyle birlikte göz ardı edilmeye başlayan bitkisel ilaçlar, sentetik ilaçların neden olduğu olumsuz yan etkilerden dolayı yeniden gündeme gelmiştir. Bu konudaki çalışmalar doğada bulunan bitkilerin tedavi edici özelliklerini ortaya çıkarma üzerine yoğunlaşmıştır. Doğal kaynaklı ilaçların kullanım oranı gelişmiş ülkelerde %60'a kadar varmaktadır.<sup>2</sup> Dünya sağlık teşkilatı (WHO)'nın 91 ülkenin farmokopelerine ve tıbbi bitkileri üzerine yapılmış olan yayınlarına dayanarak hazırladığı bir rapora göre, tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı yaklaşık 20.000 civarındadır.<sup>3</sup>

Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye'de de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler, yüzyıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Bugün Türkiye Florasında 9000'in üzerinde bitki türü olduğu kabul edilmiştir. Bu bitkilerin 1000 kadarı, ilaç ve baharat bitkileridir.<sup>2</sup> Hakkâri'nin güneyinde Kuzey Irak'ın kuzey sınırında bulunan Şanidar mağarasında Neanderthal insana ait iskeletlerin bulunduğu mezarlarda tıbbi bitkilere ait polenlere rastlanmış olması M.Ö. 5000 yıllarında o bölgede tıbbi bitkilerin kullanıldığının kanıtı olarak gösterilmektedir.<sup>4</sup> Son 5000 yıllık dünya tarihinde bütün uygar kavimlerin bıraktığı eserler, bitkileri hastalıkların tedavisinde kullandıklarına işaret etmektedir. Bunlar arasında Asurluları, Sümerleri, Hititleri, eski Mısırlıları ve daha yakın zamanlarda Roma, Grek, Bizans ve Osmanlı medeniyetlerini sayabiliriz.<sup>5</sup>

Bitkiler sekonder metabolitleri herbivorlara ve mikroorganizmalara karşı kendilerinin savunma ve nesillerini devam ettirme amacıyla üretirler. Bitkilerin tedavi edici özellikleri içerdikleri sekonder metabolitlerden kaynaklanmaktadır.<sup>6</sup>

Bitkiler tarafından üretilen sekonder metabolitlerin antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri son yıllarda yaygın olarak araştırılmaktadır. Bitkisel sekonder metabolit gruplarının en önemlilerinden biri hiç kuşkusuz antioksidanlardır.<sup>7</sup>

Biyolojik sistemlerde antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin bulunması yaşam için vazgeçilmez bir ihtiyaçtır. Antimutajen, antikanserojen ve yaşlanmayı geciktirme (antiaging) gibi birçok biyolojik fonksiyonun bu bileşiklerden kaynaklandığı bilinmektedir.<sup>8</sup>

Doğal antioksidanların maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle kullanılan sentetik antioksidanların toksik olduğu ve kansere yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar sonucu bu tip bileşiklerin kullanımına sınırlamalar getirilmiştir.<sup>9</sup> Sentetik olarak üretilen BHA ve BHT çok yaygın olarak kullanılan antioksidanlardır. Fakat her ikisinde karaciğer hasarına sebep olduğu düşünülmektedir.<sup>10</sup> Bu nedenle doğal antioksidanlara olan ihtiyaç artmış ve bu alandaki çalışmalar bitki kaynaklı antioksidanlar üzerine yoğunlaşmıştır.<sup>11</sup>

Birçok metabolik olayda görev yapan oksijen, metabolik yollardaki kullanım aşamasında radikalik özellik kazanabilir ve reaktif oksijen türleri oluşur. Bu ve çevresel etmenlerin neden olduğu oksidatif stres sonucu oluşan reaktif oksijenler sağlıklı bireylerde antioksidatif savunma sistemiyle dengede tutulurlar.<sup>12</sup> Reaktif oksijenler; DNA mutasyonuna, lipid peroksidasyonu sonucu hedef hücre ve dokuların membran yapılarının bozulmasına neden olmaktadır.<sup>13-16</sup> Reaktif oksijenin

etkilerinin ortadan kaldırılması için radikal söndürücü antioksidan maddelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bitkiler tarafından sentezlenen flavonoidler, vitaminler, endojen metabolitler ve çeşitli fenolik bileşikler yüksek antioksidan aktivite gösterirler.<sup>17-20</sup> Bitkilerde flavonoidler; oligomerik proantosiyaniidler, kateşinler, rutin, kuersetin, silimarin gibi çok değişik yapılarda bulunurlar. Etkili antioksidanlardan olan flavonoidler, vücuttaki serbest radikalleri temizleyerek, enzimlerin üretimini ve salınımını düzenlerler. Flavonoidler potansiyel olarak sağlık uygulamalarında, alerjik reaksiyonlardan korunma, derinin ve bağ dokunun elastikiyetini koruma, kırışık oluşumunu engelleme ve yara iyileşmesini hızlandırma gibi özelliklere sahiptirler.<sup>21</sup> Tıbbi değeri olan bitkilerin antioksidan etkilerinin de fenolik bileşiklerden ve özellikle flavonoid içeriğinden kaynaklandığı bildirilmiştir.<sup>22,23</sup>

Bitki özütlerinin antioksidan aktivitelerinin yanında, antifungal ve antimikrobiyal özelliklerinin olduğu çok eski çağlardan beri bilinmektedir.<sup>24,25</sup>

Hastalıklara karşı doğal ilaç kullanımının giderek arttığı düşünülse bile, yine de ilaç içeriğindeki maddelerin sadece %25'inin bitkisel kökenli olması bu konudaki çalışmaların çok daha hızlı yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.<sup>26</sup> Bu amaçla daha önce bazı türlerinin antioksidan özellik gösterdiği bilinen *Astragalus* (geven) cinsinin *Astragalus diphtherites* var. *diphtherites* ve *Astragalus gymnalocepias* (Fabaceae) taksonlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin çalışılması düşünülmüştür.

Türkiye Florası kayıtlarına göre Dünyada 2500 türü bulunan *Astragalus* cinsinin ülkemizde yaklaşık 380 türü bulunmaktadır. Anadolu'daki *Astragalus* türlerinin 276'sı endemik tür olarak kabul edilmektedir ve endemizm oranı %61.3'tür.<sup>27,28</sup> Ancak son yıllarda özellikle komşu ülkelerde yapılan çalışmalar

sonucu yurdumuzda endemik olarak bilinen bazı *Astragalus* türlerinin diğer ülkelerde de yetiştiği tespit edilmiştir. Bu nedenle endemizm oranı %51'lere gerilemiştir. *Astragalus* türlerinin çoğu, aşırı günlük ve mevsimsel sıcaklık değişiklikleri ve kuraklık tarafından karakterize edilen İran-Turan floristik bölgesinde yayılış gösterir. *Astragalus* türlerinin gen merkezi Avrasya'dır. Özellikle Orta ve Batı Asya ile Sina-Him *Astragalusların* yayılış bölgeleridir. *Astragalus* ve *Oxytropis* cinsleri buralarda çok çeşitlilik gösterir. *Astragalus* cinsinin tür sayısı açısından ülkemiz ve diğer bazı ülkelerle karşılaştırılması Çizelge 1'de verilmiştir. Bu çizelgeden de görüleceği gibi yurdumuz, tür sayısı açısından Dünya'da en zengin üçüncü ülkedir. Endemizm oranı sıralamasında ise dördüncü sıradadır.<sup>29</sup>

Yukarıda değinilen konular bitki taksonomisi açısından önemli bulgulardır. Takson sayısı açısından dünya'nın en büyük cinsi olan *Astragalus* 1700'lü yıllardan beri halk hekimliğinde tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır.<sup>30</sup> Bazı türleri "Gum Tragacantha" denilen "Kitre" yapımında kullanılmaktadır. Kitre genellikle *Astragalus* türlerinin kök veya gövdelerinden elde edilen hidrofilik ve kolloidal özelliklere sahip değerli bir üründür, bunun yanında çok eski zamanlardan beri dondurma ve losyon üretimi ile özel bir boyama sanatı olan ebru sanatında kullanılan bir maddedir.<sup>31,32</sup> Gövdelerinden kitre adı verilen zambak çıkarılan geven türleri *Astragalus brachcalyx*, *Astragalus gummifer*, *Astragalus kurdicus* ve *Astragalus microcephalus*'tur. Bölgemizde özellikle *Astragalus microcephalus* Willd. türünden kitre zambakı elde edilmektedir.<sup>33</sup>

**Çizelge 1.** *Astragalus* cinsinin tür sayısı ve endemizm oranları açısından farklı bölgelerdeki ülkelerle karşılaştırılması.<sup>29</sup>

<b>Bölge</b>	<b>Ülke</b>	<b>Toplam Tür Sayısı</b>	<b>Endemik Tür Sayısı</b>	<b>Endemizm Oranı</b>
Batı Asya	İran	678	381	% 56.19
	Yemen	2	0	% 0
	Kuveyt	9	0	% 0
	Arabistan	21	1	% 4.76
	Irak	145	9	% 6.2
	Afganistan	293	144	% 49.14
Eski	Rusya	1005	562	% 55.92
Avrupa	Avrupa	142	50	% 35.21
Orta Doğu	Türkiye	425	218	% 51.29
	Suriye-	59	15	% 25.42
	Ürdün	35	2	% 5.71
	Filistin	52	4	% 7.69
Güney Asya	Hindistan	54	4	% 7.4
	Pakistan	135	26	% 19.25
Doğu Asya	Çin	278	22	% 7.91
Afrika	Mısır	34	2	% 5.88
	Cezayir	39	2	% 5.12
	Fas	45	9	% 20.00
	Libya	89	24	% 26.96
	Tunus	20	0	% 0

Ülkemizde bu bitki grubu genellikle havyan yemi olarak kullanılırken, özellikle dikenli olan grupları derin kökleri ve toprağa bir örtü gibi yayılması sebebiyle erozyonla mücadelede oldukça faydalı olmaktadır. Bunların yanında, tedavi amacıyla yaygın olarak kullanılan bir bitki grubudur.<sup>33</sup>



*Astragalus* türlerin aktif bileşenleri üzerine yapılan çalışmalarda: bioflavonoidler, kolin ve astragalan B (bir polisakkarit) ile amino asitler, triterpen glikozitler, flavonoidler, isoflavonoidler ve saponinler elde edilmiştir.<sup>34</sup>

Çin, Kore, Moğolistan ve Sibirya'da yayılış gösteren *Astragalus membranaceus* türü; kronik ishal, akut karaciğer ödemi, anormal uterus kanamaları ve şeker hastalığının tamamlayıcı tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır.<sup>35</sup> Aynı zamanda farmakolojik ve klinik çalışmalar *A. membranaceus*'un karaciğeri koruyucu, bağışıklık sistemini uyarıcı ve yaşlanmayı geciktirici özelliklerinin bulunduğunu ortaya koymuştur.<sup>36-38</sup>

*A. membranaceus* köklerinde temel bileşen olarak flavonoidler, polisakkaritler, saponinler, amino asitler ve bazı eser elementlerin bulunduğu rapor edilmiştir.<sup>39</sup> *Astragalus* bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde rol oynayan önemli polisakkarit fraksiyonları içermektedir. Bunlar, glukanlar olarak tanımlanan Polisakkarit A, B, C ve Polisakkarit D (heteropolisakkaritler)'dir.<sup>40</sup> *Astragalus* kökleri ayrıca bir dizi sikloartan triterpen glikozid içerir. Bunlardan bazıları astragaloside I-VIII, asetilastragalosid, isoastragalosid I ve III, astramembrannin II, sikloastragenol, siklosieversigenis, soyasaponin I, soyasapogenol B ve lupeol'dur.<sup>41</sup>

Bununla birlikte *Astragalus* köklerinden izole edilip tanımlanmış ondan fazla flavonoid bulunur. Bunlardan bazıları, kampferol, kuersetin, formononentin, kalikosin, kumatakenin ve çok sayıda izoflavon glikozidlerdir.<sup>42</sup> Bazı *Astragalus* türlerinin selenyum toplayıcı özelliklerinin olduğu bilinmektedir, bunlardan biri de yüksek miktarda selenyum toplayabilen *Astragalus bisulcatus*'tur.<sup>43</sup> *Astragalus mongholicus* Bunge, geleneksel Çin tıbbında yüzyıllardır geniş bir kullanıma sahiptir. *A. mongholicus* Bunge'nin yapısında bulunan isoflavonoidlerin PC12

hücrelerini glutamat'ın yıkıcı etkisinden koruyan nöroprotektif özelliklere sahip olduğu bilinmektedir.<sup>44</sup>

*Astragalus corniculatus* Bieb. bitkisinin toprak üstü kısımlarından saf halde elde edilen saponinlerinin denek hayvanlarında dalak tümör hücre çoğalmasını belirgin şekilde azalttığı bilinmektedir.<sup>45</sup> Bir başka *Astragalus* türü olan *A. gummifer* öksürük giderici (antitussive) etkisinden dolayı geleneksel tedavide kullanılmaktadır.<sup>46</sup> Bununla birlikte pek çok çalışma; *Astragalus*'un olağan soğuk algınlığı vakalarının şiddetini ve süresini azaltabildiğini desteklemektedir.<sup>47</sup> *Astragalus* geleneksel Çin hekimliğinde kalbi güçlendirmek amacıyla uzun zamandır kullanılmaktadır. Bu alanda yürütülen çalışmalar *Astragalus*'un kalp karıncığının işlevlerini düzene soktuğu bununla birlikte kan çıktısında, bir başka deyişle kan pompalama hacminde iyileşmeler sağladığını desteklemektedir.<sup>48,49</sup> *Astragalus*'un karaciğeri fibrozise karşı koruduğu bilinmektedir.<sup>50,51</sup>

Araştırmacılar *Astragalus* özü ile tedavi edilen farelerde idrar torbası kanserinin görülme sıklığının azaldığını ortaya koymuşlardır.<sup>52</sup> Bir başka çalışmanın sonuçları *Astragalus*'un akciğer kanseri hastalarında tümör ilerleyişini tersine çevirebildiğine işaret eder niteliktedir.<sup>53</sup> *Astragalus* ayrıca; makrofajların, T hücrelerinin ve doğal öldürücü hücrelerin uyarılmasını düzenleyebilmektedir.<sup>54,55</sup> T hücreleri vücudumuzda virüsler tarafından ele geçirilmiş hücreleri öldüren bağışıklık sistemi hücrelerine yardımcı olan hastalıklarla savaşan beyaz kan hücreleridir. T hücreleri virüs kökenli hastalıklarla savaşta direk olarak etkilidir. Bu hücrelerin sayısındaki azalma bağışıklık sisteminin zayıflamasına ve yok olmasına neden olur. HIV virüsü vücudumuzun hastalıklarla mücadelesinde son derece önemli olan T hücrelerini yok eder. Bağışıklık sistemini kuvvetlendirmek veya T hücre sayısını

arttırmanın yollarını bulmak AIDS ile mücadelede en önemli amaçlardan birisidir. *Astragalus* uzun zamandan beri AIDS virüsü gibi virüs kökenli hastalıkların tedavisinde, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde kullanılmaktadır. *Astragalus*'un yaşam süresini arttırma potansiyeli, kanser ve AIDS hastalarının tedavisi için bir alternatif olarak görülmektedir.<sup>56-59</sup>

Kimyasal bazı çalışmalar *Astragalus*lardan elde edilen saponinlerin, enfeksiyon giderici, sakinleştirici, ağrı kesici, idrar söktürücü ve tansiyon düşürücü gibi bazı biyolojik aktivitelerinin varlığını ortaya koymuştur.<sup>60,61</sup> *Astragalus*'un radikal söndürücü ve antioksidan özellikler gösterdiği de saptanmıştır.<sup>62-67</sup>

Bu çalışmada antioksidan özellik gösterdiği bilinen *Astragalus* cinsinin *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias* taksonlarının gövde ve kök kısımları farklı polariteye sahip çözücüler kullanılarak özütlendi. Elde edilen özütlerinin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi için, total fenolik ve total flavonoid miktar tayini ile DPPH radikalini söndürme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, indirgeme gücü ve hidroksi radikali söndürme aktiviteleri test edildi. Disk difüzyon yöntemi yardımıyla bu özütlerin antimikrobiyal aktiviteleri araştırıldı.

## 1.1. KAYNAKLAR

1. Barış, D.; Kızıl, M.; Çeken, B.; Yavuz, M.; Aytakin, Ç. Bazı *Hypericum* Türlerinin *in-vitro* Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması, *XIX. Ulusal Kimya Kongresi*, Kuşadası **2005**.
2. [http://www.tarim.gov.tr/uretim/Bitkisel\\_uretim,Aromatik\\_Tibbi\\_Bitkiler.html](http://www.tarim.gov.tr/uretim/Bitkisel_uretim,Aromatik_Tibbi_Bitkiler.html). (15.06.2009)
3. İlçim, A.; Dığrak, M.; Bağcı, E. Bazı Bitki Özütlerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması, *Turkish Journal of Biology*, **1988**, 22, 119-125
4. Solecki, R.S. *Shanidar, The humanity of Neanderthal Man* 176, London.**1972**.
5. Baytop, T. *Türkiye’de Bitkilerle Tedavi*. Nobel Tıp Kitabevleri. **1999**.
6. Wink, M. *Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology*, CRP Pres. **1999**.
7. Linda, E.; Graham, Lee.; Wilcox, W.; Işık, K. (ed). *Bitki Biyolojisi*, Palme Yayıncılık, s: 25-28, Mayıs, **2004**.
8. Cook, N.C.; Saman, S. Flavonoids-Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects and Dietary Sources. *Nutritient Biochemistry*, **1996**, 7, 66–76.
9. Haig, R. *Food Chemistry Toxicol*, **1986**, 24, 1031–1036.
10. Gao, J.J.; Igalashi, K.; Nukina, M. Radikal Scavenging Activity of Phenylpropanoid Glycosides in *Caryopteris incana*, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. **1999**, 63, (6), 983–988.

11. Semiz, K.D.; Sarıkürkçü, C.; Yıldız, D. Asma ve Dut Yapraklarının Etanol Özütlelerinin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi, *XIX. Ulusal Kimya Kongresi*, Kuşadası. **2005**.
12. Halliwell, B.; Gutteridge, J.M.C. Free Radical in Biology and Medicine, 3<sup>rd</sup> Edition. *Oxford University Press*, Chapter 3, London. **1998**.
13. Cerutti, A.A. Oxidant Stres and Carcinogenesis. *European Journal and Clinical Investigation*, **1991**, *21*, 1-11.
14. Harman, D. Free Radical Theory of Aging, Increase the Functional Life Span. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1994**, *717*, 1-15.
15. Ames, B. Micronutrients Prevent Cancer and Delay Aging. *Toxicology Letters*, **1998**, *102*, 5-18.
16. Finkel, T.; Holbrook, N.J. Oxidant, Oxidative Stres and Biology of Ageing. *Nature*, **2000**, *408*, 239-247.
17. Larson, R.A. The Antioxidants of Higher Plants, *Phytochemistry* **1998**, *4*, 969-978.
18. Hertog, M.G.L.; Holman, P.C.H.; Katan, M.B. Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of 28 Vegetables and 9 Fruits Commonly Consumed in the Netherlands, *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **1992**, *40*, 2379-2383.
19. Cao, G.; Sofic, E.; Prior, R.L. Antioxidant Capacity of Tea and Common Vegetables. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **1996**, *44*, 3426-3431.

20. Kivits, G.A.A.; Vam der Sman, F.J.P.; Tijburg, L.B.M. Analysis of Catechin from Green and Black Tea in Humans: A specific and Sensitive Colorimetric Assay of Total Catechins in Biological Fluids, *International Journal of Food Science Nutrient*, **1997**, 48, 387-392.
21. Ren, W.; Qiao, Z.; Wang, H.; Zhu, L.; Zhang, L. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research Reviews*, **2003**, 23, (4), 519–534.
22. Shaidi, F.; Naczk, M. *Antioxidant Properties of Food Phenolics. In Food Phenolics Sources, Chemistry, Effects, Applications*, Technomic Publishing Co., Inc., 235-277, Lancerster, USA, **1995**.
23. Westwood, C. *Aromathrerapy* 3<sup>rd</sup> Edition. Amberwood Publishing; pp: 7–10, Guilford, England,.**1991**.
24. Dziezak, J.D. Preservative System in Food, Antioxidatives and Antimicrobial Agents. *Food Technology*, **1986**, 40, 94–131.
25. Duffy, C.F.; Power, F.R. Antioxidant and Antimicrobial Properties of some Chinese Plant Extracts *International Journal of Antimicrobial Agents*, **2007**, 17, 527–529.
26. Mukhtar, M.; Arshad, M.; Ahmad, M.; Pomerentz, J.R.; Wighald, B.; Perveen, Z. Antiviral Potential of Medicinal Plants, *Virus Research* **2008**, 131, 111-120.
27. Davis, P.H.; Mill, R.; Tan, K. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 10, 276–613, Universty Pres, Edinburg. **1988**.
28. *Türkiye Taksonomik Tür Veri Tabanı (TÜBİVES)* ISS-1305-4236. (15.05.2008)

29. Ekici, M.; Aytaç, Z.; Pınar, M.; Açık, L.; Akan, H. Türkiye'nin *Astragalus* L. Cinsine Ait *Onobrychium* Boiss. Seksiyonunun Revizyonu, TÜBİTAK Projesi, TBAG-1959. **2005**.
30. Barneby, 'A Short History of the Genus', pl-8. **1964**.
31. Miura, E. *The Art of Marble Paper; Marbled Patterns and, How to Make Them*, London, Zaehnsdorf. **1990**.
32. Wolfe, R. *Marble Papers: It's History, Techniques, and Patterns*. Philadelphia: Pennsylvania P. **1990**.
33. Lumpkin, T.A.; Konovsky, J.C.; Larson, K.J.; McClary, D.C. *Potential New Specialty Crops from Asia: Azuki Bean, Edemame Soybean, and Astragalus*. p. 45-51. In: Janick, J.; Simon, J.E. (eds.), *New Crops*. Wiley, New York. **1993**.
34. Pistelli, L.; Bertoli, A.; Lepori, E.; Morelli, I.; Panizzi, L. Antimicrobial and Antifungal Activity of Crude Extracts and Isolated Saponins from *Astragalus verrucosus*, *Fitoterapia*, **2002**, 73, 336-339.
35. Chang, H.; But, P. *Pharmacology and Applications of Chinese Material Medical*. World Scientific Publishing Company, p. 1041, Singapore, **1987**.
36. Cui, R.; He, J.C.; Wang, B.; Zhang, F.; Chen, G.Y.; Yin, S.; Shen, H. Suppressive Effect of *Astragalus membranaceus* Bunge on Chemical Hepatocarcinogenesis in Rats. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **2003**, 51, 75-80.
37. Sinclair, S. Chinese Herbs: A Clinical Review of *Astragalus*, *Ligusticum*, and *Schizandrae*, *Alternative Medicine Review*, **1998**, 3, 338-344.

38. Zee-Cheng, R.K. Shi-quan-da-bu-tang (ten significant tonic decoction), SQT. A Potent Chinese Biological Response Modifier in Cancer Immunotherapy, Potentiation and Detoxification of Cancer Drugs. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, **1992**, *14*, 725–736.
39. Shao, B.M.; Xu, W.; Dai, H.; Yu, P.; Li, Z.; Gao, X.M. A Study on the Immune Receptors for Polysaccharides from the Roots of *Astragalus membranaceus*, a Chinese Medicinal Herb. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, **2004**, *320*, 1103–1111.
40. McKenna, D.J.; Hughes, K.; Jones, K. *Astragalus*, *International Journal of Integrated Medicine*, **2002**, *4*, 40–46.
41. He, Z.Q.; Findlay, J.A. Constituents of *Astragalus membranaceus*. *Journal of Natural Product*, **1991**, *54*, 810–815.
42. Lin, LZ.; He, X.G.; Lindenmaier, M. Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry Study of the Flavonoids of the Roots of *A. mongholicus* and *A. Membranaceus*. *Journal of Chromatografi A*, **2000**, *876*, 87–95.
43. Elizabeth, AH.; Simits, P.; LeDuc, L.D. Phytoremediation of Selenium Using Transgenic Plants, *Current Opinion in Biotechnology*, **2009**, *20*, 1–6.
44. Yu, H.D.; Bao, M.Y.; An, J.L.; Yang, M. Protection of PC 12 Cells Against Superoxide-Induced Damage by Isoflavonoids from *Astragalus mongholicus* *Biomedical and Environmental Sciences*, **2009**, *22*, 50–54.
45. Toshkova, R.A.; Krasteva, I.N.; Nikolov, S.D. Immunorestitution and Augmentation of Mitogen Lymphocyte Response in Graft Tumor Bearing



- Hamsters by Purified Saponin Mixture from *Astragalus corniculatus*, *Alternative and Complementary Medicine and Chronic Kidney Disease*, **2008**, 22, 32–39.
- 46.** Boskabady, M.H.H.; Rakhshandah, H.; Afiat, M.; Aelami, Z. Antitussive Effect of *Astragalus gummifer* in Guinea Pigs, *Pharmacologyonline*, **2006**, 3, 80–89.
- 47.** Geng C.S. Advances in Immunopharmacological Studies on *Astragalus membranaceus*. *Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, **1986**, 6, (1), 62–64.
- 48.** Chen, L.X.; Liao, J.X.; Guo, W.Q. Effect of *Astragalus membranaceus* on Left Ventricular Function and Oxygen Free Radical in Acute Myocardial Infarction Patients and Mechanism of its Cardiotonic Action. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Hsi Tsa Chih*, **1995**, 15,(3), 141–143.
- 49.** Lei, Z.Y.; Qin, H.; Liao, J.Z. Action of *Astragalus membranaceus* on Left Ventricular Function of Angina Pectoris, *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Hsi Tsa Chih*, **1994**, 14,(4), 195, 199–202.
- 50.** Tan, Y.; Lv, Z.P.; Bai, X.C.; Liu, X.Y.; Zhang, X.F. Traditional Chinese Medicine Bao Gan Ning Increase Phosphorylation of CREB in Liver Fibrosis *in vivo* and *in vitro*, *Journal of Ethnopharmacology*, **2006**, 105, 1-2, 21, 69–75.
- 51.** Gui, S.Y.; Wei, W.; Wang, H.; Wu, L.; Yi-Sun, W.; Chen W.b.; Wu, C. Effects and Mechanisms of Crude Astragalosides Fraction on Liver Fibrosis in Rats, *Journal of Ethnopharmacology*, **2006**, 103,(2), 16, 154–159.

52. Kurashiage, S.; Akuzwa, Y.; Endo, F. Effects of Astragali radix Extract on Carcinogenesis, Cytokine Production, and Cytotoxicity in Mice Treated with a Carcinogen, N-butyl-N-butanolnitrosamine, *Cancer Investigation*, **1999**, *17*, 1, 30–35.
53. Wei, H.; Sun, R.; Xiao, W. Tradational Chinese Medicine *Astragalus* Reverses Predominance of th2 Cytokines and their Up-Stream Transcript Factors in Lung Cancer Patients, *Oncology Report*, **2003**, *10*, (5), 1507–1512.
54. Bedir, E.; Pugh, B.; Calis, I.; Pasco, D.S.; Khan, I.A. Immunostimulatory Effects of Cycloartane-Type Triterpene Glycosides from *Astragalus* Species, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2000**, *23*, 834–837.
55. Jiao, Y.; Wen, J.; Yu, X. Influence of Flavonoid of *Astragalus membranaceus*'s Stem and Leave on the Function of Cell Mediated Immunity in Mice, *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, **1999**, *193*, 56–58.
56. Hou, Y. Effect of Radix Astragali Seu Hedysari on the Interferon System, *Chinise Medicine Journal*, **1981**, *94*, (1), 35–40.
57. Sun, Y. Preliminary Observations on the Effects of the Chinise Medicinal Herbs *Astragalus membranaceus* and *Liqustrum ligidum* on Lymphocyte Blastogenic Response, *Journal of Biological. Response Modifiers*, **1983**, *2*, (3), 227–237.
58. Wong, D.C. Influence of *Astragalus membanaceous* Polysaccharide FB on Immunologic Function of Periphery Blood Lymphocyte, *Chung Hua Chng Liu Tsa Chih*, **1989**, *11*,(3), 180–183.

59. Liu, G.G.; Borjihan, G.; Baigude, H. Synthesis and anti-HIV activity of sulfated *Astragalus* polysaccharide, *Polymers For Advanced Technologies*, **2003**, *14*, (7), 471–476.
60. Isaev, M.I.; Gorovits, M.B.; Abubakirov, N.K. Progress in the chemistry of thecycloartanes, *Khim. Prir. Soedin*, 1989, *25*, 131–147.
61. Çalış, I.; Yürüker, A.; Taşdemir, D.; Wright, A.D.; Sticher, O.; Luo, Y.D.; Pezzuto, J.M. Cycloartane Triterpene Glycosides from the Roots of *Astragalus melanophrurius*, *Planta Med.* **1997**, *63*, 183–186.
62. Godevac, D.; Zdunic, G.; Savikin, K.; Vajs, V.; Mencovic, N. Antioxidant Activity of Nine Fabaceae Species Growing in Serbia and Montenegro. *Fitoterapia*, **2008**, *79*, 185–187.
63. Wong, C.C.; Li, B.H.; Cheng, W.K.; Chen, F. A Systematic Survey of Antioxidant Activity of 30 Chinese Medicinal Plants Using the Ferric Reducing Antioxidant Power Assay, *Food Chemistry*, **2006**, *97*, 705–717.
64. Adıgüzel, A.; Sökmen M.; Özkan, H.; Açar, G.; Güllüce, M.; Şahin, F. 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*, **2009**, *33*, 65-71.
65. Borneo, R.; Leon, A.E.; Aguirre, A.; Ribotta, P.; Cantero, J.J. Antioxidant Capacity of Medicinal Plants from Province Cordoba (Argentina) and their in vitro Testing in a Model Food System, *Food Chemistry*, **2009**, *112*, 664-670.
66. Tahawa, K.; Alali, Q.F.; Gharaibeh, M.; Mohammad, M.; El-Elimat, T. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Selected Jordanian Plant Species, *Food Chemistry*, **2007**, *104*, 1372-1378.

67. Cai, Y.; Luo, Q.; Sun, Mei.; Corke, H. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated with Anticancer, *Life Science*, **2004**, *74*, 2157-2184.

## **2. KAYNAK ARAŞTIRMASI**

### **2.1. TIBBİ BİTKİLER**

Dünya üzerinde 750.000–1.000.000 arasında bitki türünün bulunduğu tahmin edilmektedir. Bunardan 500.000 kadarı tanımlanıp isimlendirilmiştir. Her yıl 2.000 kadar yeni tohumlu bitki türü tanımlanıp isimlendirilmektedir. Tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin sayısı antik çağlardan beri, sürekli bir artış göstermektedir. XIX. asrın başlarında tedavi amacıyla kullanılan bitki sayısının 13.000 civarında olduğu bilinmektedir. Son yıllarda tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar bu bitkilere olan ilginin artmasına sebep olmuştur<sup>1</sup>.

Ülkemizde genel yaygınlığı tam olarak bilinmemekle birlikte tedavi amacıyla tıbbi özellikleri bilinen bitkilerin kullanıldığı pek çok geleneksel hekimlik uygulamasının mevcut olduğu bilinmektedir. Bitkisel ürünler genellikle kanser (%2), karaciğer hastalıkları (%21), HIV (%22), astım (%24) ve romatolojik bozuklukları (%26)'da içeren kronik tıbbi durumları olan hastalar tarafından tercih edilmekte ve kullanılmaktadır. Pek çok kişi doğal olan tedavi yöntemlerinin zararsız olduğuna inanmaktadır. Oysaki yakın zamanda ortaya çıkan birçok bilimsel çalışma, obezite gibi sorunlara çözüm yolları arayan hastalara sıklıkla başka zararlar vermek gibi, bitkisel ürünlerin yan etkilerinden kaynaklanan ciddi sonuçlara dikkat çekmiştir. Yan etkiler bitkisel ürünlerin yanlış kullanımına, kontamine olmasına, diğeri bitkiler ve ilaçlarla etkileşimine bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle dikkatli kullanılması gereken ürünlerdir.<sup>2</sup>

### 2.1.1. Tıbbi Bitkilerin Halk Hekimliğinde Genel Kullanım Şekilleri

Bitkisel droglar (bitkisel ilaç hammaddeleri) farklı şekillerde kullanıma hazırlanabilirler. En basit yol drogu toz halinde olduğu gibi almaktır. Bununla birlikte daha kolay alınması ve alınan miktarın saptanması bakımından; hap, infüzyon, dekoksilyon ve merhem şekilleri yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir.

**1. Toz (*pulverens*) :** Bitki parçalarının bir madeni havanda dövülmesi veya bir değirmende çekilmesi ile elde edilir. Toz şeklinde kullanılacak olan en kolay yol, ince tozun yarım bardak kadar su içine dökülmesi ve karıştırıldıktan sonra karışımın içilmesidir.

**2. Hap (*pilulae*) :** İnce toz halindeki drogun bir yardımcı madde (sıvağ) yardımıyla hap haline getirilmesi ile elde edilir. Sıvağ olarak bal, şeker şurubu, nişasta, leblebi unu, Arap zamkı, meyan balı gibi tedavi etkisi bulunmayan maddeler seçilmelidir. Drog tozu uygun sıvağ maddesi ile hamur haline sokulur, bu hamur avuç arasında döndürülerek uygun uzunlukta bir çubuk yapılır, çubuk bir bıçak ile uygun büyüklükte parçalara bölünür ve her bir parça yuvarlanarak hap şekline sokulur. Hapların birbirine yapışmaması için aralarına meyan kökü tozu veya talk tozu konur.

**3. İnfüzyon (*infusa*) :** Drogların ilaç olarak kullanılmasında en çok kullanılan yöntemdir. İnfüzyonu hazırlamak için küçültülmüş bitki parçaları üzerine kaynar su dökülür ve karışım kapalı bir kaptaki sık sık karıştırılarak çok hafif ateş üzerinde 5 dak. tutulur, soğuduktan sonra ince bir tülbentten süzülür. Kullanılacak drog miktarı genellikle 100 gr su için 2 gr'dır. Miktarlar (%2), (%5) ve (%10) şeklinde gösterilir. İnfüzyonlar her defasında taze olarak hazırlanır. Tatlandırıcı olarak içlerine bir miktar bal veya şeker konulabilir.

**4. Dekoksiyon (*decocta*) :** Dekoksiyon hazırlamak için ufalanmış bitki kısımları üzerine yeterli miktarda soğuk su konur ve hafif ateş üzerinde, sık sık karıştırılarak yarım saat ısıtılır ve sıcakken ince bir tülbent ile süzülür. Kullanılacak drog miktarı genellikle 100 gr su için 2 gr'dır. Farklı bitki ve bitki parçaları için değişik dekoksiyon ve infusyon yöntemleri kullanılmaktadır.

**a- Çiçek, ince yaprak veya uçucu yağ taşıyan droglar:** Kaba toz haline getirilmiş bir çay kaşığı drog bir su bardağı içine konur ve üzerine kaynar su doldurulur. Üzeri kapatılır ve 5 dak. dinlenmeye bırakılır. Bu süre sonunda pamuk yardımıyla süzülür.

**b- Kaba yaprak veya yumuşak meyveler:** Bir çay kaşığı drog, bir bardak su ile bir cezve içinde, 1–2 dak. kaynatılır, 5 dak. dinlendirilir ve sonra pamuk yardımıyla süzülür.

**c- Kök, kabuk, sert meyve ve tohum drogları:** Bir çay kaşığı, kaba toz edilmiş drog, bir bardak su ile bir cezve içerisinde 3–5 dak. kaynatılır, 5 dak. dinlenmeye bırakılır ve sonunda pamuktan süzülür.

**5. Merhem (*unguenta*):** Katıyağ, sıvı yağ (zeytinyağı, badem yağı), lanolin ve vazelin gibi sıvı yağlar ile yapılan ve haricen kullanılan ilaç şekilleridir. Merhem hazırlamak için, merhem içine konulacak madde veya maddeler önce havanda iyice toz edilir. Sonra az bir miktar sıvı yağ ile ezilir ve sonra sıvağ maddesi (genellikle eşit miktarda lanolin ve vazelin karışımı) azar azar etkili madde üzerine ilave edilir ve havanda iyice karıştırılır. Merhemler kapalı kaplarda ve serin yerlerde saklanır.<sup>3</sup>

### 2.1.2. Bitkilerin Tedavideki Yeri

Bilimsel, teknolojik ve toplumsal gelişim süreçleri ve buna bağlı olarak sağlık ve hastalık kavramının tarihsel gelişimi sırasıyla mistik, polifarmasi, etiyolojik tedavi geleneksel ve çağdaş hekimlik uygulamalarının ortaya çıkarmasına sebep olmuştur. Halen günümüzde hekimlik uygulamalarının tarihsel gelişim süreçlerinin ilk dönemlerine ait izlere çok sık rastlanmaktadır. Özellikle alternatif tıp, (doğal veya geleneksel tıp) ve uygulamaları bu gelişimsel dönemin pek çok farklı aşamalarının günümüz toplumlarına taşınmasına sebep olmuştur.<sup>4</sup>

Günümüzde kronik hastalıkların, başlıca hastalık ve ölüm nedeni olması ve bu hastalıkların doğal seyri, pek çoğunda bilinen korunma ve tanı tedavi yollarında tam başarı sağlanamaması gibi nedenlerle hem hastaların hem de sağlık konusunda bilimsel çalışma yapanların zaman zaman değişik arayışlara girmelerine sebep olmuştur. Bununla birlikte sağlık hizmetlerine ulaşmadaki güçlükler de bu tür arayışları artırmaktadır. Tüm bu nedenlerle, bu arayışların başında yer alan alternatif tıp uygulamalarından birisi olan “fitoterapi” bitkilerle tedavi konusu yapılan birçok bilimsel çalışmanın temel konularından bir haline gelmiştir. Çok çeşitli terimlerle tanımlanan alternatif tıp (tamamlayıcı, bütünleyici ve geleneksel olmayan) geleneksel tıpta yer almayan tedavi uygulamalarını içerir.

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. San Francisco, Londra ve Güney Afrika’da özellikle HIV/AIDS’li insanların %75’i geleneksel /alternatif tıbbı kullandığı bildirilmiştir.<sup>5</sup> Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde



tıbbi uygulamaların büyük çoğunluğunun geleneksel olmasına karşın, tüm dünyada sağlık hizmetlerinin yaklaşık %70 ya da %90'ı alternatif gelenekler ve uygulamalarla sağlanmaktadır.<sup>6</sup>

Bitkileri kullanarak hastaları tedavi etme yaklaşımı olarak açıklanabilen “fitoterapi” teriminin ilk kez 1870–1953 yılların arasında yaşamış Fransız hekimi Henri Len tarafından La Presse Medical adlı dergide kullanıldığı iddia edilmiştir. Oysa bu tarihten çok önceleri bitkilerin sağlığı korumak ya da geri kazanmak için tarihin her döneminde, her toplum tarafından kullanıldığını görmekteyiz. Bu konuda ilk yazılı belge olan M.Ö. 3.000 yıllarına ait Ninova tabletleri, Mezopotamya’da kurulan Sümer, Akat, Asur medeniyetlerinde bitkisel ve hayvansal ilaçlarla tedavilerin mevcut olduğunu kanıtlamaktadır. M.Ö. 2.500 yıllarında Çin tıbbıyla paralel bir gelişme içinde olan Hint tıbbının önemli temsilcilerinden Rig Veda, eserlerinde bine yakın şifalı bitkiden bahsetmiştir. Yunan tıbbının önemli adlarından Eskulap ve modern tıbbın temeli olarak kabul edilen Hipokrat kitaplarında 400’e yakın bitkisel ürünü anlatmıştır. İslam uygarlığı döneminde, yirmiye yakın şifalı bitkiden bahseden bir kopyası Orhan Gazi kütüphanesi’nde bulunan Kitab-al Saydalafi al Tıp adlı kitabın yazarı Ebu Reyhan, 1650’li yıllara kadar referans kitap olarak kabul edilen 800 hayvansal ve bitkisel tedaviden bahseden “Tıp Kanunu” adlı eseri yazan İbn-i Sina ve Al Gafini bitkisel tıp konusunda önemli eserlere imza atmışlardır.

Günümüzde fitoterapi, XIX. ve XX. yüzyıllarda kimya ve biyokimya bilimlerindeki gelişmeler ilaç sanayisine büyük bir ivme kazandırmış, bu sayede etkinlik, zararsızlık ve kalite prensipleri benimsenerek analitik, toksikolojik, farmakolojik ve klinik çalışmalar sonucu, laboratuvarlarda tıbbın gereksinimlerine

yanıt veren pek çok ilaç geliştirilmiştir. Mevcut ilaçların 1/4'ü bitkisel kökenlidir ve bunların birçoğunda bitkiden elde edilmek istenen etken madde, laboratuvar ortamında kopya edilmektedir.

Son yıllarda sentetik ilaçlarla meydana gelebilen ciddi yan etkilerin yol açtığı medikal ve ekonomik sorunlar, “yaratıcıları” arasında uluslararası ilaç sanayiinin de yer aldığı, endüstrileşmiş ülkelerdeki çevre kirliliğinin güçlendirdiği ekolojik yaklaşımlar ve hareketler, küratif tedavileri henüz mümkün olmayan bir çok kronik hastalığın oluşturduğu tehdit ve doğallığın her zaman etkili ve yan etkiden arınmış olduğu düşüncesi gibi bir çok etmene bağlı olarak bitkisel tedavi yeniden popüler duruma gelmiştir. 1997 yılında ABD’nde bitkisel ilaçların satışının bir önceki yıla göre %59’luk bir artış göstermiş olması, hastaların %3-5’lik bir bölümünün temel tedavi olarak yalnızca bitkisel tedavi alıyor olması, bu tedaviler için yalnız Amerika’da yılda 3.24 milyar dolar, İngiltere’de 40 milyon sterlin harcanması, Dünya Sağlık Örgütü’nün insanların %80’inin doğal tedaviye inandığını açıklaması bu popüleritenin iyi bir göstergesidir.<sup>7</sup> 1998’de en çok satan yedi bitkisel ilaç ginkgo (mabed ağacı, büyük Amerikan marketlerindeki perakende satış tutarı 150 milyon dolar ki bu bir önceki yıla göre %67 artmış), St John's wort (*Hypericum perforatum*=sarı kantaron, 140 milyon dolar, %190), ginseng (96 milyon dolar, %11), garlic (sarımsak, 84 milyon dolar; %17), echinacea (kirpi otu, 70 milyon dolar, %42), saw palmetto (32 milyon dolar, %74) ve kava (17 milyon dolar, %46) Buna karşın Alman Federal İlaç ve Tıbbi Planlar Enstitüsü ve Amerikan Gıda ve İlaç Yönetimi’nden (FDA) gelen son uyarılarda, karaciğer nakline giden üç olgu ve ölümle sonuçlanan bir olguda kava bitkisi ve karaciğer hasarı arasında ilişki tanımlanmıştır.<sup>8</sup>

Bu noktada temel sorun milyonlarca insanın bitkilere bu kadar rahatça güvenmesidir ve bu güven sonucu bilinçsiz yaygın kullanım, toplum sağlığını tehlikeye atacak pek çok soruna yol açabilir. Bitkisel ürünler doğal oldukları için sıklıkla güvenli olarak algılanır. Doğal olan her zaman güvenli olan demek değildir. Bitkisel tedavi uzmanlarına (herbalistler) göre saflaştırılmamış bitkinin kullanımı, bitkiyi oluşturan maddelerin birbirini etkisizleştirmesi sebebiyle yan etki olasılığını azaltmaktadır. Pek çok bitki yüksek derecede toksiktir ve diğer tamamlayıcı tedavi yöntemleri içinde fitoterapi yan etki ve toksisite yönünden çok daha fazla risk taşır. Bitkilerin potansiyel aktif bileşikler içerir. Farmasötik ilaçların hemen hemen üçte biri bitkilerden elde edilmiştir. Bitkisel ürünlerin kullanımından kaynaklanan çok tehlikeli ve öldürücü yan etkiler rapor edilmiştir. Bu yan etkiler birkaç farklı mekanizmaya bağlı olabilir. Örneğin; bitkinin doğrudan toksik etkileri, alerjik reaksiyonlar, kontaminasyona bağlı etkiler, ilaç ve diğer bitkilerle olan etkileşimler. Bazı çalışmalar mevcut bitkisel ürünlerin içerdikleri çeşitli aktif markerlerin miktarlarına bağlı olarak değiştiklerini göstermiştir. Örneğin, varolan 25 ginseng ürün analizi, biyolojik aktiviteye sahip olduğu sanılan iki madde grubunun ginsenositler ve eleutherositlerin konsantrasyonunun 15'den 200 kata kadar değişkenlik gösterdiğini saptamıştır.<sup>8-10</sup>

Yapılan bir araştırmada, Kuzey Amerika'da bitkilerden zehirlenenlerin sayısının hayvanlar tarafından yaralananlardan daha çok olduğu ortaya konmuştur. Amerika'da Ulusal Kanseri Enstitüsü tarafından, kanserde etkili tedaviyi bulmak için yapılan araştırmalarda son 10 yılda incelenen 53.000 maddenin 37.500'ünün bitki (36.000 tanesi kara, 1500 tanesi deniz bitkisi) olması, 1983–1993 yılları arasında tanımlanan ilaçların %40'nın bitkilerden köken alması ve bunların Amerika'da reçete

edilen ilaçların %50'sini oluşturması, Almanya'da en çok satan reçeteli bitkisel kökenli lisanslı ilacın *Hypericum perforatum* preparatı olması tıp çevrelerinin de, bitkisel şifaya inandıklarını göstermektedir.<sup>7</sup> Çin'de geleneksel bitkisel preparatlar toplam tıbbi tüketimin %30-50'sini oluşturmaktadır.<sup>5</sup> Tüm bu anlatılanlar Dünya genelinde kullanımı bir sektör haline gelen tıbbi bitkilerin, etkilerinin bilimsel yöntemlerle araştırılmasını zorunlu hale getirmektedir.

## 2.2. BİTKİSEL SEKONDER METABOLİTLER

Gıda bitkileri, insanların ve bütün diğer canlıların beslenmesinde gerekli olan primer bileşikler sağladıkları için önemlidir. Bu primer bileşikler arasında karbonhidratlar, lipitler, proteinler, mineraller ve vitaminler bulunmaktadır.

Bitkilerin çoğu, ekonomik açıdan önemli organik kimyasalları (alkoloid, terpen, glikozidler, fenolik bileşikler, nadir aminoasitler ve bitki aminleri gibi) bünyesinde biriktirerek çeşitli bilimsel, ticari ve teknolojik uygulamalara ham madde oluştururlar.<sup>11,12</sup>

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. Doğal bitki ürünleri (fitokimyasallar) çok sayıda endüstride doğrudan ya da dolaylı olarak kullanılır, özellikle yağlar, resinler, taninler, saponinler, doğal plastikler, yapışkanlar, balmumu, boyalar, ilaçların kaynağı halindedir. Günümüzde ilaç endüstrisinde en yaygın olarak kullanılan önemli bitki bileşikler salisin, taksol ve morfindir.<sup>11-14</sup>

Ticari olarak üretilen bitki sekonder metabolitlerinden nikotin, piretrin ve rotenon düşük miktarlarda pestisitlerin bileşimine girmektedir. Steroid ve alkaloidler

genellikle ilaç endüstrisinde kullanılmakta, benzer şekilde steroidal sapogeninlerini, *Digitalis* glikozidlerini, antikanser özellikteki *Catharanthus* alkaloidlerini, *Bellodona* alkaloidlerini (atropin, hyosiyamin ve skopolamin), kokain, kolşisin, *Opium* alkaloidleri (kodein, morfin ve papaverin), fisostigmin, pilokarpin, guinin, guinidin, reserpin ve D-tüboküarini kapsamaktadır. Diğer bitki sekonder metabolitlerinden düşük miktarlarda farmakolojik araştırmalarda, biyokimyasal olaylarda yararlanılmaktadır.<sup>15</sup> Sekonder bileşikler, bitki büyüme ve gelişiminde doğrudan görev almazlar. Bunlar herbivor hayvanlara ve hastalıklara yol açan mikroorganizmalara karşı savunma ajanı olarak görev yaparlar. Bu durum, bitkilerin kendilerini kimyasal olarak savunabilme yeteneklerinin bir sonucudur. Sekonder bileşikler, çiçeklere ve meyvelere renk vererek, çiçek tozu ve tohumların hayvanlar tarafından dağıtılmasını da sağlarlar. Böcek zararlılarının ve hastalığa sebep olan mikroorganizma çeşitliliğinin fazla olduğu tropikal yağmur ormanlarında yetişen bitkiler, savunma ihtiyaçlarının daha az olduğu yerlerde yaşayan bitkilere oranla, daha fazla sekonder kimyasallara sahiptirler. Bu nedenle, ilaç amaçlı yeni tıbbi bitkiler, çoğunlukla tropikal bitkiler arasında aranmaktadır. Dünya nüfusunun %80'ninin, saflaştırılmış eczacılık ürünü ilaçlarla değil, doğrudan doğadan toplanan bitkilerden çıkarılan ilaçlara bağımlı oldukları saptanmıştır.<sup>16</sup>

## **2.3. OKSİDATİF STRES SERBEST RADİKALLER VE ANTIOKSİDANLAR**

### **2.3.1. Oksidatif Stres**

Oksidatif stres serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıdır. Oksidatif stres oluşumu ve hasarı çeşitli ksenobiyotiklerle etkileşim sonrası gözlenir. Dolayısıyla hücrelerde endojen ve eksojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak serbest radikaller oluşur. İyonize ve ultraviyole radyasyona açık kalınması, çeşitli çevresel faktörler ve kimyasalların etkisi altında kalma gibi etmenler serbest radikalleri toksikolojik açıdan önemli kılar.<sup>17-19</sup>

### **2.3.2. Serbest Radikaller**

Serbest radikaller, bir atom ya da molekül yörüngesinde eşlenmemiş elektron içeren yüksek oranda reaktif kimyasal türlerdir. Biyolojik sistemlerde, serbest radikallerin önemli bir kısmı oksijen kaynaklıdır. Oksijen aerobik solunum yapan canlılar için önemli bir elementtir ancak yüksek konsantrasyondaki oksijenin, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar üzerinde şiddetli hasara ve hatta ölüme sebep olduğu bilinmektedir.<sup>20</sup>

Serbest radikaller aerobik hücre metabolizmasının bir ürünü olarak sürekli üretilmektedir. Serbest radikaller antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulurlar ve normal şartlar altında organizma kendini serbest radikallerin yıkıcı etkisinden bu yollarla korumuş olur. Bitkiler yapılarında bulunan; flavonoidler, antosiyaninler, karotenoidler, glutatyonlar, vitaminler, endojen metabolitler ve bunlar gibi güçlü antioksidan aktiviteye sahip birçok doğal ürün sayesinde serbest

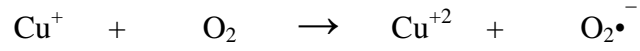
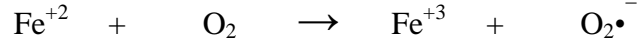
radikallerin yıkıcı etkilerine karşı savunma yapabilirler. Günümüzde, inflamasyon, kanser, yaşlanma, diyabet, AIDS, ilaç etkisi, ilaç toksisitesi ve insanlarda görülen birçok dejeneratif hastalık serbest radikallerin biyomoleküller (lipitler, proteinler ve nükleik asitler)'de meydana getirdikleri oksidatif hasar ile açıklanmaktadır.<sup>21-31</sup> Karaciğerde hasar oluşturan maddelerden biri olan CCl<sub>4</sub>, serbest radikalleri açığa çıkararak etkisini gösterir. Bu serbest radikaller lipid peroksidasyonunu oluşturur ve bunu izleyerek oluşan toksik lipid peroksidasyon ürünleriyle membran hasarı ortaya çıkar.<sup>32,33</sup> Membran hasarı engellenmezse hücre ölümü gerçekleşir.<sup>34</sup>

### **2.3.3. Reaktif Oksijen Türleri**

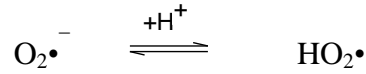
Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidratlar gibi önemli bileşiklerine etki ederek yapılarının bozulmasına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyonu ( $2O_2\cdot^-$ ), hidroksil radikali ( $HO\cdot$ ), nitrik oksit ( $NO\cdot$ ), peroksil radikali ( $ROO\cdot$ ), radikal olmayan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve moleküler oksijen ( $O_2$ ) gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerinden birini oluştururlar.<sup>35</sup> Reaktif oksijen türleri aynı zamanda çeşitli serbest radikallerin olduğu serbest radikal zincir reaksiyonları başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller ( $R\cdot$ ), tiyil radikalleri ( $RS\cdot$ ), sülfenil radikalleri ( $RSO\cdot$ ), tiyil peroksit radikalleri ( $RSO_2\cdot$ ), gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna da sebep olurlar.<sup>36</sup>

### 2.3.3.1. Süperoksit Radikali

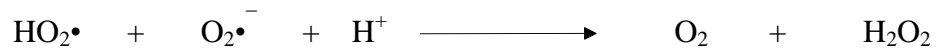
Süperoksit radikali moleküler oksijenin indirgenmesinde ara basamaktır ve oluştuğu yerden fazla uzağa diffüze olamaz. Bu radikalın moleküler düzeyde önemli özelliği, sekonder olarak ürettiği radikallerdir. İndirgenmiş geçiş metallere otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir.<sup>25</sup>



Süperoksit radikalleri ayrıca pek çok oksidaz tarafından da üretilebilir.  $\text{O}_2^{\bullet -}$  genel olarak anyon şeklinde tarif edildiği halde, ortamın pH sına bağlı olarak protonlanarak katyon haline dönüşebilir. Bu durumda perhidroksi radikali ( $\text{HO}_2^{\bullet}$ ) ismini alır.<sup>37-41</sup>



Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte, kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemli olan,  $\text{H}_2\text{O}_2$  kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit, nötrofillerin bakterisidal aktivitesi, apoptozis, inflamasyon ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi yararlı etkilere sahiptir. Azalmış süperoksit düzeyleri, bakteriyel enfeksiyonlara artmış bir yatkınlığa yol açabilir. Artmış süperoksit düzeyleri ise süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ve oksijene dönüştürülerek azaltılır.

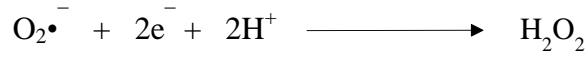
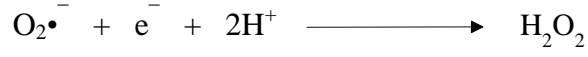


Böylece hücrel peroksit düzeyleri sıkı kontrol altına alınmış olur.<sup>37-41</sup>

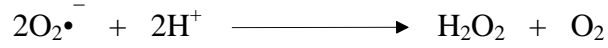


### 2.3.3.2. Hidrojen Peroksit

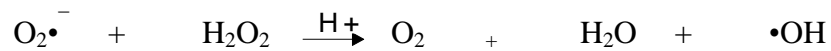
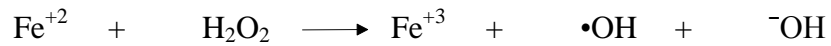
Doğal oksijen molekülü başka bir molekülden iki elektron almışsa peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki H molekülü ile birleşirse  $H_2O_2$  oluşur.<sup>25</sup>



$H_2O_2$  süperoksidin SOD ile dismutasyonu sonucu veya spontan olarakta üretilmektedir.<sup>25</sup>



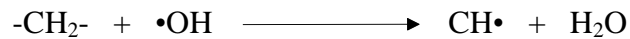
$H_2O_2$  aslında radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan süperoksidin aksine membranları geçen, sitozole diffüze olan ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinir. Bu nedenle süperoksidin ulaşamadığı membranla korunan yapılara kolaylıkla ulaşabilir. Burada süperoksidle reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Hidrojen peroksit başka bir şekilde de serbest  $Fe^{+2}$  ile reaksiyona girerse demir okside olurken hidroksil radikali oluşur.<sup>37-41</sup>



Bu da dokularda hipoksiye ve damar duvarında endotel hasarına yol açabilen vazodilatasyon kaybına neden olur. Bu reaktif oksijen türü de bakterilere karşı lökosit savunmasının diğer bir unsurudur.<sup>42,43</sup>

### 2.3.3.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil, bilinen en reaktif radikaldır, yarılanma ömrü çok kısadır. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler, ve şekerler gibi biyokimyasal maddelerin bir çoğuyla reaksiyona girebilir. Hidroksil radikali (HO•), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Gamma radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS•), karbon merkezli organik radikaller (R•), organik peroksitler (RCOO•) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur.<sup>25,37,39,40,43</sup>



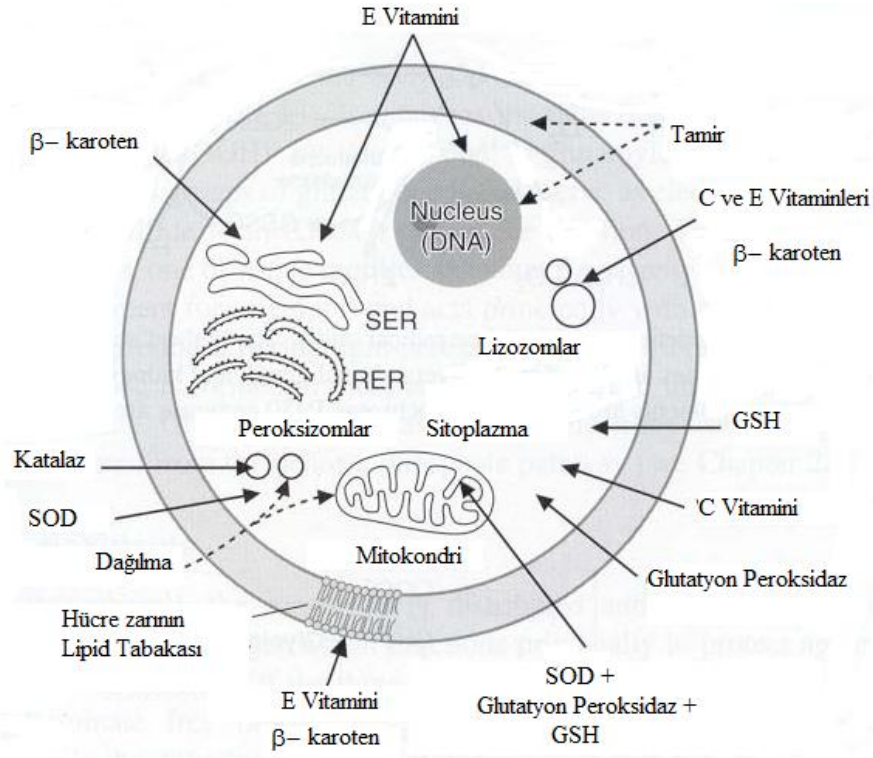
### 2.3.3.4. Nitrik Oksit Radikali

NO, nitrik oksit sentaz (NOS) olarak bilinen sitozolik bir enzimin aktivitesi ile oluşur. Vasküler tonun regülasyonunda guanilat siklazı aktive eden NO major rol oynar. Oksijen bağlanan bölgeye kompetitif bağlanarak direkt olarak sitokrom oksidazın inhibisyonu ile hücre solunumu düzenler. NO bazı durumlarda bir

antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Bununla birlikte süperoksit düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur.<sup>37,44</sup>.

### 2.3.4. Serbest Radikallere Karşı Hüresel Savunma (Antioksidan Savunma Sistemleri)

ROS'ların oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bazı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar "antioksidan savunma sistemleri" olarak bilinirler (Şekil 2.3.4.1).



Şekil 2.3.4.1. Antioksidan Savunma Sistemleri

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. Bu enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir.

### **2.3.4.1. Antioksidan Enzimler**

Oksidatif bileşikleri tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürmektedirler.

#### **2.3.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)**

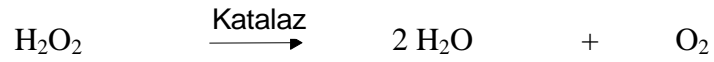
Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968'de keşfedilmiştir. 3 tür SOD vardır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-Zn SOD ve üçüncüsü de Cu içeren ve plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD'dir.<sup>39,41,46,47</sup>



Bu dismutasyon reaksiyonu süperoksit radikalinin anyon ve kation formlarının eşit oranda bulunduğu pH 4.8 de kendiliğinden de cereyan eder. Ancak fizyolojik şartlarda yani pH'nın 7.35- 7.45 arasında iken bu reaksiyon çok daha yavaş oluşacaktır. SOD enzimi varlığında pH en az 7.4 olduğu koşullarda bu reaksiyon 4 kat daha hızlı olacaktır.<sup>39</sup>

### 2.3.4.1.2. Katalaz (CAT)

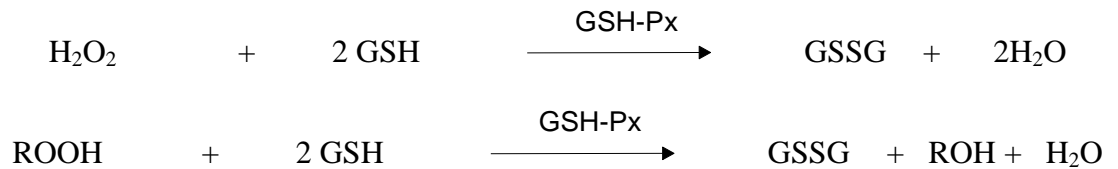
Sumer ve Dounce tarafından 1937'de kristalize halde saflaştırıldı. Her biri bir prostetik grup olan ve yapısında  $\text{Fe}^{+3}$  bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalizedir. SOD'ın oluşturduğu  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'i katalaz peroksidazlarla beraber oksijen ve suya parçalar.



Glutasyon peroksidazın  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'e karşı  $K_m$ 'i katalaza göre daha düşüktür. Yani düşük konsantrasyonlarda  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'i glutasyon peroksidaz parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise katalaz aktivite kazanır. Katalaz aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğundur.<sup>39,41,46-49</sup>

### 2.3.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Her birinde selenosistein içeren 4 alt birimden oluşur. Redükte glutasyonu yükseltgerken  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'i de suya çevirir ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur.<sup>50</sup>



E vitamini yetersiz olursa membranı peroksidasyona karşı korur. Eritrositlerde en kuvvetli antioksidandır. Glutasyon peroksidaz yetersizliği selenyum eksikliği sonucu olabilir. Çünkü selenyum bu enzimin bir integral parçasıdır.<sup>41,51,52</sup> Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler.<sup>42</sup>

#### **2.3.4.1.4. Glutasyon Redüktaz**

Yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş hale çeviren 2 alt birimden oluşmuş bir dimerdir. Her bir alt ünite üç yapısal alan içerir. Bunlar NADPH, FAD bağlayan alan ve ara yüz alanıdır. Okside glutasyonun bir alt birimin FAD alanı ve diğer alt birimin ara yüz alanından oluşan bir bağlanma bölgesi vardır. Glutasyonun indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH'dan FAD'ye transfer edilir. Daha sonra alt birimlerdeki iki sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilerek okside glutatona aktarılmış olur.<sup>39</sup>

#### **2.3.4.1.5. Glutasyon-S-Transferazlar (GST)**

Glutasyon-S-transferazlar (GST), EC 2.5.1.18 kodlu ve her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim ailesidir. GST başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.<sup>53</sup>



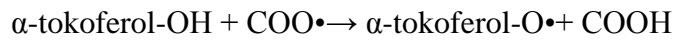
Glutatyon-S-transferazlar (GST) katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Toksik metabolitlerle glutatyonun konjugasyonunu katalizleyen GST enzimi de toksik metabolitlerin detoksifikasyonuna yol açan başka bir antioksidan enzimdir<sup>54</sup>

GST'lar, karaciğerde sitokrom P450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizlerler. Serum GST konsantrasyon tayininin aminotransferazlardan (AST ve ALT) daha duyarlı bir hepatosellüler hasar indeksi sağladığı gösterilmiştir.<sup>53</sup>

### **2.3.4.2. Antioksidan Vitaminler**

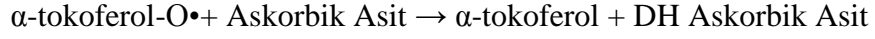
#### **2.3.4.2.1. E Vitamini ( $\alpha$ -tokoferol)**

İlk olarak Evans tarafından 1938 yılında bulunmuştur. Yağda çözünen vitamin olduğu için hem sellüler hem de subsellüler membranlarda ve lipoproteinlerde bulunur. Membranlarda oksijen radikallerinin ana temizleyicisidir. En aktif formu  $\alpha$ -tokoferoldür. Zincir kırıcı antioksidan olarak fonksiyon görür. Hidrofobik kısmına hidrojenini kolaylıkla verebilen –OH grubu bağlıdır. Bu yüzden lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri yağ asidi yerine  $\alpha$ -tokoferolle birleşerek reaksiyon zinciri kırılmış olur.<sup>51,52,54,55</sup>



Böylece  $\alpha$ -tokoferol yeni bir radikal olan  $\alpha$ -tokoferol-O'ye dönüştürülmüş olur. Bu radikalın ise başka bir yağ asidiyle birleşebilme aktivitesi düşüktür. Sonuçta

zincir reaksiyonunu durdurur. Oluşan bu tokoferoksil radikali membran yüzeyinde askorbik asitle (C vitamini) reaksiyona girerek tekrar tokoferole dönüşmektedir.



$\alpha$ -tokoferol ve C vitamininin organizmada düşük düzeylerde olması miyokard enfarktüsü ve bazı kanserlerin artmış insidansı ile ilişkilidir.<sup>51,52,54,55</sup>

Diyabetli ratlara vitamin E ve C karışımının verilmesinin lipid peroksidasyonunu azalttığı bilinmektedir.<sup>56</sup>

Tip 2 diyabetli hastalara 1 ay boyunca 800 IU/gün E vitamini verilmesinin; Bütün lipitleri ve fraksiyonlarını, açlık kan glukozunu ve fruktozamin düzeylerini, TBARS düzeylerini azalttığını, insülin ve C peptid düzeylerini, glutatyon peroksidaz ve SOD aktivitelerini artırdığını, kısacası tip 2 diyabetten korunmada ve tedavisinde E vitamini yararlı etkiler sağlamaktadır.<sup>57</sup>

#### **2.3.4.2.2. A Vitamini**

A Vitaminleri özellikle görme, üreme, büyüme ve epitel dokusunun sağlamlığı bakımından gerekli olan bir grup bileşiktir. Besin yoluyla alınan retinolün oksidasyonu sonucu oluşan retinoik asit, retinoidlerin görme dışında diğer etkilerinin çoğuna aracılık eder.  $\alpha$ -tokoferole göre oldukça zayıf bir antioksidandır. İnsan LDL'sinde  $\alpha$ -tokoferol'ün 1/20'si oranında bulunur ve  $\alpha$ -tokoferol bittikten sonra kullanılır.<sup>39</sup>



### 2.3.4.2.3. C Vitamini (Askorbik Asit)

Askorbik asit; moleküler oksijen, nitrat, sitokrom a ve c gibi bileşiklerin indirgenmesine neden olan ve sulu ortamlarda serbest radikallerle reaksiyona girebilme kabiliyetinde olan suda eriyen bir vitamindir. Plazmada oksidan ajanlara karşı ilk antioksidan savunma hattını oluşturur. LDL kolesterolün oksidasyonunu önleyerek ateroskleroza karşı korunmada yardımcı olur. Organizmada kollojen sentezinde, tirozin yıkımında, epinefrin sentezinde, safra oluşumunda ve pek çok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak rol alır. Süperoksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girip onları temizleyen bir antioksidan olmasının yanı sıra tokoferoksil radikalinin tekrar tokoferole dönüşmesini sağlar. Bu esnada kendisi de dehidroaskorbata okside olur. C vitamini yetersizliği durumlarında oluşan tokoferoksil radikalleri tokoferole dönüşmesi için GSH ile reaksiyona girecek ve böylece hücredeki GSH miktarını azaltacaktır. Yine plazma C vitamini düşük (0.2 mmol/L'den düşük) olduğu zaman oksidan etki de gösterebilir. Süperoksit dışında  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeyebilir. Bu şekilde demir Fenton reaksiyonuna girmeye uygun hale getirilmiş olur. Böylece plazma düzeyleri düşük olduğu zaman süperoksit üretimine katkıda bulunur.<sup>39,51,54</sup>

## 2.4. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bazı tıbbi özellikleri bilinen bitkilerin insanlar tarafından uzun süredir hastalıkların tedavisi amacıyla dumanlarının içildiği bilinmektedir. Mohagheghzadeh ve ark. (2006) İran'da Anzarut adıyla bilinen *A. fasciculifolius* bitkisinin kök kısmından elde edilen reçinenin dumanını kulağa uygulayarak kulak hastalıklarının tedavisinde kullanıldığını rapor etmişlerdir.<sup>58</sup>

Jigou ve ark. (2008) Mevsimsel olarak ilkbahar ve sonbahar aylarında sıkça görülen alerjik rinit hastalığının tedavisinde içerisinde *A. mongolicus* köklerinin ve geleneksel Çin tıbbın'da kullanılan bazı bitkilerle hazırlanan preparatların çok iyi sonuçlar verdiğini rapor etmişlerdir.<sup>59</sup>

Mukhtar ve ark. (2008) *A. membranaceus* Bunge türünün AIDS hastalığına karşı kemik iliği aktivitesini artırarak antiviral özellik gösterdiğini ve geleneksel Çin tıbbını uygulayan kişilerce bu etkisi sebebiyle kullanılan ilk bitki olduğunu bildirmişlerdir.<sup>60</sup>

Said ve ark. (2002) bazı tıbbi bitkilerin halk arasındaki kullanımı ile ilgili yapmış oldukları çalışmada, *A. macrocarpus* bitkisinin meyvelerinden dekoksion metoduyla hazırlanan preparatlarının düzenli kullanıldığında, erkeklerde cinsel gücü arttırıcı özelliklerinin bulunduğunu rapor etmişlerdir.<sup>61</sup>

Rui ve ark. (2008) yapmış oldukları bir çalışmada Doğu tıbbında, bağışıklık sistemini güçlendirici ve dolaşımı düzenleyici etkilerinden dolayı yaygın bir kullanıma sahip olan *A. membranaceus* köklerinden elde edilen özütlerin MKP-1 proteinlerinin aktivasyonunu sağladığını ve bu etkisiyle aynı zamanda iltihap giderici bir potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir.<sup>62</sup>

Cho ve ark. (2009) Miyelofil adı verilen ve *A. membranaceus* ile *Salvia miltiorrhiza* köklerinin eşit oranlarda ekstraksiyonu sonucu su ile elde edilen karışımın kronik yorgunluk üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışmada dört hafta boyunca günde üç gram olacak şekilde miyelofil uygulanan denekler izlenmiş ve kronik yorgunluğun şiddetinde belirgin bir azalma saptanmıştır.<sup>63</sup>

Zhao ve ark. (2008) Asya ülkelerinde geleneksel tıpta yaygın bir kullanıma sahip *A. membranaceus* köklerinden elde edilen özütlerin otoimmün bir reaksiyon sonucu gelişen akut kalp kası hastalığında deneysel bir model geliştirerek, kalp kası hücrelerinde gözlemlenen bozulmalara, kalbin yenilenmesi ve morfolojik başkalaşım göstermesi üzerine olan etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. Otoümmün miyokardit'te *Astragalus* köklerinden elde edilen özütlerin deney farelerinde damar içine, üç hafta boyunca (0.2 ml/100 g vücut ağırlığı, günlük) verilmesi sonucunda elde edilen bulgulardan biri lenfosit üretimini arttırırken aynı zamanda Th2 sitokinlerinin (IL-4 ve IL-10) seviyesini artırdığını bunlara bağlı olarak kalbi koruduğunu bildirmişlerdir.<sup>64</sup>

Huang ve ark. (2008) Su-etanol ekstraksiyonu yöntemiyle dört tip polisakkariti (APS<sub>s</sub>), APS<sub>t</sub>, APS<sub>50</sub> ve APS<sub>60</sub> elde etmiş ve klor-sülfonik asit-pridin metodu ile sülfat grupları ekleyerek sırasıyla APSs (sAPS) (sAPS<sub>t</sub>, sAPS<sub>40</sub>, sAPS<sub>50</sub>, sAPS<sub>60</sub>) polisakkaritlere dönüştürüp bunların bursal hastalıklara sebep olan virüslere karşı hücrel bulaşıcılık özelliklerinin inhibisyonunu test etmişlerdir. Elde edilen sonuçlar virüslere karşı yeni tip ilaçların geliştirilebileceği sonucunu ortaya koymuştur.<sup>65</sup>

Huang ve ark. (2008) yaptıkları bir başka çalışmada ise tavukların yakalandıkları Newcastle hastalığına karşı geliştirilen aşı üzerinde *Astragalus*

köklerinden izole edilen, sülfat grubu eklenerek elde edilen polisakkaritlerinin (sAPSs), sAPS<sub>40</sub>, sAPS<sub>50</sub> and sAPS<sub>60</sub> etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada üç gün süre ile günde bir kez yüksek ve düşük dozlarda kas içine enjekte edilen polisakkaritlerin aşının etkisini güçlendirdiğini, T lenfosit üretimini ve bağışık sistemin potansiyelini arttırdığını tespit etmişlerdir.<sup>66</sup>

Zhao ve ark. (2009) yılında yaptıkları bir araştırmada daha önce leguminose familyasına ait bazı türlerden, *A. lentiginosus*, *A. variabilis*, *Oxytropis ochrocephala*, *Oxytropis kansuensis*, *Oxytropis serioopetala*, izole edilen indolizidine alkaloid sınıfına dahil olan swainsonin (SW) maddesini Tibet, Moğolistan, Çin'in Siçuan bölgesinde geniş bir yayılıma sahip *A. sitricus* türünden'de izole etmişlerdir. Elde edilen swainsonin madesinin ve analoglarının hücrede glukozidaz aktivitesini inhibe ettiği özellikle golgi  $\alpha$ -mannosidaz II de bu etkinin belirgin olduğunu bununla birlikte swainsonin'in tümör gelişimini ve yayılmasını inhibe ettiğini bildirmişlerdir.<sup>67</sup>

Yan ve ark. (2009) yapmış oldukları bir çalışmada *A. mongholicus* bitkisinin köklerinden, affinite kromatografisi yöntemiyle özütledikleri ve saflaştırdıkları bir lektin (AMML) molekülünün insanda rahim ağzı kanser hücreleri (HeLa), kemik kanseri hücreleri (MG63) ve kan kanseri hücreleri (K562) üzerindeki çoğalma, ölüm ve hücre döngüsüne olan etkilerini araştırmışlardır. Büyüme inhibisyonunu en fazla HeLa hücrelerinde (%92) bunu takiben K562 hücrelerinde (%84) ve MG63 hücrelerinde (%48) gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda *A. mongholicus* kökünden elde edilen lektin molekülünün bu hastalıklarda tedavi amacıyla kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.<sup>68</sup>

Yan ve ark. (2008) bir diğerk çalışmada ise ilk olarak *A. mongholicus* bitkisinin köklerinden izole edilen hücre içerisindeki patogenez olaylarından sorumlu olarak bilinen PR-10 sınıfına dahil, AmPR-10 proteinini affinite kromatografisi (Zn-şelat Agaroz B), iyon değişim kromatografisi (QAE Sephadex A-25) ve jel filtrasyon (Sephadex 50) yöntemlerini kullanarak saf halde izole etmiş ve elde edilen AmPR-10 proteininin diğerk PR-10 sınıfı proteinlerde olduğu gibi ribonükleaz (RNaz) aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir.<sup>69</sup>

Pei ve ark. (2007) *A. membranaceus var. mongholicus* bitkisinin kökünden daha önce izole edilen izoflavonoid ve triterpenoid glukozitlerden farklı olarak spektroskopik metotlarla yapısı aydınlatılmış yeni bir izoflavon glukozid (C<sub>26</sub> H<sub>26</sub> O<sub>11</sub>) elde etmişlerdir.<sup>70</sup>

Xue ve ark. (2008) son yirmi yılda 16'dan fazla flavonoid izole edilen *A. complanatus* R. Brown bitkisinin tohumlarından elde edilen total flavonoidlerinin deney fareleri üzerindeki antihipertansif etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *A. complanatus* total flavonoidlerin portal ven üzerinde dilatasyona (gevşeme) sebep olduğunu bununda Anjiotensin II reseptörlerinin bloke edilmesi sonucu gerçekleştiğini bildirmişlerdir.<sup>71</sup>

Li ve ark. (2009) yapmış oldukları bir çalışmada *A. membranaceus* bitkisinin kök kısımlarından sıcak su ekstraksiyonu, anyon değişimi ve jel permasyon kromatografisi yöntemleri ile suda çözünen ve APS olarak isimlendirilen C-6 pozisyonunda tek bir  $\alpha$ -D-glukoz içeren  $\alpha$ -(1→4)-D-glukan yapısında bir polisakkarit izole etmişler ve bu polisakkaritin böbrek üzerindeki koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler deney farelerine katyonik sığır serum albumini (C-BSA) ile birlikte uygulanan APS'nin proteinuri den

kaynaklanan idrar protein seviyesinde belirgin bir azalmaya ve glomerüllerde morfolojik değişikliklere sebep olduğu bunun sonucunda'da ve APS'nin glomerülonefrit tedavisinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.<sup>72</sup>

Çalış ve ark. (2008) *A. campylosema* Boiss. ssp. *campylosema* kökünden mentol ekstraksiyonu ile dört yeni (3-O-[ $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-xylopyranosyl]-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,23 $\alpha$ ,25-pentahydroxy-20 (*R*), 24 (*S*)-epoxycycloartane (1), 3-O-[ $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-xylopyranosyl]-16-O-hydroxyacetoxy-23-O-acetoxy-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,25-trihydroxy-20 (*R*), 24 (*S*)-epoxycycloartane (2), 3-O[ $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-xylopyranosyl]-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,23 $\alpha$ ,25-tetrahydroxy-20 (*R*), 24 (*R*)-16 $\beta$ , 24; 20, 24-diepoxy-cycloartane (3), 3-O-[ $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-xylopyranosyl]-25-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl- 3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,25-tetrahydroxy-20 (*R*), 24 (*S*)-epoxycycloartane (4)) ve üç tane bilinen sikloartan glikozit izole etmişlerdir. 1. ve 2. bileşiklerde 23. karbondaki hidroksil grubu ile 3. bileşikteki 24. karbonda bulunan ketalik grubu sikloartan sınıfı için daha önce rastlanılmamış bulgular olarak rapor edilmiştir.<sup>73</sup>

Polat ve ark. (2009) yapmış oldukları bir çalışmada *A. amblolapis* Fischer kökünden beş sikloartan triterpen glikozit ve önceden bilinen bir saponin (3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-16-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,24 (*S*), 25-pentahydroxy-cycloartane.) izole etmişlerdir. 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-25-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,24(*S*),25 pentahydroxycycloartane, 3-O-[ $\beta$ -D-glucuronopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-xylopyranosyl]-25-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,24(*S*),25-pentahydroxy-cycloartane, 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-24,25-di-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ , 16 $\beta$ ,24 (*S*), 25-pentahydroxy-cycloartane, 6-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-16,24-

di-O-β-D-glucopyranosyl-3β, 6α,16β,24 (S), 25-pentahydroxy-cycloartane, 6-O-α-L-rhamnopyranosyl-16,25-di-O-β-D-glucopyranosyl-3β,6α,16β,24(S),25-pentahydroxy-cycloartane bileşiklerin yapılarının aydınlatılmasında 1D ve 2D-NMR teknikleri ve kütle spektroskopisi kullanılmıştır. Çalışmada elde edilen sikloartanlarda bulunan glukuronik asit parçası ilk kez rapor edilmiştir.<sup>74</sup>

Xiao ve ark. (2008) Astragalus köklerinde bulunan flavonoidlerin uygulanan diğer yöntemlere göre daha hızlı ekstraksiyon sağlayan mikrodalga destekli bir protokol geliştirmişlerdir. Mikrodalga destekli bu yöntemde ekstraksiyon protokolünün optimizasyonu uygulanan değişik parametrelere (mikrodalga gücü, ekstraksiyon döngüsü, ekstraksiyon sıcaklığı, etanol konsantrasyonu, ışınlama süresi ve kullanılan çözücünün materyale oranı) bağlıdır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde maksimum verim 110 °C de 25 dakika 25ml/g materyalin % 90 etanolde çift ekstraksiyon ile elde edilmiştir. Geliştirilip uygulanan bu protokolün, flavonoid içeriğinde herhangi bir bozunmaya neden olmadığı rapor edilmiştir.<sup>75</sup>

Godevac ve ark. (2008) yaptıkları bir çalışmada *A. glycyphyllos* bitkisinin total fenolik bileşen miktarının 44.6±2.13 (mg GAE/g) gallik aside eşdeğer, DPPH radikali söndürme kapasitesi IC<sub>50</sub> değerinin ise 156.98±23.08 (µg/ml) olduğunu bildirmişlerdir.<sup>76</sup>

Wong ve ark. (2006) yapmış oldukları bir çalışmada bazı *Astragalus* türlerinin su ve metanol özütlerinin total fenolik bileşen miktar tayini ve total antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. *A. complanatus* R. Br. ve *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. türlerinin su ve metanol özütlerinin total antioksidan kapasiteleri sırasıyla; 66.9, 12.2 µg/mL, 29.8, 9.1 µg/mL olarak bulunmuştur. Total fenolik

bileşen miktarları su özütlerinde ise sırasıyla; 10.3, 5.27 (GAE)/g kuru ağırlık), metanol özütlerinde ise, 6.77, 3.87 (GAE)/g kuru ağırlık) olarak bulunmuştur.<sup>77</sup>

Shan ve ark. (2007) *A. mongholicus* bitkisinin total fenolik, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal özelliklerini çalışmışlardır. Çalışma sonucunda bitkinin total fenolik bileşen miktarının 4.8 (g GAE/100 g kuru ağırlık), antioksidan kapasitesinin 0.8 (mmol trolox/100 g Kuru ağırlık) olduğunu bildirmişlerdir. Antibakteriyel test için *Bacillus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella anatum* denenmiş ve bitkinin kök kısmından metanol ekstraksiyonu ile elde edilen özütün bakterilerin büyümesi üzerinde inhibisyon oluşturmadığı tespit edilmiştir.<sup>78</sup>

Adıgüzel ve ark. (2009) yapmış oldukları çalışmada, bazı *Astragalus* türlerinin toprak üstü ve kök kısımlarının metanol ve hekzan özütlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini araştırmışlar ve *Astragalus* türlerinin topraküstü kısımlarından elde edilen metanol özütlerinin 68.8–400.4 µg/ml konsantrasyonları aralığında % 50 inhibisyon ile hafif düzeyde serbest radikal süpürücü etki gösterdiğini, *Astragalus* türlerinin topraküstü kısımlarının hekzan/diklorometan özütleri serbest radikal süpürücü etki göstermediğini, kök kısımlarının metanol özütlerinin çok az antioksidan karakterde iken, *A. microcephalus* Willd, *A. erinaceus* Fisch. & Mey. ex Fischer, *A. psoraloides* Lam. ve *A. argyroides* Becker ex Stapf. türlerinin non-polar özütlerinin DPPH testinde son derece aktif özellik gösterdiğini, IC50 değerlerinin sırası ile 35.2 µg/ml, 21.0 µg/ml, 22.0 µg/ml, 20.3 µg/ml ve 38.0 µg/ml olarak tespit edildiğini, β-karoten-linoleik asit sistemi içinde, çalışılan *Astragalus* türleri arasında en güçlü inhibisyon etkisini *A. psoraloides* Lam. türünden elde edilen özütün gösterdiğini, buna ek olarak, disk



difüzyon yöntemi ile *Astragalus* türlerinin in vitro antibakteriyel, antikandidal ve antifungal aktivitelerinin çalışıldığını, elde edilen bitki özütlerinden hiçbirinin çalışılan mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkisinin olmadığını rapor etmişlerdir.<sup>79</sup>

Dığrak ve ark. (1998) *A. schizopterus* bitkisinden elde ettikleri özütleri (500 µg bitki/disk) disk difüzyon yöntemi kullanarak antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerini incelemiş *E. coli*, *E. aerogenes*, *M. luteus* ve *P. fluorescens*'e karşı 7–10 mm'lik inhibisyon zonları oluşturduğunu ve özütün antifungal aktivitesinin bulunmadığını bildirmişlerdir.<sup>80</sup>

Duffy ve ark. (2001) *A. membranaceus* (Radix astragali) bitkisinden elde ettikleri kök özütlerinin *B. subtilis* (NCIBM 3610) ve *E. coli* (NCIMB 8879)'ye karşı MIC değerlerinin □ 100mg/ml olduğunu bildirmişlerdir.<sup>81</sup>

Pistelli ve ark. (2002) *A. verrucosus* bitkisinden elde ettikleri hekzan, kloroform, etil asetat, bütanol, su ve etanol özütlerinin gram pozitif (*S. aureus*), gram negatif (*E. agglomerans*, *E. coli*, *S. infantis*, *P. aeruginosa*) bakterilere karşı antimikrobiyal etkilerini incelemiş ve sadece hekzan özütünün *S. aureus*'a karşı 17 mm'lik inhibisyon zonu oluşturduğunu bildirmişlerdir.<sup>82</sup>

## 2.5. KAYNAKLAR

1. Baytop, T. *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*, Nobel Kitabevi, İstanbul, s:3, **1999**.
2. Şarışen, Ö.; Çalışkan D. Bitkilerle Tedaviye Dikkat, *Fitothreapy*, **2005**, *14*, (8), 182-187.
3. Türkiye Çevre Vakfı, *Gap Yöresindeki Endemik ve Tıbbi Bitkiler*, *143*, 53–54, **2001**.
4. Akdur, R.; Çöl, M.; Işık, A.; İdil, A.; Durmuşoğlu, M.; Tunçbilek, A. *Halk Sağlığı* I. Baskı, s: 3-13, Ankara, **1998**.
5. Traditional Medicine.<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/> (10.06.2009)
6. [www.turyay.com.tr/HS/jhs\\_vol280\\_no18htm](http://www.turyay.com.tr/HS/jhs_vol280_no18htm). (10.06.2009)
7. [http://saglik.tr.net/genel\\_saglik\\_bitkilerle\\_tedavi.shtml](http://saglik.tr.net/genel_saglik_bitkilerle_tedavi.shtml). (10.06.2009)
8. Stephen, B.M.D.; Richard, Ko.; PharmD, Phd. Commonly Used Herbal Medicines in the United States, *The American Journal of Medicine*, **2004**, *116*, 478-485
9. [http://www.ced.org.tr/v2/index.php?option=com\\_content&view=article&id=452&Itemid=164](http://www.ced.org.tr/v2/index.php?option=com_content&view=article&id=452&Itemid=164) (10.06.2009)
10. <http://www.memorial.com.tr/?Id=2189> (10.06.2009)
11. <http://www.novafel.com./nutrition/plant-secondary-metabolites.htm> (10.06.2009)
12. <http://www.dreampharm.com./ginger/psm.asp> (10.06.2009)
13. Balandrin, M.F.; Klocke, J.A.; Wurtele, E.S.; Bollinger, W.H. Natural Plant Chemicals, *Sources of Industrial and Medicinal Materials Science*, **1985**, *228*, 1154-1160.

14. Han, K.H. Molecular Biology of Secondary Growth. *Journal of Plant Biotechnology*, **2001**, 3, 45-57
15. Oskay, D.; Oskay, M. Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoteknolojik Önemi *e-Journal of New World Science Academy* **2009**, 4, (2).
16. Linda, E.; Graham, Lee.; Wilcox, W.; Işık, K. (ed). *Bitki Biyolojisi*, Palme Yayıncılık, s: 25-28, Mayıs, **2004**.
17. Bergendi, L.; Benes, L.; Durackova, Z.; Ferencik, M. Chemistry, Physiology and Pathology of Free Radicals, *Life Science*, **1999**, 65, (18-19), 1865-1874.
18. Stohs, S.J.; Bagchi, D. Oxidative Mechanisms in the Toxicity of Metal Ions. *Free Radical Biology Medicine*, **1995**, 18, (2), 321-336.
19. Klatt, P.; Lamas, S. Regulation of Protein Function by Sglutathiolation in Response to Oxidative and Nitrosative Stres, *Europen Journal of Biochemistry*, **2000**, 267, (16), 4928-4944.
20. Saltman, P. Oxidative Stres: A Radical View. *Seminars in Hematology*, **1989**, 26, (4), 249-256.
21. Larsoni, R.A. The Antioxidantd of Higer Plants, *Phytochemistry*, **1988**, 4, 969-978.
22. Hertog, M.G.L.; Hollman, P.C.H.; Katan, M.B. Contend of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of 28 Vegetables and 9 Fruits Comonly Consumed in the Nederlands, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1992**, 40, 2379-2383.
23. Cao, G.; Sofic, E.; Prior, R.L. Antioxidant Capacity of Tea and Common Vegetables, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1996**, 44, 3426-3431.

24. Kivits, G.A.A.; Vam der Sman, F.J.P.; Tijburg, L.B.M. Analysis of Catechin from Green and Black Tea in Humans: A Specific and Sensitive Colorimetric Assay of Total Catechins in Biological Fluids, *International Journal of Food Science and Nutrition*, **1997**, *48*, 387-392.
25. Akkuş, İ. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, Mimoza Yayınları, Konya, **1995**.
26. Bekerecioğlu, M.; Uğraş, S.; Dilek, O.N. Serbest Radikaller, *Sendrom*, **1998**, *10*, (3), 85-94.
27. Hailliwel, B. Free Radicals, Antioxidants and Human Disease: Curiosity, Cause, or Consequence?, *Lancet*, **1994**, *344*, 721-724.
28. Pincemail, J.J. *Free Radicals and Antioxidants in Human Diseases*, in: Favier, A.E., Cadet, J., Kalyanaraman, B., Fontecave, M., Pierre J.L., (ed.), *Analysis of Free Radicals in Biological Systems*, p:83-89, Birkhauser Verlag, Berlin, **1995**.
29. Dreher, D.; Junod, A.F. Role of Oxygen Free Radicals in Cancer Development, *European Journal of Cancer*, **1996**, *32*, 30-38.
30. Oberley, T.D.; Oberley, L.W. Antioxidant Enzyme Level in Cancer, *Histology of Histopathology*, **1997**, *12*, 525-535.
31. Maxwell, S. Antioxidant Therapy: Does it Have a Role in the Treatment of Human Disease, *Experimental Opinion Investigation Drugs*, **1997**, *6*, 211-236.
32. Brattin, W.J.; Glende, E.A.; Recknagel, R.O. Pathological Mechanisms in Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity, *Journal of Free Radical Biology Medicine*, **1985**, *1*, 27-28

33. Slater, T.F. Free Radical Mechanisms in Tissue Injury, *Biochemistry Journal* **1984**, 222, 1-15
34. Yao, T.; Esposti, S.D.; Huang, L. Inhibition of Carbon Tetrachloride Induced Liver Injury by Liposomes Containing Vitamin E, *American Journal of Physiology*, **1994**, 267, 476-484.
35. Babior, B.M. Phagocytes and Oxidative Stress, *The American Journal of Medicine*, **2000**, 109, (1), 33-44.
36. Grismah, M.B.; McCord, J.M. *Chemistry and Cytotoxicities of Reactive Oxygens Metabolites*, in: Taylor, A.E.; Matalon, S.; Ward, P.; (ed.), *Biology of Oxygen Radicals*, p: 1-18. American Physiological Society, Bethesda, **1986**.
37. Vincent, A.M.; Russell, J.W.; Low, P.; Feldman, E.L. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*. **2004**, 25, 612-628.
38. Memişoğulları, R.; Taysi, S.; Bakan, E.; Çapoğlu, I. Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus, *Cell Biochemistry and Functions*, **2003**, 21, 291-296
39. Cherubini, A.; Ruggiero, C.; Polidori, M.C.; Mecocci, C. Potential Markers of Oxidative Stress in Stroke, *Free Radical Biology and Medicine*. **2005**, 39, 841-852.
40. Memişoğulları, R.; Bakan, E. Levels of Ceruloplasmin, Transferrin, and Lipid Peroxidation in the Serum of Patients with Type II Diabetes Mellitus, *Journal of Diabetes and its Complications*, **2004**, 18, 193-197
41. Young, I.S.; Woodside, J.V. Antioxidants in Health and Disease, *Journal of Clinic Pathology*, **2001**, 54, 176-186.

42. Sacks, D.B. *Diabetes Mellitus*, in: Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. (ed). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, p:766-776, WB Saunders Corporations, Philadelphia, **1999**.
43. Sözmen, E.Y. *Yaşlanma Biyokimyası*, in: Onat, T.; Emerk, K.; Sözmen, E.Y. (ed.), *İnsan Biyokimyası*, s: 665-674Palme Yayıncılık, Ankara, **2002**.
44. Pratic`o, D. Antioxidants and Endothelium Protection, *Atherosclerosis*, **2005**, *181*, 215-224.
45. Halliwell, B. Antioxidant Characterization Methodology and Mechanism, *Biochemical Pharmacology*, **1995**, *49*, (10), 1341-1348.
46. Taysı, S.; Polat, F.; Gül, M.; Sarı, RA.; Bakan, E. Lipid Peroxidation Some Extracellular Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Serum of Patients with Rheumatoid Arthritis, *Rheumatology International*, **2002**, *21*, (5), 200-204.
47. Taysı, S.; Gül, M.; Sarı, R.A.; Akçay, F.; Bakan, N. Oxidant/Antioxidant Status in Serum of Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Clinical Chemistry Laboratory and Medicine*, **2002**, *40*, 684-688.
48. Habif, S.; Turgan, N.; Mutaf, I. Plasma Catalase, Glutathione Peroxidase and Selenium Levels in Adult Diabetic Patients, *Turkish Journal of Medicinal Science*, **1997**, *27*, 139-141.
49. Taysı, S.; Koçer, I.; Memişoğulları, R.; Kızıltunç, A. Serum Oxidant/Antioxidant Status in Patients with Behçet's Disease, *Annual Clinical Laboratory Science*, **2002**, *32*, 4, 377-382.
50. Akkuş, I.; Kalak, S.; Vural, H.; Çağlayan, O.; Menekşe, E.; Can, G.; Durmuş, B. Leukocyte Lipid Peroxidation, Superoxide Dismutase, Glutathione

Peroxidase and Serum and Leukocyte Vitamin C Levels of Patients with Type II Diabetes mellitus, *Clinica Chimica Acta*, **1996**, *244*, 221-227.

51. Chao, J.C.; Huang, C.H.; Wu, S.J.; Yang, S.C.; Chang, N.C.; Shieh, M.J.; Lo, P.N. Effects of Beta-carotene, Vitamin C and E on Antioxidant Status in Hyperlipidemic Smokers, *Journal of Nutrient Biochemistry*, **2002**, *13*, 427-434.
52. Steinberg, F.M.; Chait, A. Antioxidant Vitamin Supplementation and Lipid Peroxidation in Smokers, *American Journal of Clinical Nutrition*, **1998**, *68*, 319-327.
53. Laguerre, M.; Lecomte, J.; Villeneuve, P. *Progress in Lipid Research*, **2007**, *46*, 244-282.
54. Van Haften, R.I.; Evelo, C.T.; Penders, J.; Eijnwachter, M.P.; Haenen, G.R.; Bast, A. Inhibition of Human Glutathione-S-transferase P1-1 by Tocopherols and Alpha-tocopherol Derivatives, *Biochimica et Biophysica Acta*, **2001**, *1548*, 23-28.
55. Singh, U.; Jialal, I. Anti-inflammatory Effects of Alpha-tocopherol, *Annals of the New York Academy Science*, **2004**, *1031*, 195-203.
56. Kutlu, M.; Nazıroğlu, M.; Şimşek, H.; Yılmaz, T.; Şahap K.A. Moderate Exercise Combined with Dietary Vitamins C and E Counteracts Oxidative Stress in the Kidney and Lens of Streptozotocin Induced Diabetic Rat, *International Journal of Vitamin Nutrition Research*, **2005**, *75*, *1*, 71-80.
57. Gökkuşu, C.; Palandüz, Ş.; Ademoğlu, E.; Tamer, Ş. Oxidant and Antioxidant Systems in NIDDM Patients: Influence of Vitamin E Supplementation. *Endocrine Research*, **2001**, *27*, (3), 377-386.

58. Mohagheghzadeh, A.; Faridi, P.; Arkadani, S.M.; Ghasemi, Y. Medicinal Smokes, *Journal of Ethnopharmacology*, **2006**, *108*, 161-184.
59. Jigou, Y.; Hong, X. Eksternal Aplication of Herbal Medicine to Acupoints. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, **2008**, *28*, (1), 21-23
60. Mukhtar, M.; Arshad, M.; Ahmad, M.; Pomerentz, J.R.; Wighald, B.; Perveen, Z. Antiviral Potential of Medicinal Plants, *Virus Reserch*, **2008**, *131*, 111-120.
61. Said, O.; Khalil, K.; Fulder, S.; Azaizeh, H. Ethnopharmacological Survey of Medicinal Herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank Region, *Journal of Ethnopharmacology*, **2002**, *83*, 251-265.
62. Ryu, M.; Kim, H.E.; Chun, M.; Kong, S.; Skim, B.; Yu, B.Y.; Jeong, G.; Lee, S.J. Astragali Radix Elicits Anti-inflammation *via* Activation of MKP-1, Concomitant with Attenuation of p38 and Erk, *Journal of Ethnopharmacology*, **2008**, *115*, 184-193.
63. Cho, H.J.; Cho, K.C.; Shin, W.J.; Son, Y.J.; Kong, W.; Son, G.C. Myelophil and Extract Mix of Astragali Radix and Salvia Radix, Ameliorates Chronic Fatigue, A Randomised, Double-Blind, Controlled Pilot Study, *Coplementary Therapies in Medicine*, **2009**, *17*, 141-146.
64. Zhao, P.; Su, G.; Xiao, X.; Hao, E.; Zhu, X.; Ren, J. Chinese Medicinal Herb Radix Astragali Suppresses Cardiac Contractile Dysfunction and Inflammation in a Rat Model of Autoimmune Myocarditis, *Toxicology Letters*, **2008**, *182*, 29-35.
65. Huang X.; Wang, D.; Hu, Y.; Lu, Y.; Guo, Z.; Kong, X.; Sun J. Effect of Sulfated Astragalus Polysaccharide on Cellular Infectivity of Infectious Bursal



- Disease Viruse, *International Journal of Biological Macromolecules*, **2008**, 42; 166-171.
66. Huang, X.; Hu, Y.; Zhao, X.; Lu, Y.; Wang, J.; Zhang, F.; Sun, J. Sulfated Modification Can Enhance the Adjuvant Activity of *Astragalus* Polysaccharide for ND Vaccine, *Carbohydrate Polymers*, **2008**, 73, 303-308.
67. Zhao, B.; Liu, Zy.; Wang, Jj.; Sun, Ls.; Wang, Zx.; Wang, Yc. Isolation and NMR Study on Swainsonine from Locoweed, *Astragalus strictus*. *Agricultural Sciences in China*, **2009**, 8, (1), 115-120.
68. Yan, Q.; Li, Y.; Jiang, Z.; Sun, Y.; Zhu, L.; Ding, Z. Antiproliferation and apoptosis of Human Tumor Cell Lines by a Lectine (AMML) of *Astragalus mongholicus*, *Phytomedicine*, **2009**, 16, 586-593.
69. Yan, Q.; Qi, X.; Jiang, Z.; Yang, S.; Han, L. Characterization of a Pathogenesis-Related Class 10 Protein (PR-10) from *Astragalus mongholicus* with Ribonuclease Activity, *Plant Physiology and Biochemistry*, **2008**, 46, 93-99.
70. Pei, Y.; Li, R.; Fu, H.; Wong, J.; Zhou, Y. A New Isoflavone Glucoside from *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*, *Fitoterapia*, **2007**, 78; 602-604.
71. Xue, B.; Li, Jx.; Chai, Q.; Liu, Zx.; Chen, Lb. Effect of Total Flavonoid Fraction of *Astragalus complanatus* R. Brown on Angiotensin II-Induced Portal Vein Contraction in Hypertensive Rats, *Phytomedicine*, **2008**, 15, 759-762.
72. Li, Sg.; Zang, Yq. Characterization and Renal Protective Effect of A Polysaccharide from *Astragalus membranaceus*, *Carbohydrate polymers*, **2009**, (Article in press 10.06.2009)

73. Çalış, İ.; Dönmez, A.A.; Porrone, A.; Pizza, C.; Piacente, S.. Cycloartane Glycosides from *Astragalus campylosema* Boiss. ssp. *campylocema*, *Phytochemistry*, **2008**, *69*, 2634-2638.
74. Polat, E.; Alakuş, Ç.Ö.; Perrone, A.; Piacente, S.; Bedir, E. Cycloartane-Type Glicosides from *Astragalus amblolepis*, *Phytochemistry*, **2009**, *70*, 628-634.
75. Xiao, W.; Han, L. Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids from Radix Astragali. *Separation and Purification Technology*, **2008**, *62*, 614-618.
76. Godevac, D.; Zdunic, G.; Savikin, K.; Vajs, V.; Mencovic, N. Antioxidant Activity of Nine Fabaceae Species Growing in Serbia and Montenegro, *Fitoterapia*, **2008**, *79*, 185-187.
77. Wong, C.C.; Li, B.H.; Cheng, W.K.; Chen, F. A Systematic Survey of Antioxidant Activity of 30 Chinese Medicinal Plants Using the Ferric Reducing Antioxidant Power Assay, *Food Chemistry*, **2006**, *97*, 705-717.
78. Shan, B.; Cai, Z.Y.; Brooks, D.J.; Corke, H. The In vitro Antibacterial Activity of Dietary Spice and Medicinal Herb Extracts, *International Journal of Food Microbiology*, **2007**, *117*, 112-119.
79. Adıgüzel, A.; Sökmen M.; Özkan, H.; Açar, G.; Güllüce, M.; Şahin, F. *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*, **2009**, *33*, 65-71.
80. İlçim, A.; Dığerak, M.; Bağcı, E. Bazı Bitki Özütlerrinin Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması, *Turkish Journal of Biology*, **1988**, *22*, 119-125

- 81.** Duffy, F.C.; Power, F.R. Antioxidant and Antimicrobial Properties of Some Chinese Plant Ekstracts, *International Journal of Antimicrobial Agents*, **2001**, *17*, 527-529.
- 82.** Pistellia, L.; Bertolia, A.; Leporia, E.; Morellia, I.; Panizzib, L. Antimicrobial and Antifungal Activity of Crude Extracts and Isolated Saponins from *Astragalus errucosus*, *Fitoterapia*, **2002**, *73*, 336-339.

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. MATERYAL

*Astragalus diphtherites* var. *diphtherites* ve *Astragalus gymnalocepias* bitki örnekleri 2007 Mayıs-Ağustos ve 2008 Nisan-Haziran dönemlerinde sırasıyla Mardin ve Diyarbakır çevrelerinden toplandı. Türlerin teşhisleri D.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Selçuk ERTEKİN tarafından yapıldı. Bitki örnekleri Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Herbaryumunda (DUF) saklanmaktadır (*A. diphtherites* var. *diphtherites*. DUF 9711, *A. gymnalocepias* DUF 9344).

*Astragalus* (geven) cinsi angiospermler içerisinde en geniş tür çeşitliliğine sahip bitki grubu olarak bilinir. Türkiye Florası kayıtlarına göre ülkemizde yaklaşık 380 türü bulunan bu cinsin genel yayılış alanı İran-Turan floristik bölgesidir. Çok yıllık çalı şeklinde ve otsu türleri ile tek yıllık otsu türleri mevcuttur.

##### 3.1.1. *Astragalus diphtherites* var. *diphtherites*

*A. diphtherites* var. *diphtherites* türü çok yıllık çalı şeklindedir. Bitkinin boyu 15–25 cm, yaprakları diken şeklinde 2–4(-6) cm, yaprakçıkları 6–15(-19) mm dir. Çiçekler sesil 5–30 adet. Kaliks 12–15 mm, korolla pembe ve standart olarak 15-18 mm dir. Çiçeklenme zamanı 6–8 aylar genellikle taşlık, kalkerli ve step alanlarda

400–1100 m de yayılış göstermektedir. Türe ait örnekler C8, Mardin, Bakır Kırı civarından 09.07.2008 tarihinde toplandı.



**Resim 3.1.** *A. diphtherites* var. *diphtherites*

### 3.1.2. *Astragalus gymnaocepias*

*A. gymnaocepias* türü endemik bir tür olup dar bir yayılış alanına sahiptir. Çok yıllık otsu yapıda olan bu bitkide; yapraklar 9–20 cm; yaprakçıklar 15–40 mm dir. Genellikle 15–25 çiçek içerir. Brakteler 3–4 mm, brakteoller 1–1,5 mm, kaliks birkaç adet uzun tüylü, tübüler 9–12 mm, korolla sarı ve standart olarak 18–20 mm, çiçeklenme dönemi Haziran dir. Türe ait örnekler Diyarbakır Devegeçidi Barajı civarından 07.06.2007 tarihinde 730 m den toplanmıştır.



**Resim 3.2.** *A. gymnalocepias*

### **3.1.3. Kullanılan Mikroorganizmalar**

Bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerini test etmek için kullanılan; *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 Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Bölümü'nden temin edildi.

### 3.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

**Antioksidan testler için:** BHA (bütillenmiş hidroksi anisol), Gallik asit (3,4,5-trihidroksi benzoik asit), DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl), Ferrozin (3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4''-disulfonic acid sodium salt), EDTA (etilendiamintetraasetik asit), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrojen peroksit), BHT (bütillenmiş hidroksi toluen), NaCO<sub>3</sub> (sodyum karbonat), Deoksiriboz (Sigma), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (potassium phoshate monobasic), Kuersetin dihidrat, Alüminyum nitrat [Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], Potasyum asetat (CH<sub>3</sub>COOK), Folin & Ciocalteu's Fenol Reaktifi, Potasyum ferrisiyanür [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>], TBA (2- tiyobarbitürik asit), Askorbik asit (Fluka), FeCl<sub>2</sub>(ferrous chloride 4-hydrous), TCA (trikloro asetik asit), FeCl<sub>3</sub> (demir(III) klorür), DMSO (dimethyl sulfoxide), hekzan, etil asetat, metanol ve aseton ticari olarak (Merck) temin edildi.

**Antimikrobiyal test için:** Eritromisin (E, 15 µg), Amoksisilin (20 µg)/Klavulonik asit (10 µg) (AMC, 30 µg), Ofloksasin (OFX, 5 µg), Netilmisin (NET, 30 µg), içeren standart antibiyotik diskleri ve boş kağıt diskler (Oxoid) ve Amfoterisin B (30 µg) (Bristol-Myerss Squibb) temin edildi.

*C. albicans* mayası için ise Sabouraud % 4 Dextrose Agar (SDA) ve Sabouraud % 2 Dextrose Broth (SDB) besiyerleri (Oxoid) temin edildi.

*E. coli*, *S. Aureus*, *P. Aeruginosa*, Nutrient Broth (NB) ve Nutrient Agar (NA), *S. Pyogenes*, *B. Subtilis* standart bakteri suşları için Muller Hinton Agar besiyerleri (Difco laboratories Detroid Mich.) temin edildi.

### 3. 1. 5. Kullanılan Aletler

UV Spektrofotometresi (T80+ UV/VIS Spectrometer PG Instruments Ltd.), santrifüj (Centruin 8000 Series), vortex (FISONS Whirli Mixer TM), otoklav (Nüve EN 400), çalkalayıcı su banyosu (Memmert), hassas terazi (Gec Avery), pH metre (Mettler Toledo), evaporatör (BÜCHI RE 111 Rotavapor), mikropipet (Gilson), membran filtresi (Millipore Carrig wohill, Co. Cork, Ireland) ve buzdolabı (Arçelik) Antimikrobial aktiviteye ait resimlerin görüntülenmesi için Bio Rad Gel Doc XR marka jel görüntüleme sistemi kullanıldı.

### 3. 2. METOD

#### 3.2.1. Bitki Özütlerinin Hazırlanması

Oda sıcaklığında kurutulan bitkinin kök ve gövde kısımları ayrı ayrı öğütülerek analizlere hazır hale getirildi. 100 g bitki örneği alınıp sırasıyla hekzan, etil asetat, aseton ve metanolden oluşan çözücü serilerinde çalkalayıcı su banyosunda 24 saat süreyle özütlendi. Filtrasyon işleminden sonra çözünen kısımlar evapore edildi, çözünmeyen kısımlar ise sırasıyla diğer çözücü serilerinden geçirildi. Bu işlem her bir çözücü için üç kez tekrar edildi. Elde edilen hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütleri daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda saklandı. *A. diptherites var. diptherites* türü için hekzan gövde fazından 245 mg, kök fazından 155 mg, etil asetat gövde fazından 795 mg, kök fazından 213 mg, aseton gövde fazından 244 mg, kök fazından 467 mg, metanol gövde fazından 624 mg, kök fazından 3,552 mg fraksiyonlandırılmış özüt elde edildi.



*A. gymnalocepias* hekzan gövde fazından 353 mg, kök fazından 60 mg, etil asetat gövde fazından 494 mg, kök fazından 264 mg, aseton gövde fazından 501 mg, kök fazından 394 mg, metanol gövde fazından 4,750 g, kök fazından 2,161 g fraksiyonlandırılmış özüt elde edildi.

### **3.2.2. Bitki Stoklarını Hazırlanması**

*A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias* türlerinin gövde ve kök kısımlarından elde edilen hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütleri için total fenolik bileşen miktar tayini, DPPH radikalini söndürme aktivitesi, metal şelatlama, indirgeme gücü aktivitesi ve hidroksi radikali söndürme aktivitesi deneylerinde kullanılmak üzere hazırlanan stok çözeltilerin tüm özütlerde etilalkol içerisindeki derişimleri 1 mg/mL, total flavonoid bileşen miktarı tayini için ise 2 mg/mL olacak şekilde stok çözeltiler hazırlandı.

### **3.2.3. Total Fenolik Bileşen Miktar Tayini**

Fenolik bileşenler antioksidan aktivite gösteren moleküllerdir. BHT, kuersetin,  $\alpha$ -tokoferol ve galik asit önemli fenolik bileşiklerdir. Özütlerin içindeki total fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocaltaeu yöntemine göre tayin edildi.<sup>2</sup> Bu yöntemin dayandığı temel prensip, galik asitin artan konsantrasyonlarına karşı absorbansı grafiğe geçirip, bitki özütleri içindeki total fenolik bileşen miktarını bu grafikten faydalanarak galik asite eşdeğer olarak hesaplamaktır.<sup>3</sup> Galik asitin 5

mg/mL'lik stok çözeltisi hazırlandı, bu stok çözeltide 50-500 µg/mL konsantrasyonlarda seyreltmeler yapıldı. Çalışılan tüm özütlerin 1 mg/mL konsantrasyonlarında stok çözeltileri hazırlandı. Daha sonra hazırlanan gallik asit ve özüt çözeltilerinden 40 µL alınıp, üzerine 1160 µL saf su ve 200 µL folin&ciocalteus fenol reaktifi (2.0 N) ilave edildi ve karıştırıldı. Oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi ve üzerine 600 µL % 20'lik sodyum karbonat çözeltisi ilave edilerek 2 saat oda sıcaklığında çalkalayıcı su banyosunda çalkalandı. Daha sonra 765 nm'de spektrofotometre cihazında (T80+UV/VIS Spectrometer) absorbans değerleri okundu. Kör olarak gallik asit ve özüt dışındaki tüm maddeler kullanıldı.

*A. diptherites var. diptherites* için standart olarak kullanılan gallik asitin 50–500 µg/mL konsantrasyon aralığına denk gelen absorbans değerleri grafiğe geçirildi. Standart eğri çizilerek  $R^2 = 0.9925$  değeri ve aşağıdaki eşitlik elde edildi.

$$\text{Absorbans (A)} = 0,0024 \times \text{Gallik asit } (\mu\text{g})$$

*A. gymnalocepias* için standart olarak kullanılan gallik asitin 50-500 µg/mL konsantrasyon aralığına denk gelen absorbans değerleri grafiğe geçirildi (Şekil 4). Standart eğri çizilerek  $R^2 = 0.9973$  değeri ve aşağıdaki eşitlik elde edildi.

$$\text{Absorbans (A)} = 0,002 \times \text{Gallik asit } (\mu\text{g})$$

Bu eşitlikler kullanılarak *A. diptherites var. diptherites* ve *A. gymnalocepias* bitkilerinin hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplandı.

### 3.2.4. DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi

Antioksidan maddelerin DPPH radikalini söndürme etkileri, kendi hidrojenlerini radikale verebilme yeteneklerinden kaynaklanmaktadır. DPPH serbest ve kararlı bir radikaldir, bir elektron veya hidrojen alarak kararlı diamagnetik bir moleküle dönüşür. DPPH radikalini söndürme aktivitesi diğer metotlara oranla, antioksidan aktiviteyi kısa zamanda karşılaştırabilme olanağı sağladığından daha yaygın olarak kullanılmaktadır.<sup>4,5</sup> Bu metot absorbansın azalması temeline dayanır. DPPH üzerindeki ortaklanmamış elektron görünür bölgede 517 nm'de maksimum absorbans vermektedir. Antioksidan molekül ile DPPH arasındaki reaksiyon DPPH'in ortadaki derişiminin azalmasına yani düşmesine neden olur. Sonuçta oluşan yapı radikalik olmayan DPPH-H'dir. Bu olay reaksiyon karışımının renginin mordan sarıya dönmesiyle gözlenir. Bu deney için bitki özütlerinin 1 mg/mL'lik stok çözeltileri hazırlandı. Stok çözeltilerden 5-350 µg/mL konsantrasyonlarda seyreltmeler yapıldı. Etil alkol içinde 0.1 mM DPPH çözeltisi hazırlandı. Seyreltilen bitki özütlerinden 3 mL alınarak üzerine 0.1 mM DPPH çözeltisinden 1 mL ilave edildi. Tüpler vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra 30 dakika karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi ve daha sonra 517 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Bu yöntemde pozitif kontrol olarak 1 mL 0.1 mM DPPH ve etil alkol kullanıldı. Kör olarak da 4 mL etilalkol kullanıldı. DPPH radikalini söndürme aktivitesi incelenirken 5-350 µg/mL konsantrasyon aralığında çalışıldı. Bu konsantrasyon aralığında *A. diptherites var. diptherites*'in farklı polariteye sahip çözücüler ile hazırlanan özütlerinin, BHT ve BHA'nın DPPH radikalini söndürme aktivitelerinin % inhibisyon değerleri bulundu. *A. gymnaocepias*'in farklı polariteye sahip çözücüler ile hazırlanan özütlerinin, BHT ve BHA'nın DPPH radikalini söndürme

aktivitelerinin % inhibisyon değerleri bulundu. Sonuç olarak artan özüt derişimine karşı % inhibisyon değeri grafiğe geçirilerek IC<sub>50</sub> değerleri mg/mL cinsinden hesaplandı. % inhibisyon değerleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı<sup>6</sup>.

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

A<sub>0</sub> = Negatif kontrol numunesinin (DPPH) absorbanşı,

A<sub>1</sub> = örnek zeltisinin absorbanşı.

### **3.2.5. IC<sub>50</sub> Değerlerinin Hesaplanması**

IC<sub>50</sub> değerleri Prism Version 2.0 programında linear regresyon analizi testi kullanılarak hesaplandı.

### **3.2.6. Total Flavonoid Bileşen Miktar Tayini**

Flavonoidler, doğanın biyolojik yanıt düzenleyicileri olarak anılırlar. Bunun nedeni, kanıtlanmış anti-enflamatuar, anti-alerjik, anti-viral ve anti-kanserojenik özellikleri ile alerjenler, virüsler, karsinojenler gibi diğer bileşiklere karşı vücudun yanıtını düzenleme yeteneğine sahip olmalarındır. Bunlarla beraber oksidatif stres ve serbest radikal hasarına karşı belirgin koruma sağlayan güçlü antioksidanlardır. Bu özellikleriyle sekonder bitki fenoliklerinin en yaygın ve en çok bulunan bir sınıfıdır. Flavonoidler aynı zamanda iek, sebze ve meyvelere renk veren iyonlarla kompleksleşirler. Toplam flavonoid bileşen tayini Flavonoid-Alüminyum kompleks oluşumuna dayanarak<sup>7</sup> Moreno ve ark. (2000) tarafından geliştirilen yöntem ile tayin

edildi.<sup>8</sup> Standart olarak fenolik bir bileşik olan kuersetin kullanıldı. Kuersetinin 3 veya 5-hidroksi grubu ve 4-karbonil grubu ortam ve pH'ya bağlı olarak metal iyonlarıyla ana kompleksleşme noktalarıdır. 3' ve 4' OH grupları asidik ortamda Al(III) ile kompleks oluşturmazlar.<sup>9</sup>

Bu yöntemdeki amaç; kuersetinin artan konsantrasyonlarına karşı absorbans değerlerini grafiğe geçirip kalibrasyon eğrisini oluşturmak, buradan yola çıkarak bitkide bulunan total flavonoid bileşen miktarını kuersetine eşdeğer hesaplamaktır. Kuersetinin metanol içindeki 500 µg/mL'lik stok çözeltisinden 15 µg/mL, 30 µg/mL, 45 µg/mL, 60 µg/mL, 75 µg/mL'lik çözeltiler hazırlandı. Fraksiyonlandırılmış *A. dipherites* var. *dipherites* ve *A. gymnalocepias* bitkilerinin kök ve gövde kısımlarından elde edilen, hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin 2 mg/mL'lik çözeltileri etanol de hazırlandı. Deney ortamına sırasıyla; 0.1 mL % 10 Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 0.1 mL 1 M CH<sub>3</sub>COOK ve 3.8 mL etanol bırakıldı, ardından 1 mL kuersetin veya bitki çözeltisi eklendi karışım iyice karıştırıldıktan sonra 25<sup>0</sup>C su banyosunda 40 dakika inkübasyona bırakıldı. Artan kuersetin konsantrasyonuna bağlı olarak artan sarı renk şiddeti gözlemlendi. UV-vis spektrofotometresinde 415 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü. Kör olarak saf su ve etanol kullanıldı. Standart olarak kullanılan kuersetinin 15-75 µg/mL konsantrasyon aralığına denk gelen absorbans değerleri grafiğe geçirildi ve aşağıdaki eşitlik elde edildi. Standart eğri çizilerek R<sup>2</sup>= 0.9992 değeri ve aşağıdaki denklem elde edildi.

$$\text{Absorbans (A)} = 0.0151 \times \text{Kuersetin } (\mu\text{g})$$

Bu denklem kullanılarak numunelerdeki toplam flavonoid bileşen miktarı *A. dipherites var. dipherites* ve *A. gymnalocepias* için kuersetin eşdeğeri (QUE) olarak hesaplandı.

### 3.2.7. Metal Şelatlama Aktivitesi

Metal şelatlama aktivitesi yöntemi,  $Fe^{+2}$  iyonlarının ferrozin reaktifi tarafından tutulması prensibine dayanmaktadır. Bu metotta ferrozin reaktifi ortamda bulunan  $Fe^{+2}$  iyonlarıyla bağlanarak kompleks oluşturur.<sup>9</sup> Bu kompleks oluşumu test ortamında bulunan flavonoid antioksidanlar ve standart bileşikler gibi metal şelatlayıcı ajanların varlığında bozulur ve sonuç olarak oluşan  $Fe^{+2}$ -ferrozin kompleksi indirgenmiş olur. Bu bileşikler metal şelatlama aktivitesi sayesinde  $Fe^{+2}$  iyonlarını ferrozinden önce yakalarlar ve inert  $Fe^{+2}$ -özüt komplekslerinin oluşumunu sağlarlar.<sup>10,11</sup> Böylece  $Fe^{+2}$ -ferrozin kompleks bileşiğinin indirgenmesi sonucu test ortamında gözlemlenen mor rengin açık sarıya dönüştüğü görülür. 562 nm dalga boyunda artan derişime karşı azalan absorbans değerleri elde edilir. Fraksiyonlandırılmış *A. dipherites var. dipherites* ve *A. gymnalocepias* taksonlarının kök ve gövde özütlerinin, metal şelatlama aktivitesi modifiye Dinis (1994) metodu ile ölçüldü.<sup>10</sup> Güçlü şelatlama aktivitesine sahip olan EDTA pozitif kontrol olarak kullanıldı. Fraksiyonlandırılmış *A. dipherites var. dipherites* bitkisinin kök ve gövde kısımlarının, hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin ve EDTA'nın 1 mg/mL'lik stok çözeltileri hazırlandı. Bunlardan seri çözeltiler (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 250 µg/mL ve 350 µg/mL) hazırlandı. EDTA'nın seri çözeltileri (5 µg/mL, 10 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL,

250 µg/mL ve 350 µg/mL) hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler 0.45 µL çapa sahip membran filtreden geçirildi. Deney ortamına sırasıyla 50 µL 1.25 mM FeCl<sub>2</sub> ve 200 µL 5mM ferrozin eklendi ve iyice karıştırıldıktan sonra bitki veya EDTA çözeltisinden 1 mL eklendi. Test karışımı iyice çalkaladıktan sonra oda sıcaklığında karanlıkta 10 dakika bekletildi. Artan konsantrasyona bağlı olarak azalan viyole renk şiddeti izlendi. UV-vis spektrofotometre cihazında 562 nm dalga boyunda absorbanst ölçüldü. Aşağıdaki denklem kullanılarak elde edilen sonuçlardan Fe<sup>+2</sup>-ferrozin kompleksinin inhibisyon yüzdesi verileri *A. dipherites var. dipherites* ve *A. gymnalocepias* için elde edildi. Bu veriler kullanılarak artan madde derişimlerine karşı % inhibisyon grafikleri çizildi.

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

A<sub>0</sub> = Negatif kontrol numunesinin absorbanst,

A<sub>1</sub> = Bitki çözeltisinin absorbanst

### 3.2.8. İndirgeme Gücü

Fenton tipi tepkimelerde, Fe<sup>+2</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile tepkimeye girerek hidroksil radikalini oluştururken kendisi Fe<sup>+3</sup>'e yükseltgenir. OH radikalinin oluşumu lipid peroksidasyonuna, protein modifikasyonuna ve DNA hasarına yol açar. *Astragalus* özütleri varlığında Fe<sup>+3</sup>/Fe<sup>+2</sup>'ye dönüşümü Oyaizu metodu (1988) ile incelendi.<sup>12</sup> BHA ve BHT pozitif kontrol olarak kullanıldı.

*A. dipherites* var. *dipherites* ve *A. gymnalocepias* türlerinin kök ve gövde kısımlarının, hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin ve pozitif kontrollerin 1 mg/mL'lik stok çözeltileri hazırlandı. Bunlardan seri çözeltiler (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 250 µg/mL ve 350 µg/mL) hazırlandı. Test ortamına sırayla 1 mL bitki veya pozitif kontrol çözeltileri, 2.5 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ve 2.5 mL potasyum ferrisiyanür [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] (% 1, w/v) eklendikten sonra bunlar iyice karıştırıldı ve 50 °C'de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu karışıma daha sonra 2.5 mL trikloroasetik asit (TCA, % 10 w/v) ilave edildi, iyice çalkalandıktan sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst tabakadan 2.5 mL alınıp üzerine sırayla 2.5 mL distile su ve 0.5 mL FeCl<sub>3</sub> çözeltisi (% 0.1, w/v) ilave edildikten sonra iyice karıştırıldı. Bu karışım oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi, artan konsantrasyonla birlikte sarıdan yeşile dönüşen renk şiddetinde artma gözlemlendi. 700 nm'de absorbans ölçüldü, artan konsantrasyona karşı absorbans değerleri *A. dipherites* var. *dipherites* ve *A. gymnalocepias* için grafiğe geçirildi. Bu testte yüksek absorbans yüksek indirgeme gücünü göstermektedir.

### 3.2.9. OH Radikali Söndürme Aktivitesi

Bitki özütlerinin farklı konsantrasyonlarının deoksiriboz metodu ile Fe<sup>2+</sup>/Askorbat/EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi incelendi. Bu yöntem bazı eşitliklere dayanır. Hidroksi radikali deoksiriboza saldırır ve bir seri reaksiyon sonucu malondialdehit (MDA) oluşur. Reaksiyon sonucu oluşan MDA, TBA (2- tiyobarbitürik asit) ile reaksiyona girerek pembe renkli ve 532 nm'de absorbans veren MDA-TBA kompleksini meydana getirir.<sup>13,14</sup> *A. dipherites* var.



*dipherites* ve *A. gymnaocepias* türlerinden elde edilen bitki özütlerinin 1 mg/mL'lik stok çözeltileri hazırlandı. Stok çözeltilerden 5–100 µg/mL konsantrasyonlarda olacak şekilde seyreltmeler yapıldı. Reaksiyon karışımı sırasıyla 100 µL 1mM EDTA, 10 µL 10 mM FeCl<sub>3</sub>, 100 µL 50 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 360 µL 10mM deoksiriboz, 1 mL özüt (5-100 µg/mL), 330 µL 50 mM pH 7.4 fosfat tamponu ve 100 µL 1 mM askorbik asit ilave edilerek oluşturuldu. Elde edilen reaksiyon karışımı 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübe edilen karışımdan 1 mL alınıp üzerine 1mL %10'luk TCA ve 1 mL %0.5'lik TBA ilave edildi. Daha sonra 100 °C'de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Karışım buz yardımıyla soğutulduktan sonra 532 nm'de UV spektroskopide absorbansı ölçüldü.<sup>15</sup> Pozitif kontrol olarak radikal söndürme özelliği olduğu bilinen DMSO kullanıldı. Negatif kontrol, sadece özüt ve pozitif kontrol içermeyen test örneğidir. Artan konsantrasyona karşı *A. dipherites var. dipherites* ve *A. gymnaocepias* için % inhibisyon değerleri grafiğe geçirildi. *A. dipherites var. dipherites* ve *A. gymnaocepias* için % inhibisyon değerleri için aşağıdaki formüle göre hesaplandı.<sup>16</sup>

$$\% I = [ ( A_{\text{KONTROL}} - A_{\text{ÖRNEK}} ) / A_{\text{KONTROL}} ] \times 100$$

### **3.2.10. Antimikrobiyal Aktivite**

#### **3.2.10.1. Stok Bitki Çözeltilerinin Hazırlanması**

*A. dipherites var. dipherites* ve *A. gymnaocepias* bitkilerinin gövde ve kök kısımlarından elde edilen hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin 8 mg/mL'lik stok çözeltileri metanol içerisinde hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltiler

çözünmeyen parçalarından arındırmak amacıyla steril 0.45 µm-por çapına sahip membran filtreler kullanılarak filtrasyon işleminden geçirildi.

### **3.2.10.2. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Disk Diffüzyon Testinin Kültürlere Uygulanması**

Antimikrobiyal aktivite N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) kuralları dikkate alınarak disk difüzyon testi ile belirlendi.<sup>17</sup> Disk difüzyon testi Mueller Hinton Agar, Nutrient Agar ve Sabouraud Dextrose Agar besiyeri kullanılarak yapıldı. Mikroorganizmaların aşılınması işlemi yapılmadan önce katı besiyerleri 35–36 °C’de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Kullanılan bakteri suşları 20 mL Mueller Hinton Broth besiyerinde, maya suşu ise 20 mL Sabouraud Dextrose Broth besiyerine aşılınarak, 37 °C’de 120 rpm’de su banyosunda inkübe edildi. Sterilize edilmiş ve 45-50 °C’ye kadar soğutulmuş Muller-Hinton Agar (MHA, Oxoid), Nutrient Agar (NA Oxoid) ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA Merck)’dan 25’er mL 9 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek düzgün katılaşması sağlandı. Etüvde 37 °C’de bir gece bekletildi. Su banyosuna bırakılan bakteri ( $10^8$  adet/mL) ve maya ( $10^7$  adet/mL) suşlarının buyyonlardaki kültürleri alınıp bunlardan 150 µL alınarak steril petri kutularına steril pamuklu çubuklar yardımıyla dağıtıldı. Besiyerine homojen bir şekilde dağılması sağlandı. 6 mm’lik steril boş kağıt disklere metanolde çözülmüş stok bitki (8 mg/mL) çözeltilerinden 10 µL (80 µg/disk), ve 20 µL (160 µg/disk) emdirildi. Bitki çözeltileri emdirilmiş diskler katılaştıran agar üzerine hafifçe bastırılarak yerleştirildi. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları etüvde 37 °C’de 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda besiyeri

üzerinde oluşan inhibisyon zon çapları cetvel kullanılarak mm olarak değerlendirildi. Aynı şartlarda bu test 3 defa tekrarlandı. Pozitif kontrol olarak ticari olarak temin edilen standart antibiyotiklerin emdirilmiş olduğu 6 mm çapındaki kağıt diskler kullanıldı.

### **3.2.11. İstatiksel Analiz**

İstatiksel analizler SPSS for 14.0 paket programı ile bilgisayarda yapıldı. Çoklu karşılaştırmalar için parametrik varsayımların gerçekleştiği verilerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak elde edildi.

### 3.3. KAYNAKLAR

1. Davis, P.H. *Flora of Turkey and East Aegean Islands, Vol. 10, Edinburg Universty Pres, Edinburg, 1998.*
2. Slinkard, K.; Singleton, V.L. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods, *American Journal of Enology and Viticulture*, **1997**, 28, 1, 49-55
3. Chandler, S. F.; Dodds, J.H. The Effect of Phosphate, Nitrogen and Sucrose on the Production of Phenolics and Solasodine in Callus Cultures of *Solanum laciniatum*, *Plant Cell Reports*, **1983**, 2, 205-208.
4. Brand-Williams, W. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Food Science Thecnology*, **1995**, 28, 25-30.
5. Kumaran, A.; Karunakaran, R.J. *In vitro* Antioxidant Activities of Methanol Extracts of Phyllanthus Species from India, *LWT*, **2007**, 40, 344-352.
6. Dorman, H.J.D.; Hiltunen, R. *Food Chemistry*, **2004**, 88, 193-199.
7. Topçu, G.; Ay, M.; Bilici, A.; Sarıkürkçü, C.; Öztürk, M.; Ulubelen, A. A new Flavone from Antioxidant Extracts of *Pistacia terebinthus*, *Food Chemistry*, **2007**, 103, 816-822.
8. Malesev, D.; Kuntic, V. Investigation of Metal-Flavonoid Chelates and the Determination of Flavonoids via Metal-Flavonoid Complexing Reactions, *Journal of Serbian Chemical Society*, **2007**, 72, 921-939.
9. Ardestani, A.; Yazdanparast, R. Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential of *Achillea santolina* Extracts, *Food Chemistry*, **2007**, 104, 21-29.
10. Dinnis, T:C.P.; Madeira, V.M.C.; Almeida, L.M. Action of Phenolic Derivates (acetaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as Inhibitors of

Membrane Lipid Peroxidation and as Peroxyl Radical Scavengers, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **1994**, *315*, 161-169.

11. Habtemariam, S. Antioxidant Activity of *Knipholone anthrone*, *Food Chemistry*, **2007**, *102*, 1042-1047.
12. Oyaizu, M. Antioxidative Activities of Browning Products of Glucosamine Fractioned by Organic Solvent and Thin-Layer Chromatography, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **1988**, *35*, 771-775
13. Wang, L.; Yen.; J-H.; Liang., H.I. *Journal of Food and Drug Analysis*, **2003**, *11*, 60-66.
14. Yen, G.C.; Hsieh, C.L. Antioxidant Activity of Extracts from *Duzhone (Eucommia ulmoides)* Toward Various Lipid Peroxidation Model *in vitro*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1998**, *46*, 3952-3957.
- Mazumder, K. U.; Rajeshwar, Y.; Kumar, S. *European Bulletin of Drug Research*, *3*, **2005**.
15. Kumar, R. S.; Sivakumar, T.; Sunderam, R. S. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Bauhinia racemosa* L. Stem bark, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **2005**, *38*, 1015-1024
16. Clark C.L.; Jacobs M.R.; Appelbaum P.C. Antipneumococcal Activities of Levofloxacin and Clarithromycin as Determined by Agar Dilution, Microdilution, E-Test, and Disk Diffusion Methodologies. *Journal Clinic Microbial*, **1998**, *36*, 3579-3584.

## 4. BULGULAR

### 4.1. TOTAL FENOLİK BİLEŞEN MİKTAR TAYİNİ

*A. diphtherites* var. *diphtherites* için standart olarak kullanılan gallik asitin 50–500 µg/mL konsantrasyon aralığına denk gelen absorbans değerleri grafiğe geçirildi (Şekil 4.8.1.). Standart eğri çizilerek  $R^2 = 0.9925$  değeri ve aşağıdaki eşitlik elde edildi.

$$\text{Absorbans (A)} = 0.0024 \times \text{Gallik asit } (\mu\text{g})$$

*A. gymnalocepias* için standart olarak kullanılan gallik asitin 50–500 µg/mL konsantrasyon aralığına denk gelen absorbans değerleri grafiğe geçirildi (Şekil 4.8.2.).

Standart eğri çizilerek  $R^2 = 0.9973$  değeri ve aşağıdaki eşitlik elde edildi.

$$\text{Absorbans (A)} = 0.002 \times \text{Gallik asit } (\mu\text{g})$$

Bu eşitlikler kullanılarak *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias* taksonlarının hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin içerdiği total fenolik bileşen miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplandı.

*A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde metanol  $76.1 \pm 0.9$  µg GAE/mg özüt kök kısmından elde edilen aseton  $48.02 \pm 1.5$  µg GAE/mg özüt içeriği ile en fazla total fenolik bileşen içermektedir. Diğer özütler gövde için sırasıyla aseton  $32.4 \pm 0.8$  µg GAE/mg özüt, etil asetat  $23.5 \pm 0.9$  µg GAE/mg özüt ve hekzan  $19.7 \pm 1.4$  µg GAE/mg özüt olarak kök için ise hekzan  $32.5 \pm 1.4$  µg GAE/mg özüt, metanol  $30.7 \pm 1.5$  µg GAE/mg özüt ve etil asetat  $27.2 \pm 0.9$  µg GAE/mg özüt olarak bulundu (Çizelge.4.8.1.).

*A. gymnalocepias* bitkisinin gövde metanol  $54.66 \pm 2.25$  µg GAE/mg özüt kök kısmından elde edilen etil asetat  $35.83 \pm 1.75$  µg GAE/mg özüt içeriği ile en

fazla total fenolik bileşen içermektedir. Diğer özütler gövde için sırasıyla aseton  $42.33 \pm 2.75$  µg GAE/mg özüt, etil asetat  $40.83 \pm 1,25$  µg GAE/mg özüt ve hekzan  $32,33 \pm 1.75$  µg GAE/mg özüt olarak kök için ise hekzan  $32.33 \pm 1.52$  µg GAE/mg özüt, aseton  $19.66 \pm 1.75$  µg GAE/mg özüt ve metanol  $17.66 \pm 1.25$  µg GAE/mg özüt olarak bulundu (Çizelge.4.8.2.).

Her iki bitkiye ait gövde ve kök kısımlarının ayrı ayrı polar olmayan çözücüden başlayıp polar çözücüye doğru yapılan fraksiyonlandırma işlemi sonucunda elde edilen özütlerin, total fenolik miktar tayini modifiye Folin-Ciocaltaeu metoduna göre belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre, hem *A. diphtherites* var. *diphtherites* hemde *A. gymnaocepias* bitkilerinin gövde kısımlarından elde edilen ham özütlerinin fraksiyonlandırma işleminde kullanılan çözücülerin artan polaritesiyle total fenolik bileşen miktarlarının doğru orantılı olarak artmış olduğu (hekzanda en düşük, metanolde ise en yüksek) oldukça belirgin bir biçimde görülmektedir. Fakat her iki bitkinin kök kısımlarındaki değişimin polariteden bağımsız olduğu tespit edildi.

#### **4.2. DPPH RADİKALİNİ SÖNDÜRME AKTİVİTESİ**

*A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocepias* taksonlarının serbest radikal söndürme aktivitesi 2,2–difenil–1–pikrilhidrazil (DPPH) metodu kullanılarak test edildi. Pozitif kontrol olarak BHA ve BHT kullanıldı. Bitkilerin gövde ve kök kısımlarından elde edilen hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütleri ile pozitif kontrollerin 5–350 µg/mL konsantrasyon aralığındaki seri çözeltileri hazırlandı. 517 nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü. Bulunan değerler aşağıdaki eşitlik kullanılarak % DPPH radikalini söndürme aktivitesi olarak hesaplandı. Artan

konsantrasyona karşı % DPPH radikalini söndürme aktivitesi değerleri *A. diphtherites* var. *diphtherites* (Şekil 4.8.3, 4.8.4) ve *A. gymnaocepias* (Şekil 4.8.5, 4.8.6) için grafiğe geçirildi.

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

$A_0$  = Negatif kontrol numunesinin (DPPH) absorbansı

$A_1$  = Örneğin absorbansı

Çalışılan konsantrasyon aralığında *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin hekzan özütü gövdede  $7.2 \pm 0.98$ – $27.07 \pm 0.86$ , kökte  $7.2 \pm 0.95$ – $35.92 \pm 1.59$ , etil asetat özütü gövdede  $12.98 \pm 0.24$ – $57.34 \pm 1.11$ , kökte  $16.7 \pm 0.95$ – $90.26 \pm 0.37$ , aseton özütü gövdede  $14.53 \pm 2.69$ – $70.48 \pm 0.53$ , kökte  $20.39 \pm 1.71$ – $91.55 \pm 0.24$  ve metanol özütü gövdede  $9.85 \pm 0.64$ – $79.01 \pm 0.74$ , kökte  $10.72 \pm 1.49$ – $58.41 \pm 0.89$  arasında, pozitif kontrol olarak kullanılan BHA  $37.17 \pm 2.38$  –  $95.46 \pm 0.59$  arasında ve BHT  $22.99 \pm 1.77$  –  $88.68 \pm 2.12$  arasında % inhibisyon gösterdi (Çizelge 4.8. 3).  $IC_{50}$  değerleri kök ve gövde kısımlarının etil asetat, aseton ve metanol özütleri için hesaplandı. Bunlar sırasıyla  $70 \mu\text{g/mL}$ – $85.23 \mu\text{g/mL}$ ,  $78.61 \mu\text{g/mL}$ – $112 \mu\text{g/mL}$ ,  $153.5 \mu\text{g/mL}$ – $98.90 \mu\text{g/mL}$ , BHT ve BHA için ise sırasıyla  $66.03 \mu\text{g/mL}$  ve  $28.18 \mu\text{g/mL}$  olarak bulundu.

Çalışılan konsantrasyon aralığında *A. gymnaocepias* bitkisinin hekzan özütü gövdede  $11.74 \pm 0.22$ – $18.31 \pm 2.89$ , kökte  $4.2 \pm 1.24$ – $16.62 \pm 0.22$ , etil asetat özütü gövdede  $14.02 \pm 1.39$ – $31.68 \pm 0.86$ , kökte  $4.27 \pm 1.78$ – $84.10 \pm 1.99$ , aseton özütü gövdede  $11.86 \pm 0.86$ – $55.61 \pm 0.75$ , kökte  $5.58 \pm 2.02$ – $56.07 \pm 3.61$  ve metanol özütü gövdede  $14.59 \pm 0.94$ – $86.83 \pm 2.24$ , kökte  $4.44 \pm 1.04$ – $39.62 \pm 2.11$  arasında,



pozitif kontrol olarak kullanılan BHA  $37.17 \pm 2.38 - 95.46 \pm 0.59$  arasında ve BHT  $22.99 \pm 1.77 - 88.68 \pm 2.12$  arasında % inhibisyon gösterdi (Çizelge 4.8.4).  $IC_{50}$  değerleri kök ve gövde kısımlarının etil asetat, aseton ve metanol özütleri için hesaplandı. Bunlar sırasıyla  $173-287 \mu\text{g/mL}$ ,  $185.01-187.7 \mu\text{g/mL}$ ,  $370.7-112.2 \mu\text{g/mL}$ , BHT ve BHA için ise sırasıyla  $66.03$  ve  $28.18 \mu\text{g/mL}$  olarak bulundu.

Her iki bitkiden elde edilen özütlerin serbest radikal söndürücü etkileri DPPH radikali üzerinden tayin edilmiştir. Sonuçlar test edilen konsantrasyonlarda ( $5-350 \mu\text{g/mL}$ ) pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve BHA değerleri ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre her iki bitkinin gerek kök gereksede gövde kısımlarından elde edilen hekzan özütünün DPPH radikal söndürme aktivitesinin oldukça düşük olduğu gözlemlendi. *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin  $350 \mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda kök kısmına ait etil asetat ve aseton özütlerinin pozitif kontrol olarak kullanılan BHA ile hemen hemen aynı ve BHT'den ise daha yüksek radikal söndürme aktivitesine sahip olduğu tespit edildi. Aynı bitkinin gövde kısmının özellikle metanol özütü diğer özütlerden daha yüksek aktivite göstermiş, fakat bu değerler kullanılan pozitif kontrollerden daha düşük bulunmuştur.

*A. gymnaocephias* bitkisinin DPPH radikalini söndürme aktivitesinin araştırılması sonucu elde edilen verilere göre gövde kısmında metanol özütünün kök kısmında ise etil asetat özütünün yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Kök kısmından elde edilen etil asetat özütünün ve gövde kısmından elde edilen metanol özütünün % radikal söndürme aktivitesinin BHA'dan daha düşük, BHT ile karşılaştırıldığında ise hemen hemen aynı olduğu tespit edildi.

### 4.3. TOTAL FLAVONOİD BİLEŞEN MİKTAR TAYİNİ

*A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocepias* taksonlarının gövde ve kök kısımlarından elde edilen hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin etanolde hazırlanan 2 mg/mL'lik çözeltileri içindeki total flavonoid bileşen miktar tayini Moreno yöntemi ile belirlendi. Kuersetinin metanol içindeki 500 µg/mL'lik stok çözeltisinden 15 µg/mL, 30 µg/mL, 45 µg/mL, 60 µg/mL, 75 µg/mL'lik çözeltiler hazırlandı, 415 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri grafiğe (Şekil 4.8.7). Aşağıdaki denklem elde edildi;

$$\text{Absorbans (A)} = 0.0151 \times \text{Kuersetin } (\mu\text{g})$$

Bu denklem kullanılarak *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocepias* taksonları için total flavonoid bileşen miktarı kuersetin eşdeğeri (QUE) olarak hesaplandı.

*A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde aseton  $42.20 \pm 0.46$  µg QUE/mg özüt kök kısmından elde edilen etil asetat  $4.23 \pm 0.26$  µg QUE/mg özüt içeriği ile en fazla total flavonoid bileşen içermektedir. Diğer özütlerin total flavonoid içeriklerinin gövde için sırasıyla metanol  $39.31 \pm 0.23$  µg QUE/mg özüt, hekzan  $8.58 \pm 0.30$  µg QUE/mg özüt ve etil asetat  $5.44 \pm 0.26$  µg QUE/mg özüt olarak kök için ise aseton  $4.10 \pm 0.20$  µg QUE/mg özüt, metanol  $2.31 \pm 0,23$  µg QUE/mg özüt ve hekzan  $2,31 \pm 0.26$  µg QUE/mg özüt olduğu bulundu (Çizelge 4.8.5).

*A. gymnaocepias* bitkisinin gövde aseton  $80.15 \pm 0.33$  µg QUE/mg özüt kök kısmından elde edilen etil asetat  $14.01 \pm 0.10$  µg QUE/mg özüt içeriği ile en fazla

total flavonoid bileşen içermektedir. Diğer özütlerin total flavonoid içeriği gövde için sırasıyla etil asetat  $77.67 \pm 2.41$  µg QUE/mg özüt, metanol  $36.81 \pm 0.34$  µg QUE/mg özüt ve hekzan  $11.20 \pm 0.26$  µg QUE/mg özüt olarak kök için ise metanol  $11.20 \pm 0.14$  µg QUE/mg özüt, aseton  $10.43 \pm 0.16$  µg QUE/mg özüt ve hekzan  $4.21 \pm 0.21$  µg QUE/mg özüt olarak bulundu (Çizelge.4.8.6.).

Kuersetine eşdeğer olarak belirlenen total flavonoid miktarını *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde kısmının aseton özütünün en yüksek ( $42.2$  µg QUE/mg özüt) total flavonoid miktarı içerdiği hekzan ve etil asetat özütlerinin ise hemen hemen benzer olduğu belirlendi. Aynı bitkinin kök kısmından elde edilen özütlerin gövde kısmından elde edilen özütlerden oldukça düşük total flavonoid miktarına sahip oldukları belirlendi.

*A. gymnaocepias* bitkisinin gövde kısmından elde edilen etil asetat ve aseton özütlerinin oldukça yüksek total flavonoid içerdiği hekzan özütünün ise oldukça düşük total flavonoid bileşen miktarına sahip olduğu belirlendi. Kök kısmından elde edilen özütlerin *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinde olduğu gibi oldukça düşük total flavonoid miktarına sahip olduğu belirlendi. Bu sonuçlara göre her iki bitkinde kök kısımlarında flavonoid bileşen miktarının oldukça düşük olduğu gözlemlenmektedir. Her iki bitkinin gövde kısımlarından elde edilen özütleri karşılaştırıldığında, *A. gymnaocepias* bitkisinin daha yüksek total flavonoid bileşen miktarına sahip olduğu söylenebilir.

#### **4.4. METAL ŞELATLAMA AKTİVİTESİ**

Fraksiyonlandırılmış *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocepias* taksonlarının kök ve gövde özütlerinin, metal şelatlama aktivitesi Dinis ve ark. (1994) metodu ile ölçüldü. Pozitif kontrol olarak EDTA kullanıldı. EDTA, *A.*

*diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocephias* taksonlarının kök ve gövde kısımlarının, hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin 1 mg/mL'lik stok çözeltileri hazırlandı. Her iki bitkinin gövde ve kök kısımlarından elde edilen özütlerin (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 250 µg/mL ve 350 µg/mL) ve EDTA' nın (5 µg/mL, 10 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 250 µg/mL ve 350 µg/mL) seri çözeltileri hazırlandı. UV-vis spektrofotometre cihazında 562 nm dalga boyunda absorbanans ölçüldü. Bulunan değerler *A. diphterites* var. *diphterites* ve *A. gymnaocephias* taksonları için aşağıdaki eşitlik kullanılarak % metal şelatlama aktivitesi olarak hesaplandı. Artan konsantrasyona karşı % metal şelatlama aktivitesi değerleri *A. diphterites* var. *diphterites* (Şekil 4.8.8, 4.8.9) ve *A. gymnaocephias* (Şekil 4.8.10, 4.8.11) için grafiğe geçirildi.

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

$A_0$  = Negatif kontrol numunesinin absorbanansı

$A_1$  = Bitki çözeltilisinin absorbanansı

Çalışılan konsantrasyon aralığında *A. diphterites* var. *diphterites* bitkisinin hekzan özütü gövdede  $7.39 \pm 0.60$ – $37.63 \pm 3.03$ , kökte  $12.23 \pm 0.35$ – $62.22 \pm 0.73$ , etil asetat özütü gövdede  $12.44 \pm 1.13$ – $40.49 \pm 1.86$ , kökte  $10.95 \pm 0.29$ – $32.73 \pm 0.43$ , aseton özütü gövdede  $13.09 \pm 1.34$ – $68.85 \pm 1.34$ , kökte  $4.06 \pm 0.44$ – $16.01 \pm 0.58$  ve metanol özütü gövdede  $4.11 \pm 1.33$ – $74.35 \pm 1.51$ , kökte  $13.14 \pm 0.56$ – $51.09 \pm 0.87$  arasında (Çizelge 4.8.7), *A. gymnaocephias* bitkisinin hekzan özütü gövdede  $17.92 \pm 0.65$ – $46.69 \pm 2.03$ , kökte  $13.65 \pm 0.25$ – $46.20 \pm 0.83$ , etil asetat özütü gövdede  $19.12 \pm 0.43$ – $74.96 \pm 0.89$ , kökte  $10.25 \pm 0.53$ – $43.61 \pm 0.40$ , aseton özütü

gövdede  $11.75 \pm 0.64$ – $72.96 \pm 1.00$ , kökte  $8.31 \pm 0.48$ – $37.07 \pm 0.53$  ve metanol özütü gövdede  $21.96 \pm 0.66$ – $89.63 \pm 0.58$ , kökte  $11.55 \pm 0.26$ – $76.41 \pm 0.90$  arasında pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA  $33.14 \pm 0.28$  –  $99.92 \pm 0.00$ , aralığında % metal şelatlama aktivitesi gösterdi (Çizelge 4.8.8).

Modifiye Dinis metoduna göre araştırılan metal şelatlama aktivitesinde, *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde kısmından elde edilen özütlerin aktivitesinin, özütleme işleminde kullanılan çözücülerin polarite artışına bağlı olarak artış gösterdiği ve bitkinin fenolik bileşen miktarıyla örtüşen bir yükselme sergilediği belirlendi. Kök kısmından elde edilen özütlerden hekzan ve metanol özütlerinin metal şelatlama aktivitelerinin etil asetat ve aseton özütlerinden daha yüksek ve birbirine yakın aktivite değerlerine sahip olduğu gözlemlendi. Bu bitkinin hem kök hem de gövde kısımlarından elde edilen özütler test edilen aralıkta ( $25$ - $350$   $\mu\text{g/mL}$ ), konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitede artış göstermektedir.

*A. gymnales* bitkisinin gövde kısmından elde edilen özütlerdeki metal şelatlama aktivitesindeki artış *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinde olduğu gibi polariteye bağlı olarak değişmekle birlikte daha yüksek metal şelatlama aktivitesi göstermektedir. Fakat bu bitkinin kök kısmından elde edilen özütlerden hekzan, etil asetat ve aseton özütlerinin aktivitelerinin birbirine benzer metanol özütünün ise oldukça yüksek olduğu belirlendi. Pozitif kontrol olarak kullanılan ve metal şelatlama özelliği bilinen EDTA'nın, denin konsantrasyon aralığında ( $5$ - $350$   $\mu\text{g/mL}$ )  $25$   $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyondan sonra %99'luk aktiviteye ulaştığı ve denenen en yüksek konsantrasyona kadar sabit kaldığı belirlendi. Bitkilerden *A. diphtherites* var. *diphtherites*'in EDTA ile karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda metal şelatlama aktivitesinin oldukça zayıf, yüksek

konsantasyonlarda kök hekzan ve metanol özütlerinin orta derecede, gövde aseton ve metanol özütlerinin de aynı derecede aktivite gösterdiği belirlendi. *A. gymnaocepia*s bitkisinin pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA ile metal şelatlama aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında ise gövde kısmından elde edilen metanol özütünün 250 ve 350 µg/mL'lik konsantrasyonlarda hemen hemen EDTA kadar metal şelatlama kapasitesine sahip olduğu tespit edildi.

#### 4.5. İNDİRGEME GÜCÜ

*A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocepia*s taksonlarından elde edilen özütlerin Fe<sup>+3</sup>'ü Fe<sup>+2</sup>'ye indirgemesi Oyaizu metodu (1986) ile incelendi. Fenton tipi reaksiyonlarda indirgeme gücü özellikleri bilinen BHA ve BHT pozitif kontrol olarak kullanıldı. Bitkilerin gövde ve kök kısımlarından elde edilen özütlerin ve pozitif kontrollerin 1 mg/mL'lik stok çözeltilerinden (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 250 µg/mL ve 350 µg/mL) seri çözeltiler hazırlandı. 700 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü, artan konsantrasyona karşı absorbans değerleri *A. diphtherites* var. *diphtherites* (Şekil 4.8.12, 4.8.13) ve *A. gymnaocepia*s (Şekil 4.8.14, 4.8.15) için grafiğe geçirildi.

Çalışılan konsantrasyon aralığında *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin hekzan özütü gövdede  $0.042 \pm 0.00$ – $0.154 \pm 0.01$ , kökte  $0.053 \pm 0.00$ – $0.175 \pm 0.01$ , etil asetat özütü gövdede  $0.040 \pm 0.00$ – $0.066 \pm 0.00$ , kökte  $0.051 \pm 0.00$ – $0.097 \pm 0.01$ , aseton özütü gövdede  $0.048 \pm 0.00$ – $0.226 \pm 0.03$ , kökte  $0.065 \pm 0.00$ – $0.272 \pm 0.00$  ve metanol özütü gövdede  $0.057 \pm 0.00$ – $0.181 \pm 0.03$ , kökte  $0.057 \pm 0.00$ – $0.181 \pm 0.03$ , pozitif kontrol olarak kullanılan BHA  $0.274 \pm 0.00$  –  $0.742 \pm 0.03$  ve BHT  $0.145 \pm 0.00$  –  $0.646 \pm 0.03$  arasında indirgeme gücü gösterdi. (Çizelge 4.8.9). *A.*

*gymnalocepias* bitkisinin hekzan özütü gövdede  $0.073 \pm 0.00$ – $0.127 \pm 0.01$ , kökte  $0.093 \pm 0.00$ – $0.150 \pm 0.01$ , etil asetat özütü gövdede  $0.086 \pm 0.00$ – $0.166 \pm 0.00$ , kökte  $0.087 \pm 0.00$ – $0.160 \pm 0.00$ , aseton özütü gövdede  $0.075 \pm 0.00$ – $0.156 \pm 0.03$ , kökte  $0.087 \pm 0.00$ – $0.131 \pm 0.00$  ve metanol özütü gövdede  $0.080 \pm 0.00$ – $0.140 \pm 0.03$ , kökte  $0.086 \pm 0.00$ – $0.105 \pm 0.00$ , pozitif kontrol olarak kullanılan BHA  $0.185 \pm 0.00$  –  $0.652 \pm 0.03$  ve BHT  $0.92 \pm 0.00$ – $0.535 \pm 0.03$  arasında indirgeme gücü gösterdi (Çizelge 4.8.10).

Spektroskopik olarak 700 nm’de  $Fe^{+3}$ ’ün  $Fe^{+2}$ ’ye indirgenmesi ile absorpsiyon şiddetindeki artışın ölçülmesine dayanan Oyaizu metoduna göre, indirgeme gücünün aktivitesinin araştırılmasında, *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde kısmından elde edilen özütlerin total flavonoid miktarındaki artışla ilişkili olarak aktivite gösterdiği görülmektedir. Bu bitkinin en yüksek total flavonoid miktarına sahip olan gövde aseton özütünde ( $42.20 \mu\text{g QUE/mg}$  özüt) indirgeme gücünün de en yüksek olduğu belirlendi (700 nm’de absorbans 0,226). Bitkinin gövde kısmının hekzan, etil asetat ve metanol özütlerindeki total flavonoid miktarı ile indirgeme gücünün paralellik gösterdiği görülmektedir. *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin kök kısmından elde edilen özütlerden aseton özütü, gövde de olduğu gibi yüksek indirgeme gücü göstermiştir. Total fenolik bileşen miktarı kök aseton özütünde yüksek bulunmuştur.

*A. gymnalocepias* bitkisinin hem kök hemde gövde kısmından elde edilen özütlerin hemen hemen hepsinin konsantrasyonla artan benzer indirgeme gücüne sahip olduğu belirlendi.

*A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin hem kök hemde gövde aseton özütlerinin indirgeme gücü aktivitelerin en yüksek olmasına rağmen pozitif kontrol

olarak kullanılan BHT ve BHA ile karşılaştırıldığında orta derecede aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin diğer özütlerinin ve *A. gymnalocepias* bitkisinin bütün özütlerinin konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdiği ancak pozitif kontrollerle karşılaştırıldığında oldukça düşük aktivite değerlerine sahip oldukları belirlendi.

#### 4.6. OH RADİKALİ SÖNDÜRME AKTİVİTESİ

Bitki özütlerinin farklı konsantrasyonlarının deoksiriboz metodu ile  $Fe^{2+}$ /Askorbat/EDTA/ $H_2O_2$  sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi incelendi. Bu yöntem bazı eşitliklere dayanır. Hidroksi radikali deoksiriboza saldırır, bir seri reaksiyon sonucu malondialdehit (MDA) oluşur. Reaksiyon sonucu oluşan MDA ortam ilave edilmiş TBA (2-tiyobarbitürik asit) ile reaksiyona girer ve reaksiyon sonucunda pembe renkli ve 532 nm'de absorbans veren MDA-TBA kompleksini meydana getirir.

*A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias* türlerinden elde edilen bitki özütlerinin 1 mg/mL'lik stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 5–100 µg/mL olacak şekilde seyreltmeler yapıldı. Pozitif kontrol olarak radikal söndürme özelliği olduğu bilinen DMSO kullanıldı. Negatif kontrol, sadece özüt ve pozitif kontrol içermeyen test örneğidir. Artan konsantrasyona karşı *A. diphtherites* var. *diphtherites* (Şekil 4.8.16, 4.8.17) ve *A. gymnalocepias* (Şekil 4.8.18, 4.8.19) için % inhibisyon değerleri grafiğe geçirildi. *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias* için % inhibisyon değerleri için aşağıdaki formüle göre hesaplandı.



$$\% I = [ ( A_{\text{KONTROL}} - A_{\text{ÖRNEK}} ) / A_{\text{KONTROL}} ] \times 100$$

$A_{\text{KONTROL}}$  = Negatif kontrol numunesinin absorbanası

$A_{\text{ÖRNEK}}$  = Bitki çözeltilisinin absorbanası

Çalışılan konsantrasyon aralığında *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin hekzan özütü gövdede  $56.42 \pm 4.01$ – $62.71 \pm 3.35$ , kökte  $60.54 \pm 3.14$ – $67.45 \pm 2.76$ , etil asetat özütü gövdede  $73.74 \pm 2.16$ – $82.60 \pm 1.32$ , kökte  $83.74 \pm 1.18$ – $88.82 \pm 0.37$ , aseton özütü gövdede  $62.78 \pm 3.70$ – $69.07 \pm 3.07$ , kökte  $81.51 \pm 0.61$ – $86.42 \pm 0.56$  ve metanol özütü gövdede  $73.01 \pm 2.61$ – $81.26 \pm 1.57$ , kökte  $72.38 \pm 4.69$ – $78.49 \pm 3.60$  arasında (Çizelge 4.8.11), *A. gymnaocepias* bitkisinin hekzan özütü gövdede  $45.03 \pm 4.19$ – $72.88 \pm 1.53$ , kökte  $74.04 \pm 0.68$ – $87.32 \pm 0.55$ , etil asetat özütü gövdede  $75.02 \pm 1.80$ – $90.89 \pm 0.90$ , kökte  $69.30 \pm 1.12$ – $89.37 \pm 0.48$ , aseton özütü gövdede  $72.33 \pm 1.67$ – $90.15 \pm 1.29$ , kökte  $71.14 \pm 0.70$ – $89.00 \pm 1.07$  ve metanol özütü gövdede  $73.48 \pm 1.98$ – $90.02 \pm 0.71$ , kökte  $70.67 \pm 0.53$ – $84.47 \pm 0.82$  arasında ve pozitif kontrol olarak kullanılan DMSO  $74.21 \pm 3.95$ – $93.15 \pm 2.25$ , aralığında % hidroksi radikali söndürme aktivitesi gösterdi (Çizelge 4.8.12).

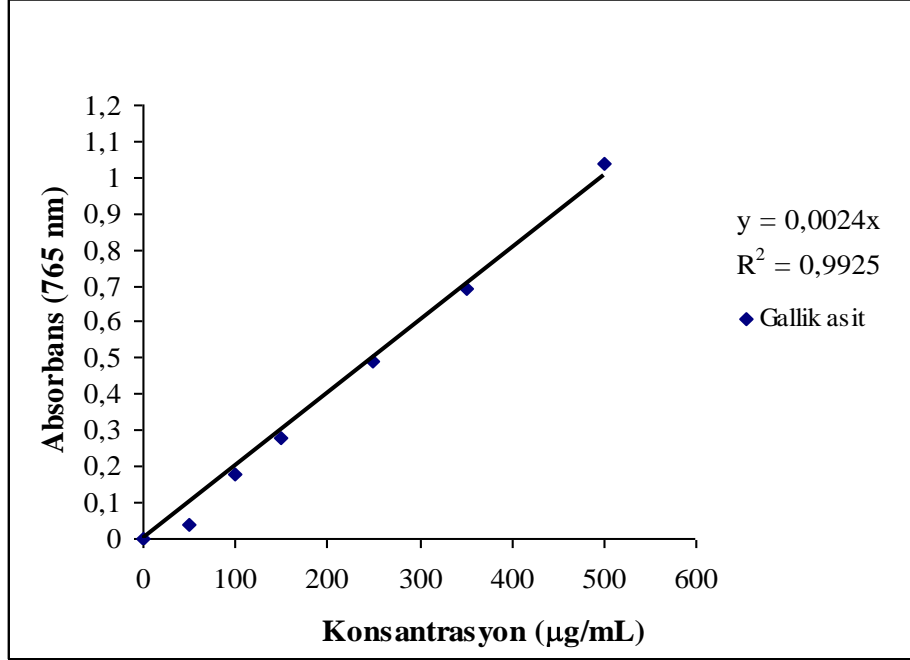
DMSO'nun pozitif kontrol olarak kullanıldığı (5-100 µg/mL) OH radikali söndürme aktivitesi deneylerinde, her iki bitkiden elde edilen özütlerin aktivitelerin benzer ve pozitif kontrolden daha düşük olduğu belirlendi

#### 4. 7. ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE

*A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocepias* türlerinin gövde ve kök kısımlarından elde edilen özütlerinin Antimikrobiyal aktivitelerini disk difüzyon yöntemi ile test etmek için; *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 kullanıldı. Standart antibiyotik olarak Eritromisin (E, 15 µg), Amoksisilin (20 µg)/Klavulonik asit (10 µg) (AMC, 30 µg), Ofloksasin (OFX, 5 µg), Netilmisin (NET, 30 µg) ile klinikte antifungal ajan olarak bilinen Amfoterisin B (30 µg) kullanıldı. Kullanılan antibiyotiklerin ve antifungal ajanın gösterdiği inhibisyon zon çapları şöyledir; Eritromisin standart antibiyotiğinin *E. coli*, *S. aureus*, *S. pyogenes* *P. aeruginosa* ve *B. subtilis* mikroorganizmalarına karşı sırasıyla 14 mm, 14 mm, >30 mm, *P. aeruginosa* eritromycine karşı direnç gösterdi, >30 mm inhibisyon zon çapı oluşturdu. AMC antibiyotiği sırasıyla 20 mm, >30 mm, 30 mm, *P. aeruginosa* AMC'ye karşı direnç gösterdi, 24 mm inhibisyon zon çapı oluşturdu. Ofloksasin antibiyotiği sırasıyla 28 mm, 20 mm, 22 mm, 14 mm, 26 mm inhibisyon zon çapı oluşturdu. NET antibiyotiği sırasıyla 26 mm, 18 mm, >30 mm, 20 mm, >30 mm inhibisyon zon çapı oluşturdu. Amfoterisin B, *C. albicans* ATCC 10231'e karşı 30 mm inhibisyon zon çapı oluşturdu (Çizelge 4.8.13-Çizelge 4.8.14). *A. gymnaocepia*s gövde, aseton ve metanol (160 µg/kağıt disk) özütlerinin *S. pyogenes*'in büyümesi üzerinde sırasıyla 15 mm ve 12 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu gözlemlendi. Diğer bitki özütlerinin mikroorganizmaların büyümesi üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadığı gözlemlendi (Resim 4.8.1-4.8.8).

#### 4. 8. ÇİZELGELER, ŞEKİLLER, RESİMLER

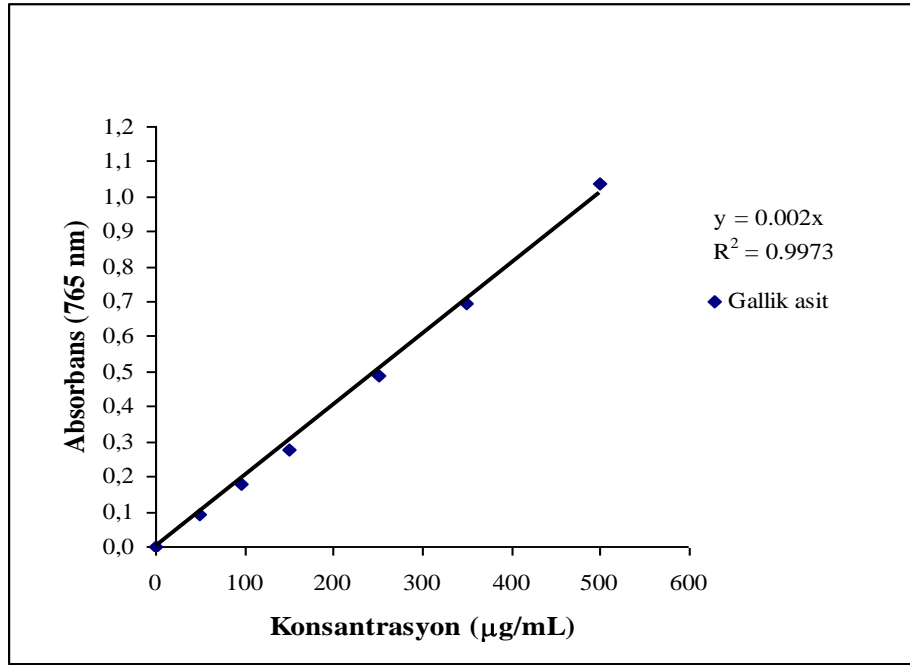


Şekil 4.8.1. *A. diptherites* var. *diptherites* bitkisinden elde edilen gövde ve kök özütlerinin gallik asidin artan konsantrasyonlarına karşılık ölçülen absorbans değerlerinin grafiği.

Çizelge 4.8.1. *A. diptherites* var. *diptherites* bitkisinin hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin içindeki gallik aside eşdeğer total fenolik bileşen miktarları.

Özütler	Gallik asit eşdeğerleri <sup>a</sup>	
	Gövde (µg GAE/mg özüt)	Kök (µg GAE/mg özüt)
Hekzan	19.7 ± 1.4	32.5 ± 1.4
Etil asetat	23.5 ± 0.9	27.2 ± 0.9
Aseton	32.4 ± 0.8	48.02 ± 1.5
Metanol	76.1 ± 0.9	30.7 ± 1.5

<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir (n=3).

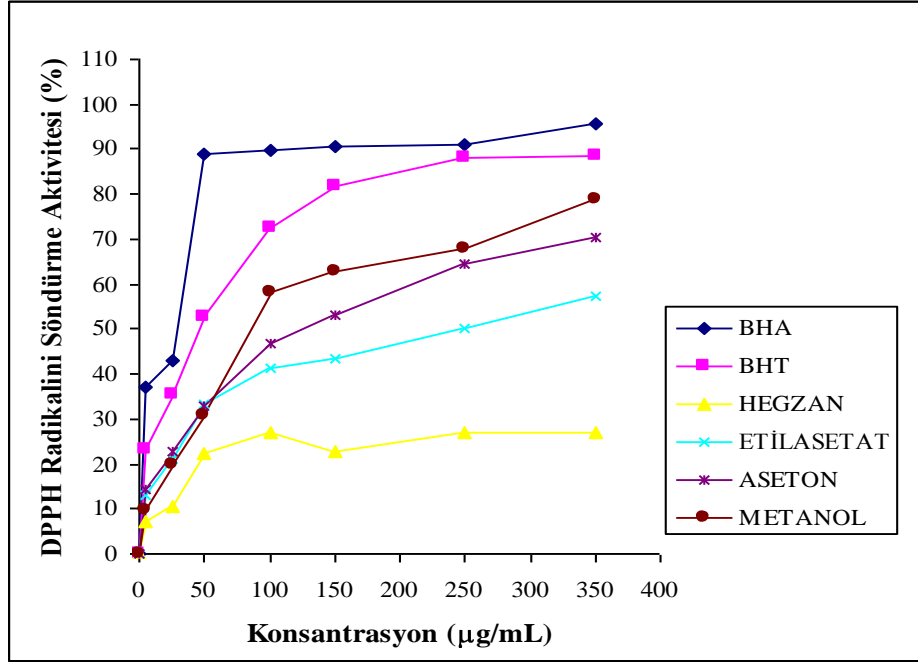


**Şekil 4.8.2.** *A. gymnalocepias* bitkisinden elde edilen gövde ve kök özütlerinin gallik asitin artan konsantrasyonlarına karşılık ölçülen absorbans değerlerinin grafiği.

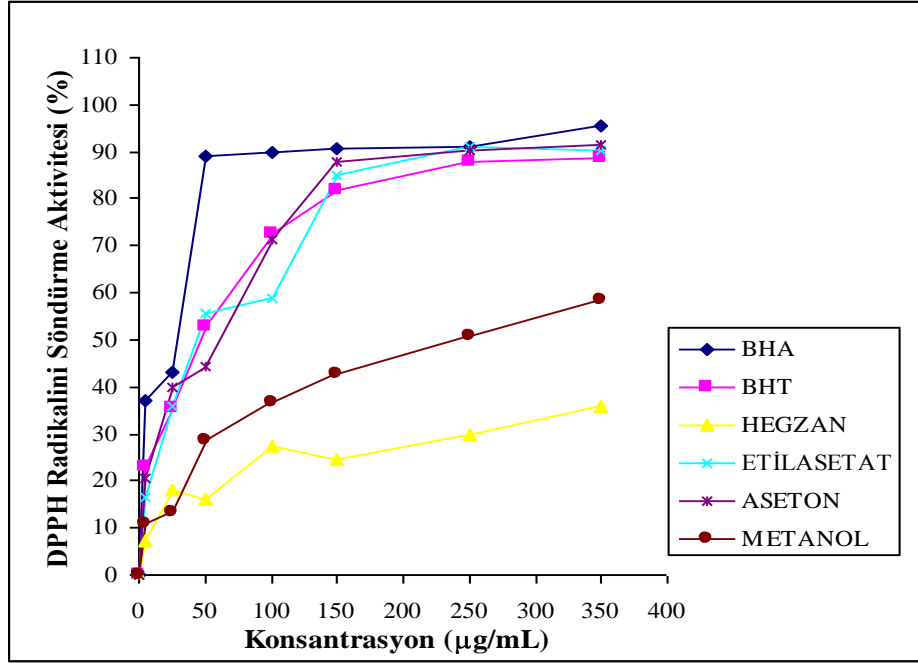
**Çizelge 4.8.2.** *A. gymnalocepias* bitkisinin hekzan, etil asetat, aseton ve metanol özütlerinin içindeki gallik asite eşdeğer total fenolik bileşen miktarları.

Özütler	Gallik asit eşdeğerleri <sup>a</sup>	
	Gövde (µg GAE/mg özüt)	Kök (µg GAE/mg özüt)
Hekzan	32.33 ± 1.75	32.33 ± 1.52
Etil asetat	40.83 ± 1.25	35.83 ± 1.75
Aseton	42.33 ± 2.75	19.66 ± 1.75
Metanol	54.66 ± 2.25	17.66 ± 1.25

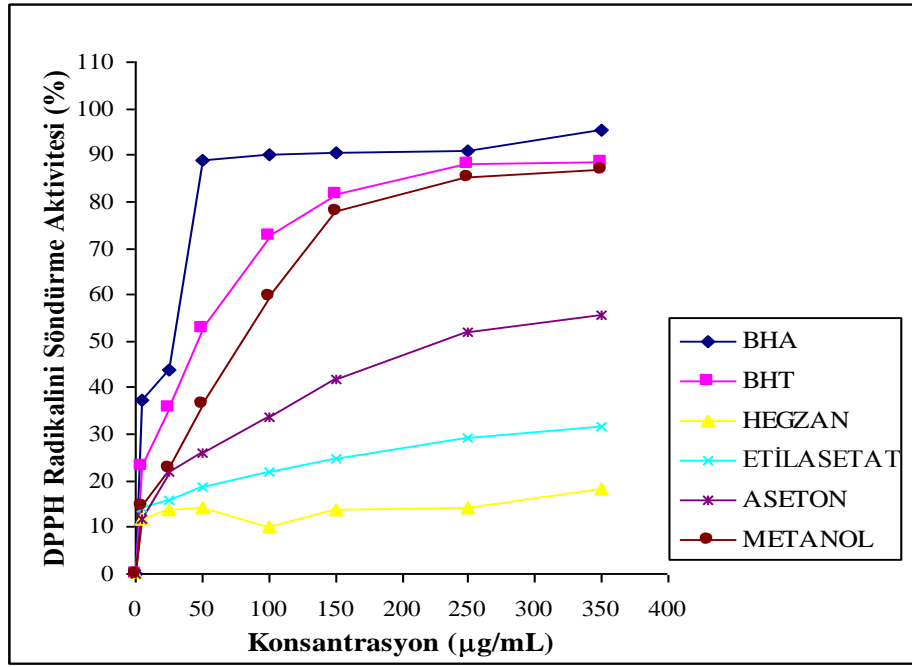
<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir (n=3).



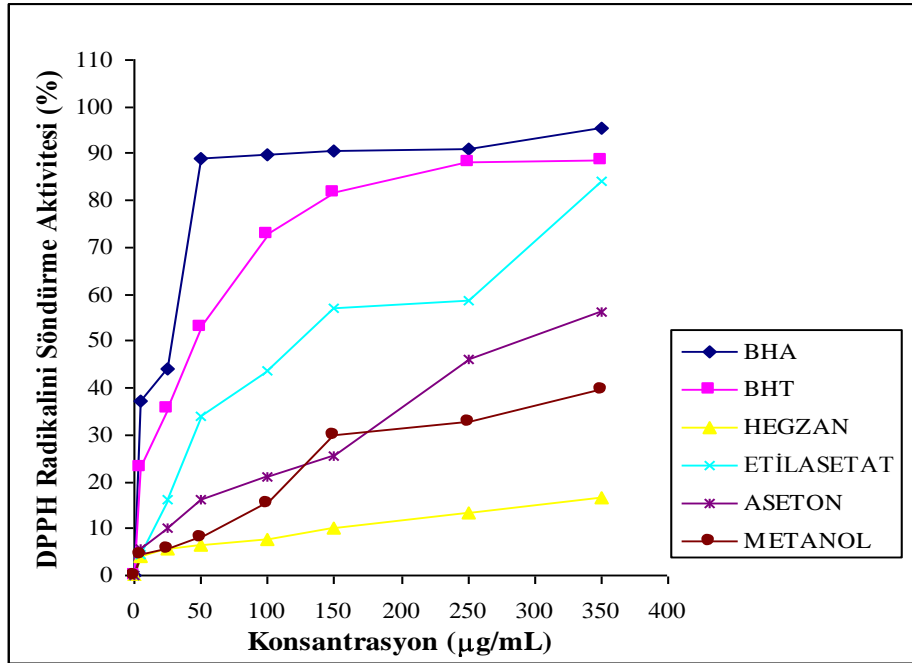
Şekil 4.8.3. *A. diptherites* var. *diptherites* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda DPPH radikalini söndürme aktivitesinin spektrofotometrik analiz verileri.



Şekil 4.8.4. *A. diptherites* var. *diptherites* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda DPPH radikalini söndürme aktivitesinin spektrofotometrik analiz verileri.



Şekil 4.8.5. *A. gymnaocephias* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda DPPH radikalini söndürme aktivitesinin spektrofotometrik analiz verileri.



Şekil 4.8.6. *A. gymnaocephias* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda DPPH radikalini söndürme aktivitesinin spektrofotometrik analiz verileri.

**Çizelge 4.8.3.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin DPPH radikalini söndürme aktivitelerinin % inhibisyon değerleri.

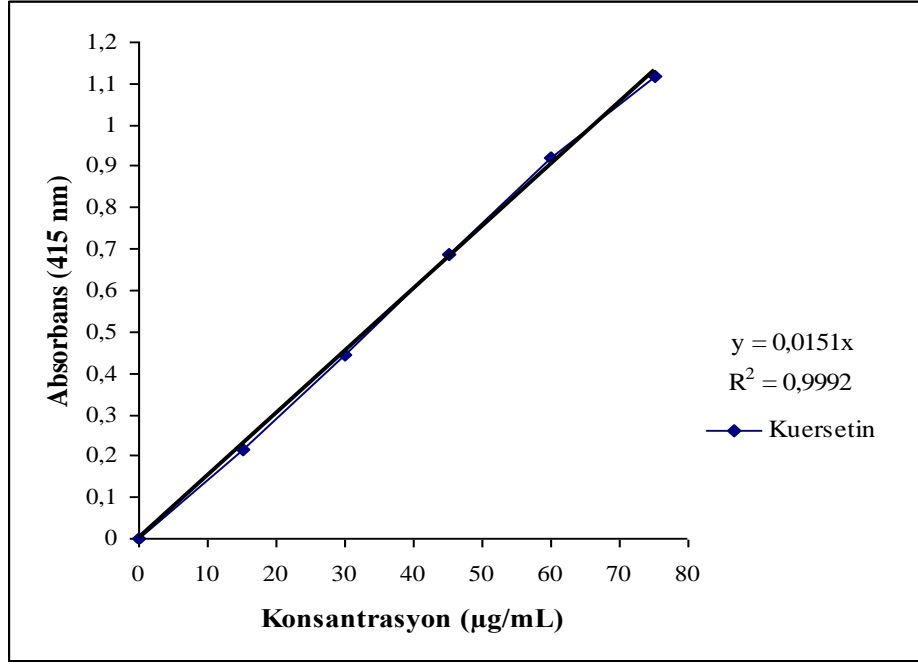
% İnhibisyon Değerleri <sup>a</sup>										
Konsantrasyon (µg/mL)	Gövde Özütləri				Kök Özütləri				Pozitif Kontrol	
	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	BHA	BHT
5	7.2±0.98	12.98±0.24	14.53±2.69	9.85±0.64	7.2±0.95	16.7±1.61	20.39±1.71	10.72±1.49	37.17±2.38	22.99±1.77
25	10.57±1.51	20.87±0.68	22.76±2.7	19.73±2.84	17.97±0.53	35.71±4.34	40.01±1.71	13.19±3.18	43.19±4.23	35.59±3.31
50	22.37±4.62	33.38±2.10	32.72±0.35	30.58±0.66	16.27±0.56	55.47±7.57	44.46±2.40	28.66±2.08	88.98±1.76	52.88±1.88
100	27.1±3.39	41.39±2.02	46.78±3.88	58.16±1.84	27.32±0.70	58.99±1.51	71.13±3.04	36.53±1.19	89.96±1.45	72.63±1.22
150	22.56±1.28	43.23±2.68	52.95±0.68	62.92±1.95	24.63±1.46	85.06±0.84	87.64±0.8	42.52±3.17	90.49±1.56	81.67±0.52
250	27.12±1.46	50.15±2.98	64.34±1.32	68.06±2.35	29.96±1.01	90.91±0.13	90.38±0.62	50.74±0.80	90.92±1.50	88.00±2.30
350	27.07±0.86	57.34±1.11	70.48±0.53	79.01±0.74	35.92±1.59	90.26±0.37	91.55±0.24	58.41±0.89	95.46±0.59	88.68±2.12

<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir (n=3).

**Çizelge 4.8.4.** *A. gymnaocepis* bitkisinin DPPH radikalini söndürme aktivitelerinin % inhibisyon değerleri.

% İnhibisyon Değerleri <sup>a</sup>										
Konsantrasyon (µg/mL)	Gövde Özütləri				Kök Özütləri				Kontrol	
	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	BHA	BHT
5	11.74±0.22	14.02±1.39	11.86±0.86	14.59±0.94	4.2±1.24	4.27±1.78	5.58±2.02	4.44±1.04	37.17±2.38	22.99±1.77
25	13.98±1.65	15.74±0.79	21.85±2.01	22.66±0.33	5.71±1.16	16.35±2.66	10.11±2.68	5.73±1.97	43.19±4.23	35.59±3.31
50	14.22±2.21	18.84±1.70	25.97±0.33	36.36±1.00	6.59±1.37	33.98±3.86	16.23±3.13	8.22±1.76	88.98±1.76	52.88±1.88
100	10.31±2.19	21.77±0.43	33.60±2.54	59.62±2.55	7.65±0.18	43.71±3.50	21.03±1.96	15.24±2.30	89.96±1.45	72.63±1.22
150	13.90±1.23	24.78±1.87	41.82±2.36	78.02±3.56	10.06±0.16	58.69±3.19	25.57±4.09	30.10±2.53	90.49±1.56	81.67±0.52
250	14.29±0.67	29.20±2.00	52.02±1.32	85.13±2.01	13.34±0.46	76.84±2.66	45.91±4.06	32.65±2.90	90.92±1.50	88.00±2.30
350	18.31±2.89	31.68±0.86	55.61±0.75	86.83±2.24	16.62±0.22	84.10±1.99	56.07±3.61	39.62±2.11	95.46±0.59	88.68±2.12

<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir (n=3).



**Şekil 4.8.7.** Kuersetin'inin artan konsantrasyonlarına karşılık ölçülen absorbans değerlerinin grafiği.

**Çizelge 4.8.5.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin kuersetine eşdeğer total flavonoid bileşen miktarları.

Özütler	Kuersetin Eşdeğerleri <sup>a</sup>	
	Gövde (µg QUE /mg özüt)	Kök (µg QUE /mg özüt)
Hekzan	8.58 ± 0.30	2.31 ± 0.26
Etil asetat	5.44 ± 0.16	4.23 ± 0.26
Aseton	42.20 ± 0.46	4.10 ± 0.20
Metanol	39.31 ± 0.23	2.31 ± 0.23

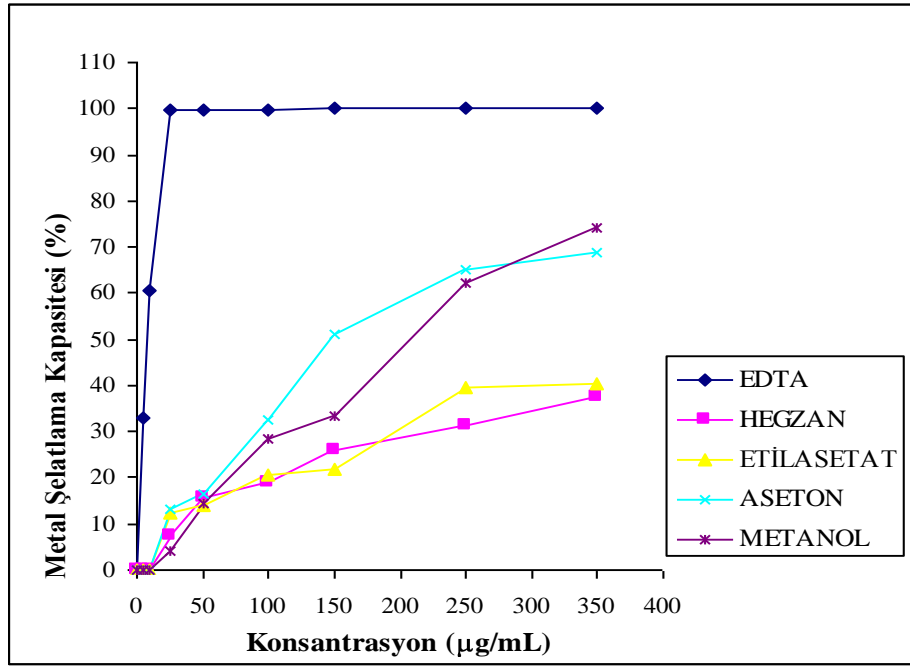
<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir (n=3).



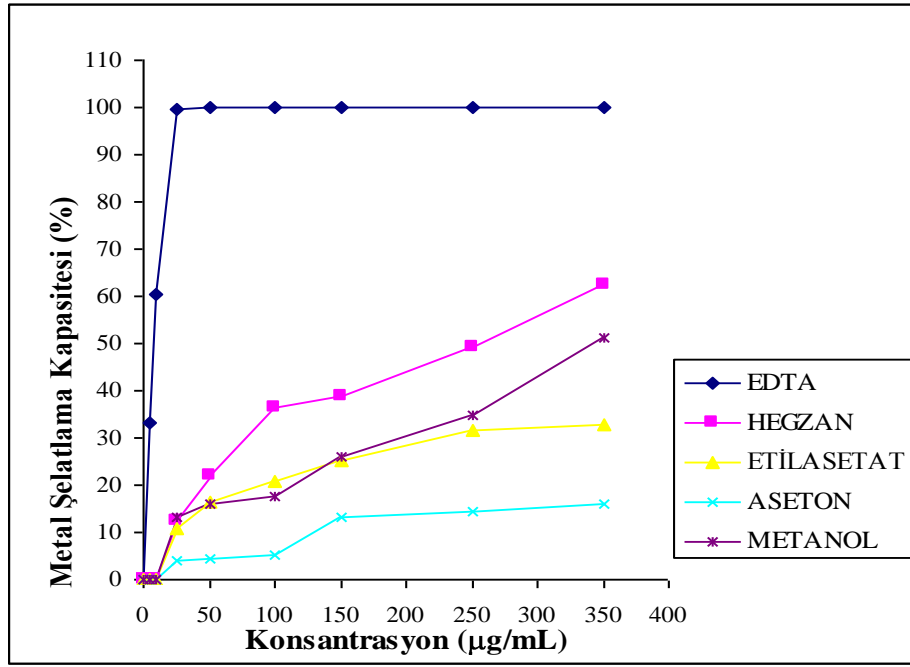
**Çizelge 4.8.6.** *A. gymnalocepias*'ın kuersetin'e eşdeğer total flavonoid bileşen miktarları.

Özütler	Kuersetin Eşdeğerleri <sup>a</sup>	
	Gövde (µg QUE /mg özüt)	Kök (µg QUE /mg özüt)
Hekzan	11.20 ± 0.26	4.21 ± 0.21
Etil asetat	77.67 ± 2.41	14.01 ± 0.10
Aseton	80.15 ± 0.33	10.43 ± 0.16
Metanol	36.81 ± 0.34	11.20 ± 0.14

<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir (n=3).



**Şekil 4.8.8.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda metal şelatlama kapasitesi grafiği.

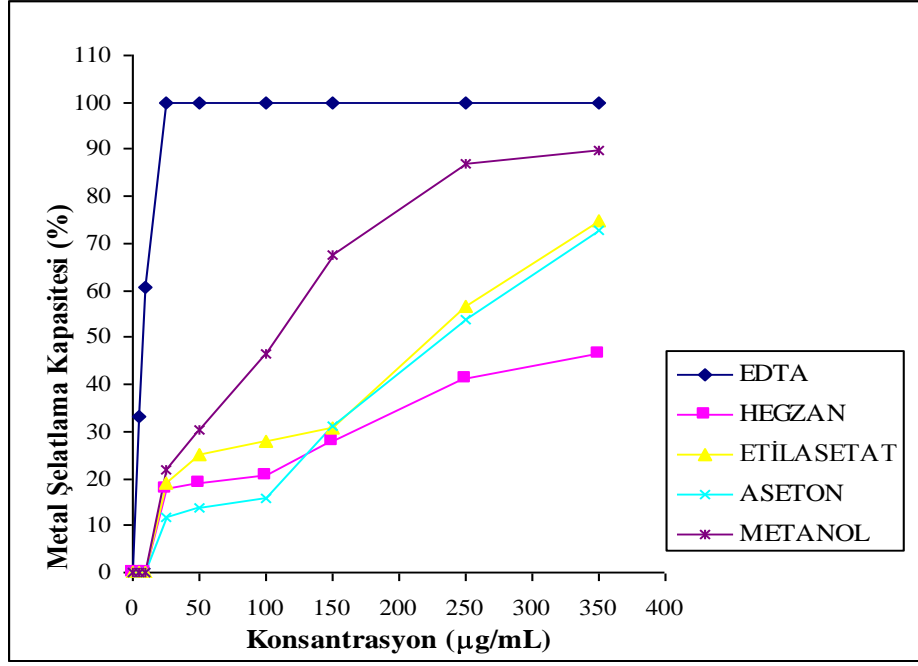


Şekil 4.8.9. *A. diptherites* var. *diptherites* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda metal şelatlama kapasitesi grafiği.

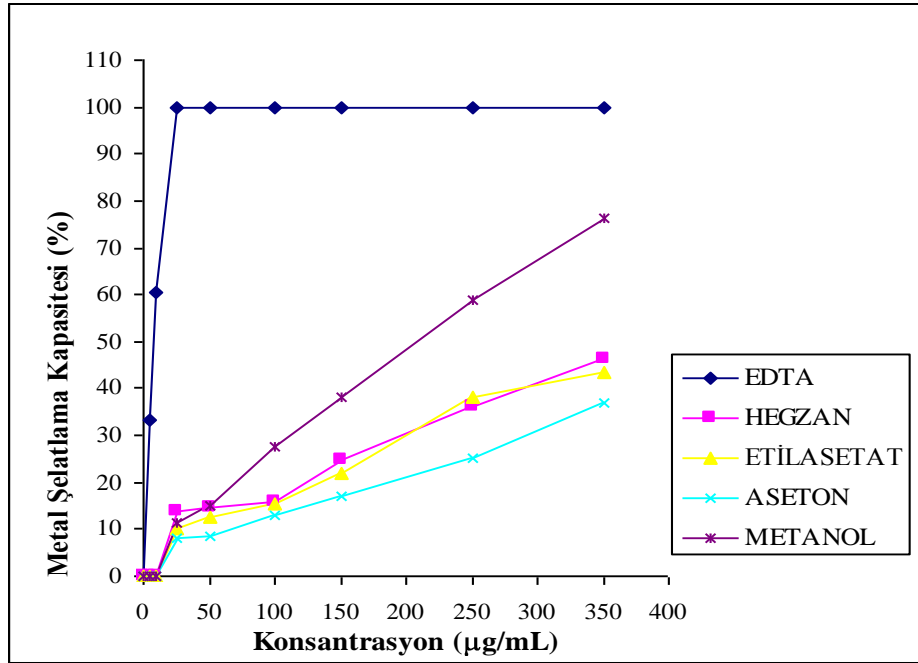
Çizelge 4.8.7. *A. diptherites* var. *diptherites* bitkisinin  $Fe^{+2}$ -ferrozine kompleksinin inhibisyon yüzdesi verileri.

% İnhibisyon Değerleri <sup>a</sup>									
Konsantrasyon (µg/mL)	Gövde Özütleri				Kök Özütleri				Kontrol
	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	EDTA
5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	33.14±0.28
10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	60.30±0.20
25	7.39±0.60	12.44±1.13	13.09±1.34	4.11±1.33	12.23±0.35	10.95±0.29	4.06±0.44	13,14±0,56	99.76±0.00
50	15.57±1.02	14.11±1.31	16.32±1.36	14.29±0.55	22.18±0.31	16.58±0.32	4.53±0.48	16,01±0,66	99.81±0.04
100	18.98±0.69	20.54±100	32.71±1.30	28.56±0.71	36.22±0.21	20.75±0.23	5.23±0.64	17,60±0,53	99.84±0.00
150	24.06±1.15	22.03±1.44	51.01±1.18	33.38±1.36	38.69±0.74	25.12±0.22	13.25±0.32	26,19±0,62	99.89±0.00
250	31.46±2.26	39.42±1.24	65.06±2.61	62.11±1.52	49.30±0.40	31.45±0.19	14.24±0.61	34,62±0,76	99.89±0.00
350	37.63±3.03	40.49±1.86	68.85±1.34	74.35±1,51	62.42±0.73	32.73±0.43	16.01±0.58	51,09±0,87	99,92±0,00

<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir (n=3).



Şekil 4.8.10. *A. gymnaocephias* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda metal şelatlama kapasitesi grafiği.

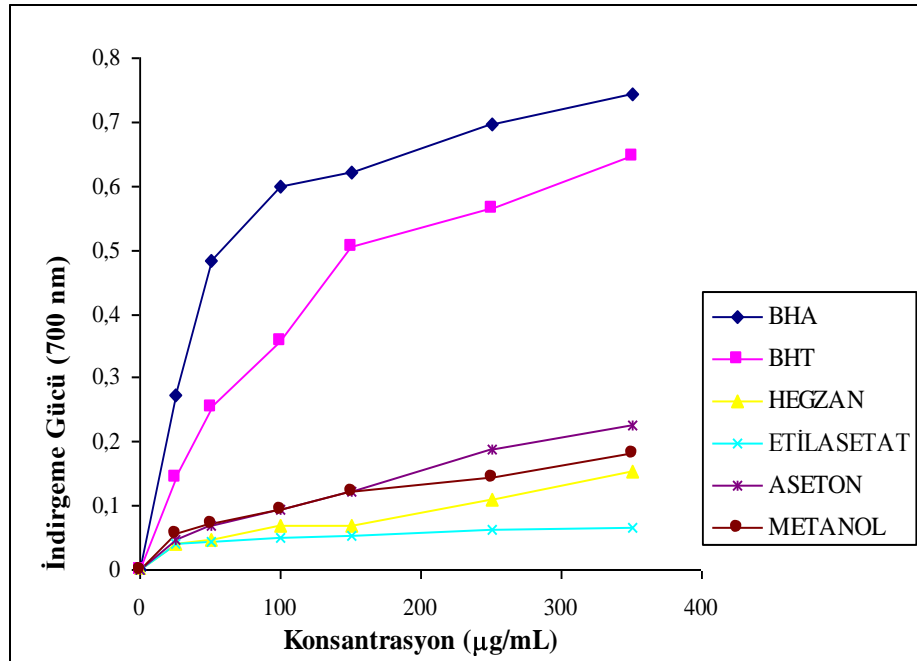


Şekil 4.8.11. *A. gymnaocephias* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda metal şelatlama kapasitesi grafiği.

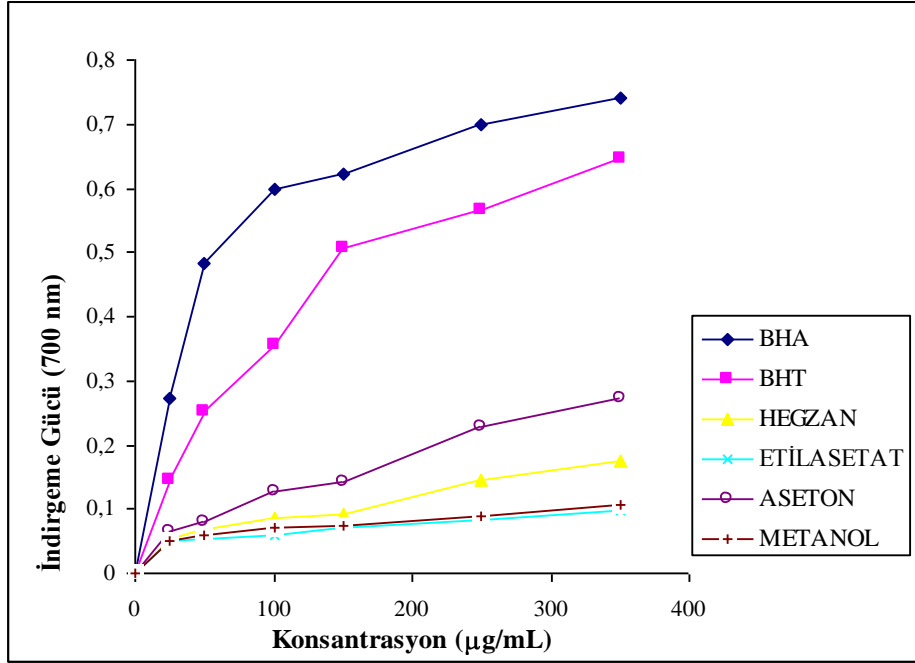
**Çizelge 4.8.8.** *A. gymnalocepias* bitkisinin  $Fe^{+2}$ -ferrozine kompleksinin inhibisyon yüzdesi verileri.

Fe <sup>+2</sup> -Ferrozin kompleksinin % İnhibisyon Değerleri <sup>a</sup>									
Konsantrasyon (µg/mL)	Gövde Özütləri				Kök Özütləri				Kontrol
	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	EDTA
5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	33.14±0.28
10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	60.30±0.20
25	17.92±0.65	19.12±0.43	11.75±0.64	21.96±0.66	13.65±0.25	10.25±0.53	8.31±0.48	11.55±0.26	99.76±0.00
50	19.12±0.34	25.26±0.38	13.59±0.36	30.41±0.75	14.45±0.34	12.68±0.30	8.72±0.45	14.86±0.46	99.81±0.04
100	20.50±0.39	27.95±1.08	15.82±0.84	46.46±0.77	15.83±0.18	15.26±0.24	12.84±0.56	27.54±0.53	99.84±0.00
150	27.80±0.14	30.56±0.42	31.18±1.06	67.35±0.86	24.63±0.66	21.72±0.28	17.12±0.22	38.04±0.69	99.89±0.00
250	41.39±1.02	56.52±0.24	53.68±1.67	86.86±2.01	36.02±0.32	38.04±0.26	25.20±0.60	58.80±0.76	99.89±0.00
350	46.69±2.03	74.96±0.89	72.96±1.00	89.63±0.58	46.20±0.83	43.61±0.40	37.07±0.53	76.41±0.90	99.92±0.00

<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir (n=3).



**Şekil 4.8.12.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde özütlерinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ ü  $Fe^{+2}$ ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verilerinin grafiği.

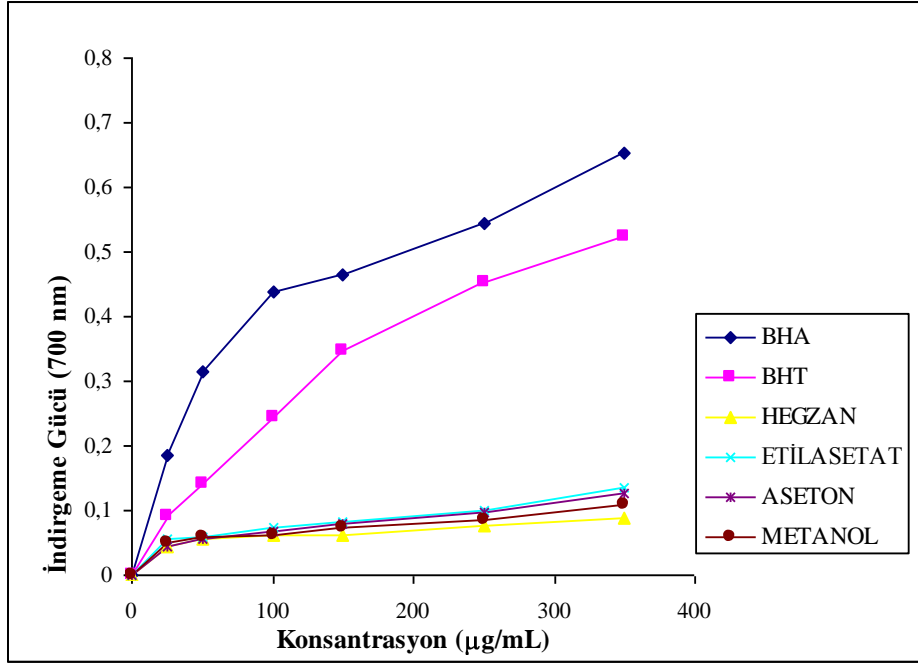


**Şekil 4.8.13.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verilerinin grafiği.

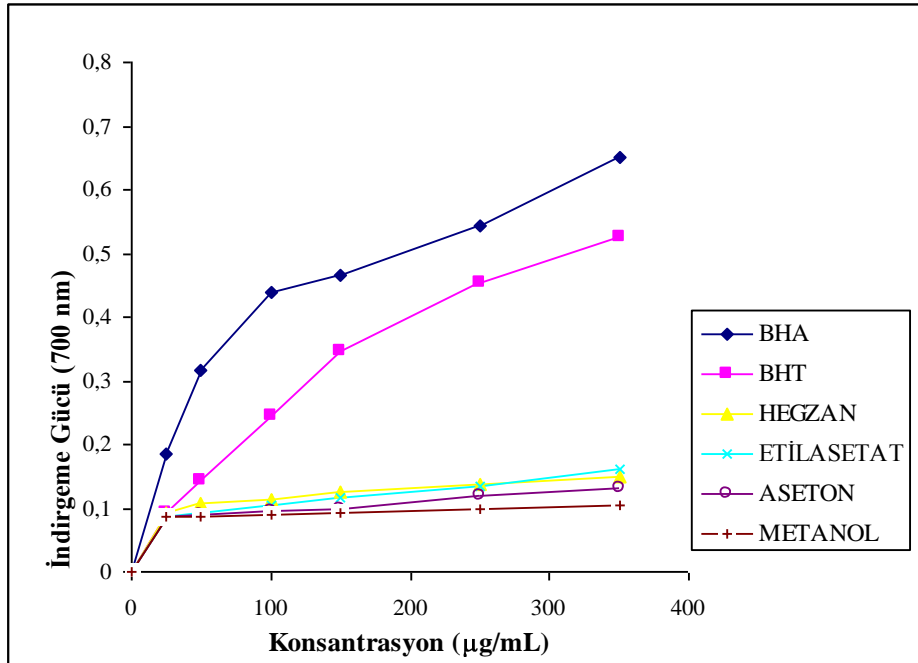
**Çizelge 4.8.9.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* gövde ve kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verileri.

İndirgeme Gücü Aktivitesi <sup>a</sup>										
Konsantrasyon (µg/mL)	Gövde Özütleri				Kök Özütleri				Kontrol	
	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	BHA	BHT
25	0,042±0,00	0,040±0,00	0,048±0,00	0,057±0,00	0,053±0,00	0,051±0,00	0,065±0,01	0,050±0,00	0,274±0,00	0,145±0,00
50	0,047±0,00	0,043±0,02	0,069±0,00	0,071±0,01	0,067±0,00	0,054±0,01	0,080±0,00	0,060±0,00	0,483±0,02	0,253±0,01
100	0,069±0,00	0,050±0,00	0,094±0,01	0,093±0,02	0,086±0,00	0,058±0,00	0,128±0,02	0,071±0,01	0,600±0,01	0,375±0,00
150	0,070±0,00	0,053±0,01	0,121±0,00	0,122±0,00	0,091±0,02	0,070±0,00	0,143±0,01	0,075±0,00	0,622±0,01	0,506±0,00
250	0,110±0,03	0,063±0,00	0,188±0,01	0,145±0,00	0,110±0,00	0,084±0,02	0,229±0,00	0,089±0,03	0,698±0,00	0,565±0,02
350	0,154±0,01	0,066±0,00	0,226±0,03	0,181±0,03	0,175±0,01	0,097±0,01	0,272±0,00	0,108±0,02	0,742±0,03	0,646±0,03

<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir (n=3).



Şekil 4.8.14. *A. gymnaocephalis* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verilerinin grafiği.

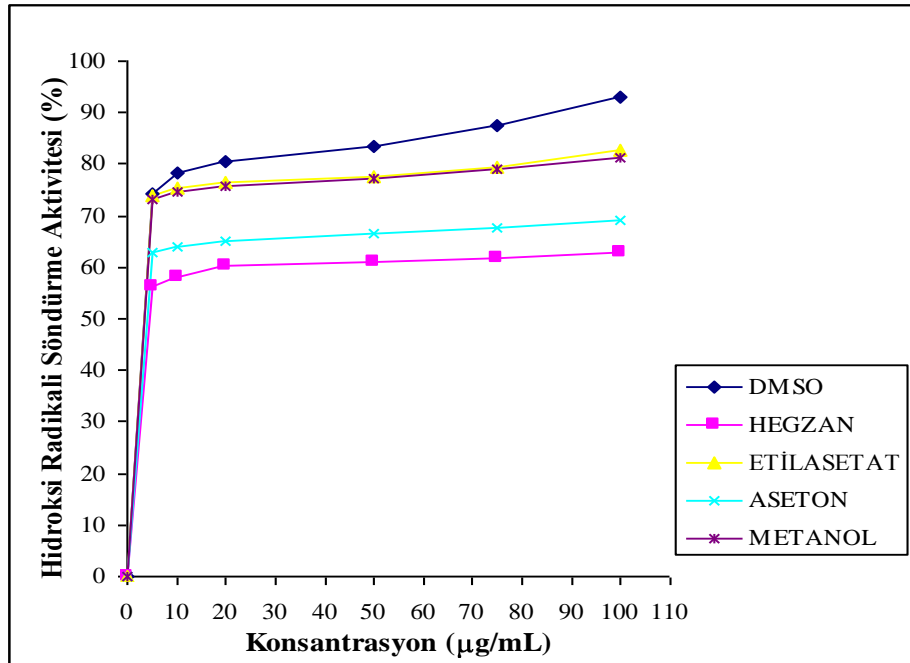


Şekil 4.8.15. *A. gymnaocephalis* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verilerinin grafiği.

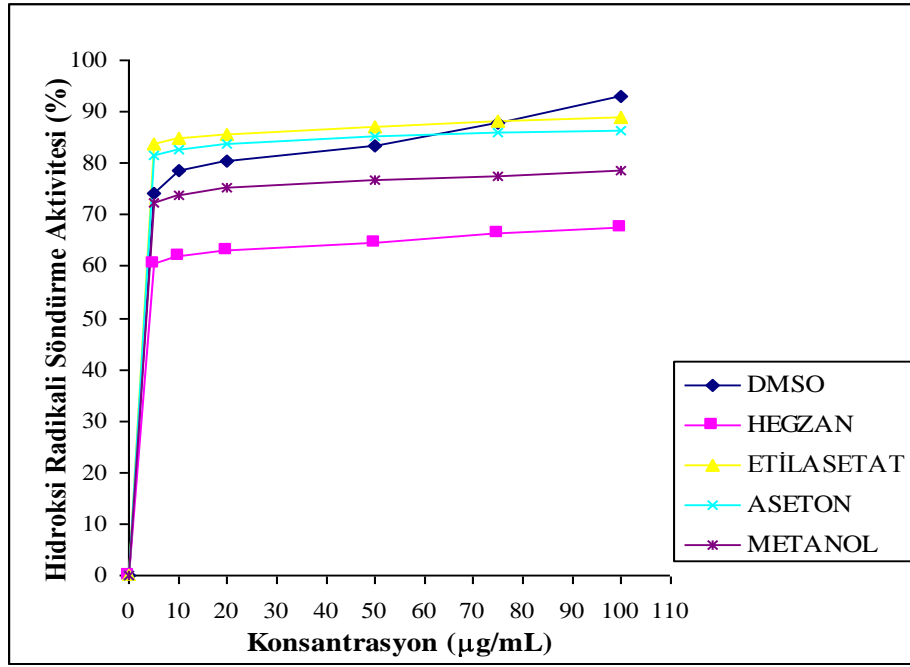
**Çizelge 4.8.10.** *A. gymna-locepias* gövde ve kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda Fe<sup>+3</sup>,ü Fe<sup>+2</sup>,ye indirgeme gücünün spektrofotometrik analiz verileri.

İndirgeme Gücü Aktivitesi <sup>a</sup>										
Konsantrasyon (µg/mL)	Gövde Özütleri				Kök Özütleri				Kontrol	
	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	BHA	BHT
25	0.073±0.00	0.086±0.00	0.075±0.00	0.080±0.00	0.093±0.00	0.087±0.00	0.087±0.00	0.086±0.00	0.185±0.00	0.092±0.00
50	0.085±0.00	0.089±0.01	0.085±0.00	0.089±0.01	0.108±0.00	0.092±0.01	0.090±0.00	0.088±0.01	0.316±0.02	0.142±0.01
100	0.092±0.00	0.103±0.00	0.098±0.01	0.092±0.02	0.114±0.00	0.105±0.00	0.096±0.02	0.090±0.00	0.438±0.01	0.244±0.00
150	0.093±0.00	0.112±0.00	0.109±0.00	0.103±0.00	0.125±0.01	0.116±0.00	0.100±0.01	0.093±0.00	0.466±0.02	0.346±0.02
250	0.097±0.03	0.129±0.00	0.127±0.01	0.115±0.00	0.137±0.00	0.134±0.02	0.118±0.00	0.100±0.03	0.544±0.00	0.454±0.00
350	0.127±0.01	0.166±0.00	0.156±0.03	0.140±0.03	0.150±0.01	0.160±0.00	0.131±0.00	0.105±0.00	0.652±0.03	0.525±0.03

<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar (SD) hesaplanarak verilmiştir (n=3).



**Şekil 4.8.16.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda TBA metodu ile Fe<sup>2+</sup>/Askorbat/EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi (%).



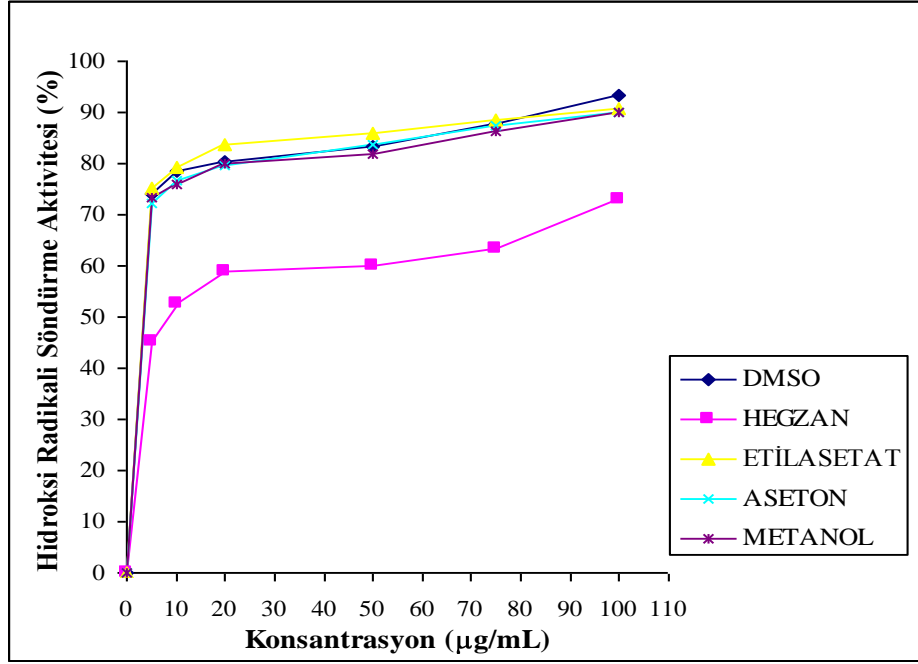
**Şekil 4.8.17.** *A. diptherites* var. *diptherites* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda TBA metodu ile  $Fe^{2+}$ /Askorbat/EDTA/ $H_2O_2$  sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi (%).

**Çizelge 4.8.11.** *A. diptherites* var. *diptherites* bitkisinin farklı polariteye sahip çözücüler ile hazırlanan özütlerinin ve DMSO' nun farklı konsantrasyonlarının TBA metodu ile OH radikalini söndürme gücü (%).

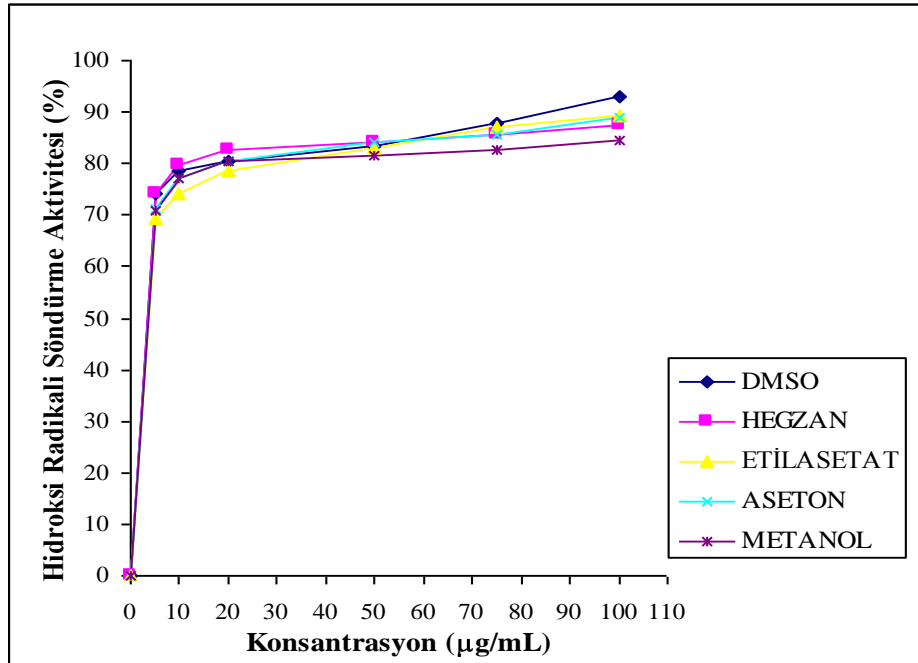
OH Radikalini Söndürme Aktivitesi (%) <sup>a</sup>									
Konsantrasyon (µg/mL)	Gövde Özütleri				Kök Özütleri				Kontrol
	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	DMSO
5	56.42±4.01	73.74±2.16	62.78±3.70	73.01±2.61	60.54±3.14	83.74±1.18	81.51±0.61	72.38±4.69	74.21±3.95
10	58.11±4.06	75.19±2.20	63.83±3.52	74.72±2.34	62.11±3.38	84.72±1.02	82.61±0.48	73.94±4.44	78.48±3.50
20	60.21±3.27	76.34±2.07	64.89±3.46	75.84±2.03	63.25±2.85	85.64±1.12	83.86±0.82	75.15±4.62	80.35±3.19
50	61.08±3.33	77.67±1.44	66.58±3.43	77.21±1.42	64.70±2.99	87.14±0.98	85.09±0.28	76.59±4.39	83.34±2.71
75	61.92±3.09	79.48±2.05	67.57±3.47	79.00±1.88	66.47±3.07	88.37±0.71	85.82±0.34	77.65±3.97	87.66±2.50
100	62.71±3.35	82.60±1.32	69.07±3.07	81.26±1.57	67.45±2.76	88.82±0.37	86.42±0.56	78.49±3.60	93.15±2.25

<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar hesaplanarak verilmiştir (n=3).





**Şekil 4.8.18.** *A. gymnaocephias* bitkisinin gövde özütlerinin farklı konsantrasyonlarda TBA metodu ile  $Fe^{2+}$ /Askorbat/EDTA/ $H_2O_2$  sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi (%).



**Şekil 4.8.19.** *A. gymnaocephias* bitkisinin kök özütlerinin farklı konsantrasyonlarda TBA metodu ile  $Fe^{2+}$ /Askorbat/EDTA/ $H_2O_2$  sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi (%).

**Çizelge 4.8.12** *A. gymnalocepias* bitkisinin farklı polariteye sahip çözücüler ile hazırlanan özütlerinin ve DMSO' nun farklı konsantrasyonlarının TBA metodu ile OH radikalini söndürme gücü (%).

OH Radikalini Söndürme Aktivitesi (%) <sup>a</sup>									
Konsantrasyon (µg/mL)	Gövde Özütleri				Kök Özütleri				Pozitif Kontrol
	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	Hekzan	EtOAc	Aseton	Metanol	DMSO
5	45.03±4.19	75.02±1.80	72.33±1.67	73.48±1.98	74.04±0.68	69.30±1.12	71.14±0.70	70.67±0.53	74.21±3.95
10	52.44±2.60	79.41±0.99	76.67±3.13	75.85±1.57	79.64±0.34	74.29±1.38	76.97±4.53	77.22±0.67	78.48±3.50
20	59.05±2.11	83.86±0.79	79.59±3.87	79.96±1.23	82.48±1.78	78.60±4.87	80.52±3.50	80.59±1.52	80.35±3.19
50	60.11±2.39	85.92±1.00	83.52±2.65	81.77±1.40	84.22±0.85	82.89±3.43	84.15±1.58	81.52±1.03	83.34±2.71
75	63.33±3.61	88.43±0.77	87.29±1.37	86.44±0.56	85.76±0.64	87.00±2.00	85.64±0.47	82.64±0.75	87.66±2.50
100	72.88±1.53	90.89±0.90	90.15±1.29	90.02±0.71	87.32±0.55	89.37±0.48	89.00±1.07	84.47±0.82	93.15±2.25

<sup>a</sup> Her değer üç deney sonucunun ortalaması alınarak ve ± standart sapmalar hesaplanarak verilmiştir (n=3).

**Çizelge 4.8.13.** *A. diphtherites* var. *diphtherites* gövde ve kök özütlerinin mikroorganizmaların büyümeleri üzerinde engelleme etkisi.

		Zon Çapları (mm)					
		Kullanılan Mikroorganizmalar					
Denenen Madde	µg / kağıt disk	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>B. subtilis</i> ATCC11774	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
	80	-	-	-	-	-	-
Gövde Hekzan	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Kök Hekzan	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Gövde EtOAc	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Kök EtOAc	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Gövde Aseton	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Kök Aseton	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Gövde Metanol	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Kök Metanol	160	-	-	-	-	-	-
Eritromycine	15	14	14	>30	R	>30	t.e.
Amoksisilin	30	20	>30	30	R	24	t.e.
Ofloksasin	5	28	20	22	14	26	t.e.
Netilmisin	30	26	18	>30	20	>30	t.e.
Amfoterisin B	30	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.	13

t.e : test edilmedi

R: dirençli

- : etkili değil

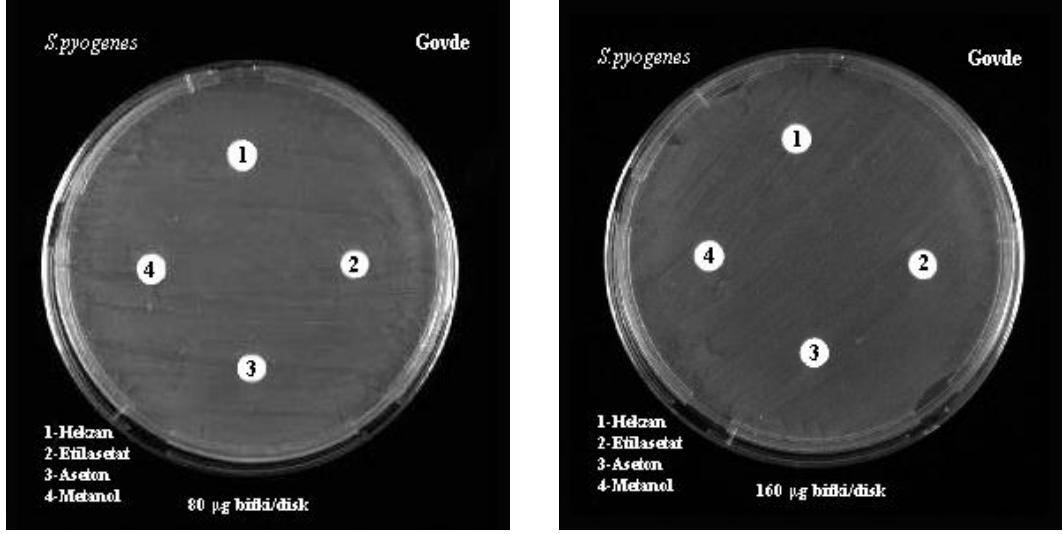
**Çizelge 4.8.14.** *A. gymnaocepia*s gövde ve kök özütlerinin mikroorganizmaların büyümeleri üzerinde engelleme etkisi.

		Zon Çapları (mm)					
		Kullanılan Mikroorganizmalar					
Denenen Madde	µg / kağıt disk	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>B. subtilis</i> ATCC11774	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
	80	-	-	-	-	-	-
Gövde Hekzan	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Kök Hekzan	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Gövde EtOAc	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Kök EtOAc	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Gövde Aseton	160	-	-	15	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Kök Aseton	160	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Gövde Metanol	160	-	-	12	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-
Kök Metanol	160	-	-	-	-	-	-
Eritromycine	15	14	14	>30	R	>30	t.e.
Amoksisilin	30	20	>30	30	R	24	t.e.
Ofloksasin	5	28	20	22	14	26	t.e.
Netilmisin	30	26	18	>30	20	>30	t.e.
Amfoterisin B	30	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.	13

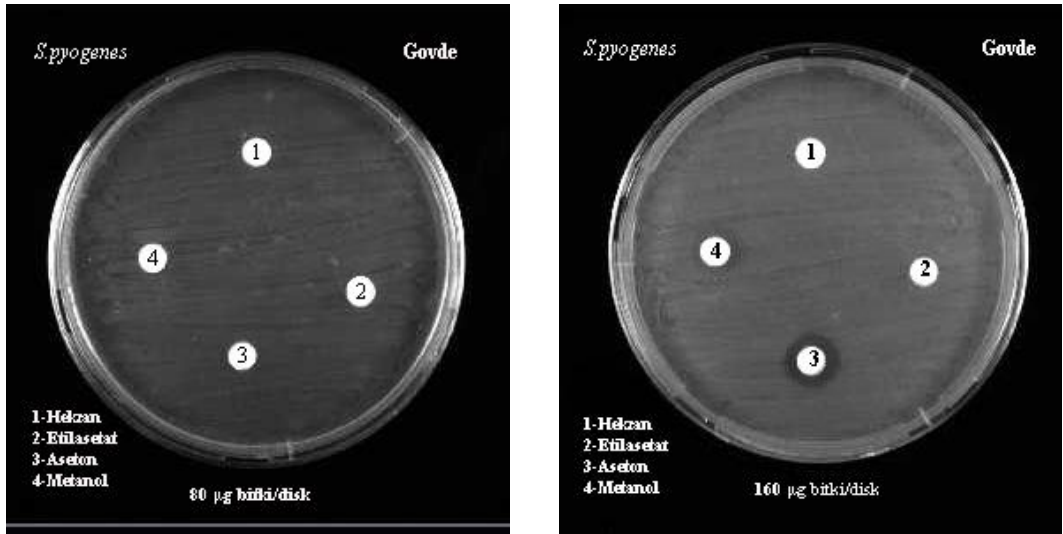
t.e. : test edilmedi

R : dirençli

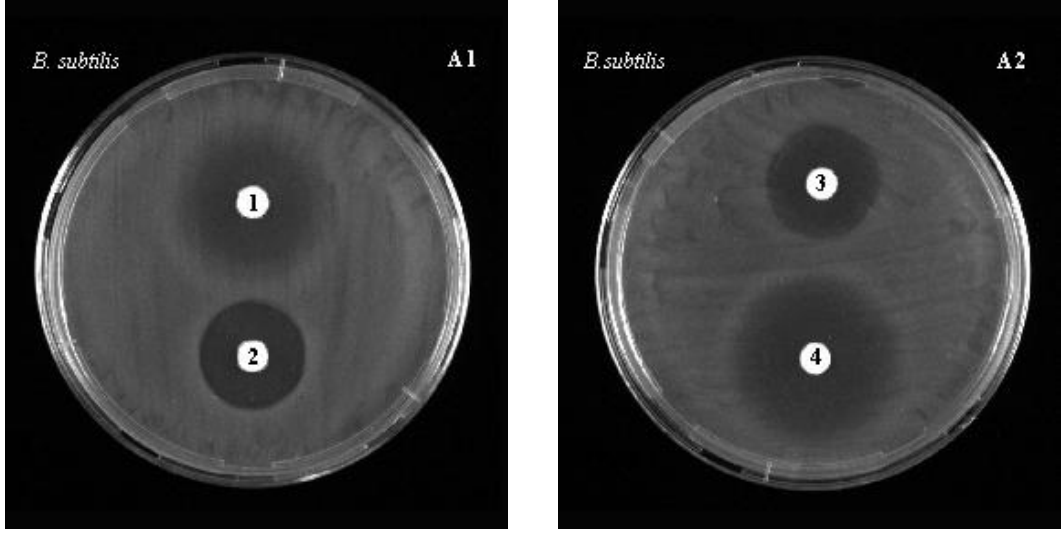
- : etkili değil



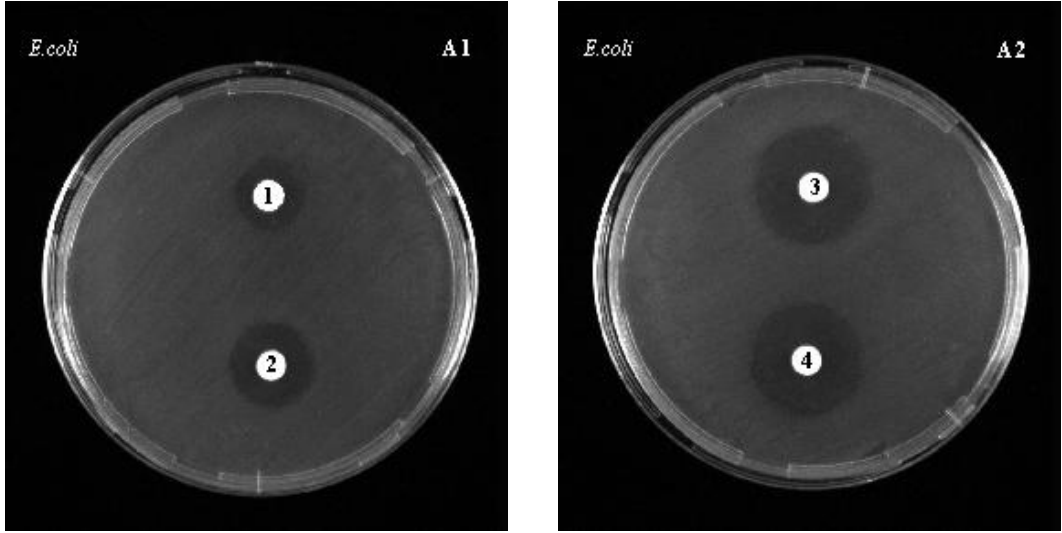
**Resim 4.8.1:** *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde özütlerinin *S. pyogenes*'in üremesi üzerine engelleyici etkisi.



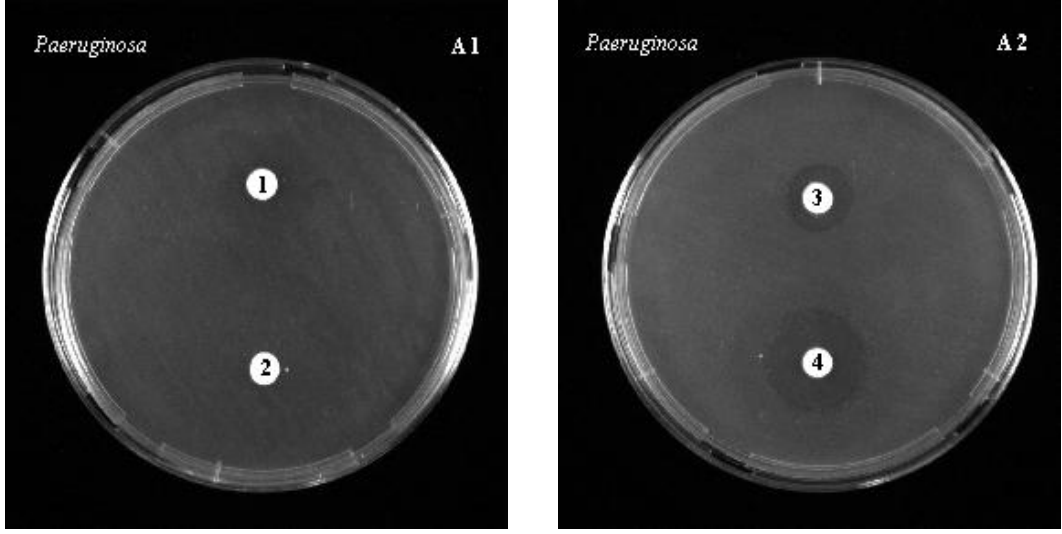
**Resim4.8.2:** *A. gymnaeopias* bitkisinin gövde özütlerinin *S. pyogenes*'in üremesi üzerine engelleyici etkisi.



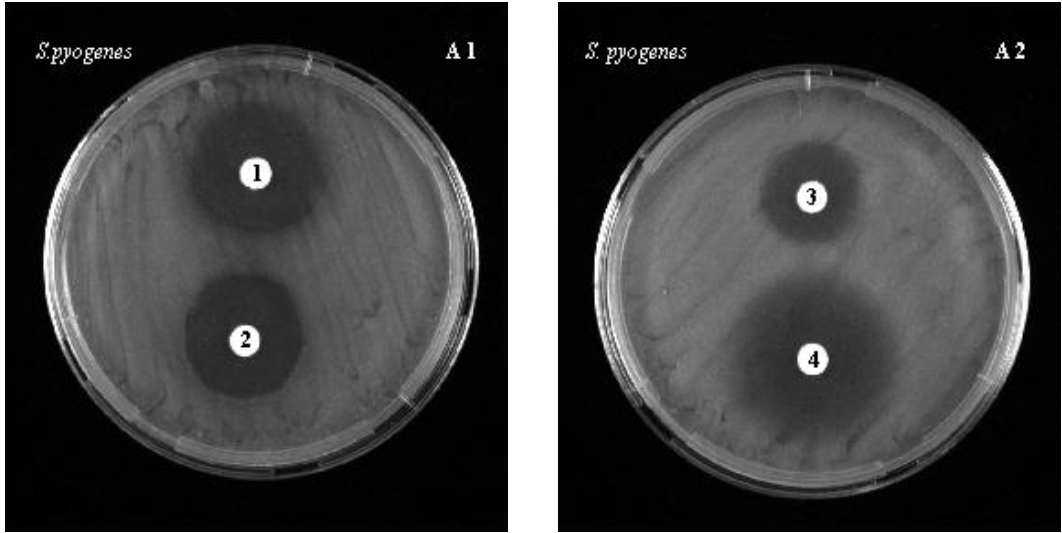
**Resim 4.8.3:** Çeşitli antibiyotiklerin *B. subtilis* üremesi üzerine engelleyici etkisi. **A1)** Antibiyotikler **1:** Eritromycine (15 µg/kağıt disk), **2:** Amoksisilin (20 µg)/Klavulonik asit (10 µg) (AMC, 30 µg) **A2)** Antibiyotikler **3:** Ofloksasin (5 µg/kağıt disk), **4:** Netilmisin (30 µg/kağıt disk)



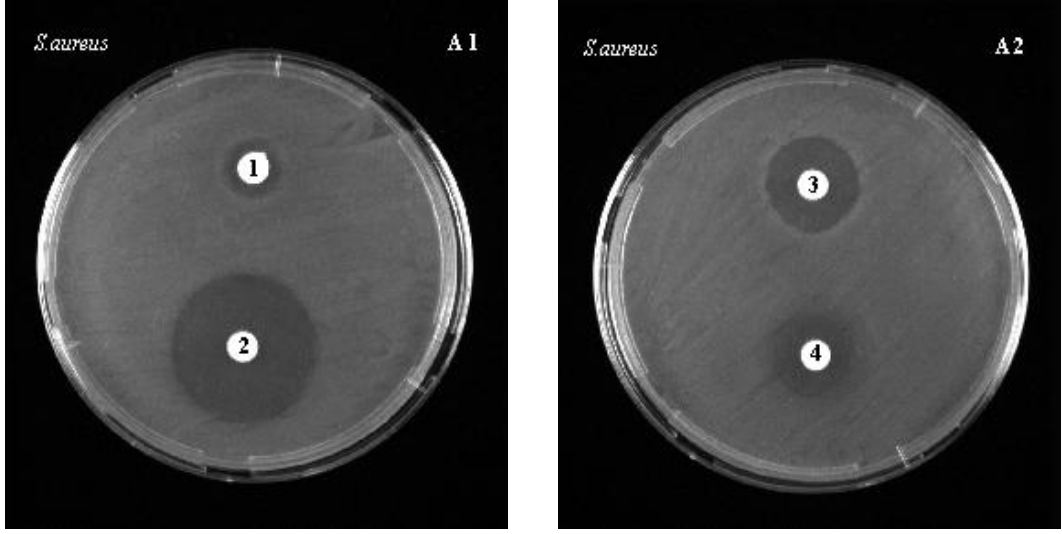
**Resim 4.8.4:** Çeşitli antibiyotiklerin *E. coli* üremesi üzerine engelleyici etkisi. **A1)** Antibiyotikler **1:** Eritromycine (15 µg/kağıt disk), **2:** Amoksisilin (20 µg)/Klavulonik asit (10 µg) (AMC, 30 µg) **A2)** Antibiyotikler **3:** Ofloksasin (5 µg/kağıt disk), **4:** Netilmisin (30 µg/kağıt disk)



**Resim 4.8.5:** Çeşitli antibiyotiklerin *P. aeruginosa* üremesi üzerine engelleyici etkisi  
**A1)** Antibiyotikler **1:** Eritromycine (15 µg/kağıt disk), **2:** Amoksisilin (20 µg)/Klavulonik asit (10 µg) (AMC, 30 µg) **A2)** Antibiyotikler **3:** Ofloksasin (5 µg/kağıt disk), **4:** Netilmisin (30 µg/kağıt disk)

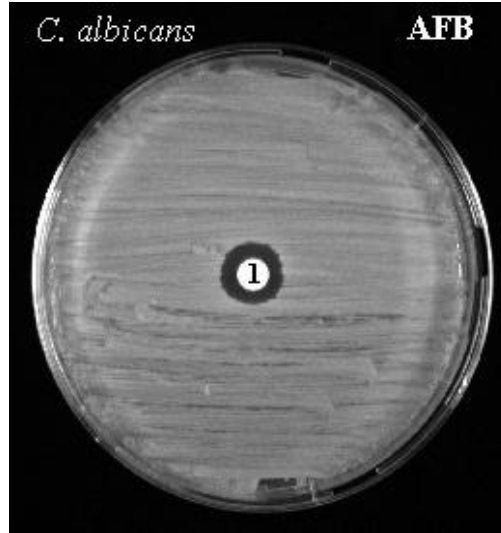


**Resim 4.8.6:** Çeşitli antibiyotiklerin *S. pyogenes* üremesi üzerine engelleyici etkisi  
**A1)** Antibiyotikler **1:** Eritromycine (15 µg/kağıt disk), **2:** Amoksisilin (20 µg)/Klavulonik asit (10 µg) (AMC, 30 µg) **A2)** Antibiyotikler **3:** Ofloksasin (5 µg/kağıt disk), **4:** Netilmisin (30 µg/kağıt disk)



**Resim 4.8.7:** Çeşitli antibiyotiklerin *S. aureus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**A1)** Antibiyotikler **1:** Eritromycine (15 µg/kağıt disk), **2:** Amoksisilin (20 µg)/Klavulonik asit (10 µg) (AMC, 30 µg) **A2)** Antibiyotikler **3:** Ofloksasin (5 µg/kağıt disk), **4:** Netilmisin (30 µg/kağıt disk)



**Resim 4.8.8:** Amfoterisin B'nin *C. Albicans* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**1:**30 µg/kağıt disk



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitkilerin total fenolik ve flavonoid bileşen miktarları antioksidan özelliklerinin belirlenmesinde önemli parametrelerden birini oluşturmaktadır<sup>1</sup>. Bu çalışmada polar olmayandan polara doğru değişen çözücülerle elde edilen özütlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırıldı.

*A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinde en yüksek total fenolik bileşen miktarı gövdede metanol ( $76.1 \pm 0.9 \mu\text{g}/\text{mg}$ ) kökte ise aseton özütünden elde edilmiştir ( $48.02 \pm 1.5 \mu\text{g}/\text{mg}$ ) (Çizelge.4.8.1.). Aynı bitkide en yüksek total flavonoid miktarı gövdede metanol ve aseton (sırasıyla  $39.31 \pm 0.23$ ,  $42.20 \pm 0.46 \text{ mg}/\mu\text{g}$ ), kökte ise aseton ve etil asetat (sırasıyla  $4.10 \pm 0.20$ ,  $4.23 \pm 0.26 \mu\text{g}/\text{mg}$ ) özütlerinde tespit edilmiştir (Çizelge.4.8.5.).

*A. gymnaocepias* bitkisinde ise, gövdede aseton ve metanol (sırasıyla  $42.33 \pm 2.75$ ,  $54.66 \pm 2.25 \mu\text{g}/\text{mg}$ ) kökte ise hekzan ve etil asetat en fazla total fenolik bileşen içermektedir (sırasıyla  $32.33 \pm 1.52$ ,  $35.83 \pm 1.75 \mu\text{g}/\text{mg}$ ) (Çizelge.4.8.2.). Aynı bitkide en yüksek total flavonoid miktarı gövdede etil asetat ve aseton (sırasıyla  $77.67 \pm 2.41$ ,  $80.15 \pm 0.33 \mu\text{g}/\text{mg}$ ) kökte ise metanol ve etil asetat (sırasıyla  $11.20 \pm 0.14$ ,  $14.01 \pm 0.10 \mu\text{g}/\text{mg}$ ) özütlerinden elde edilmiştir (Çizelge.4.8.6.).

Bu sonuçlara göre her iki bitkininde gövde kısımları kök kısımlarına oranla daha polar total fenolik ve total flavonoid bileşikler içermektedir.

Flavonoid, tanen, kumarin ve ksanton gibi farklı fenolik antioksidanların radikal söndürme kapasiteleri bileşen miktarına bağlı olarak değişir. Çok küçük farklılıklar olsada daha polar bileşikler içeren bitki özütleri daha iyi radikal söndürücü özellik gösterirler.<sup>2,3</sup> Flavonoidlerin lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği, metal iyonlarını şelatladığı ve lipooksigenazı inaktive ettiği bilinmektedir.<sup>4</sup>

Farklı *Astragalus* türleri üzerine yapılan çalışmalarda polar fenolik bileşiklerin genellikle daha iyi antioksidan özellik gösterdikleri bildirilmiştir.<sup>5-9</sup>

Antioksidan bileşiklerin DPPH radikalini söndürme etkileri, yapılarında bulunan hidrojeni ortamdaki radikale verebilme özelliklerinden kaynaklanmaktadır. DPPH serbest ve kararlı bir radikaldir, bir elektron veya bir hidrojen alarak diamagnetik bir moleküle dönüşebilir.<sup>10,11</sup> (Brand-Williams, Kumaran LİT VER)

Her iki bitkiden elde edilen özütlerin serbest radikal söndürücü etkileri DPPH radikali üzerinden tayin edilmiştir. DPPH radikalini söndürme aktivitesi diğer metotlara oranla antioksidan aktiviteyi kısa zamanda karşılaştırma olanağı sağlamaktadır. Sonuçlar test edilen konsantrasyonlarda (5-350 µg/mL) pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve BHA değerleri ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre her iki bitkinin hem kök hemde gövde kısımlarının polar özütlerinin bazı konsantrasyonlarının pozitif kontrol olarak kullanılan BHA ve BHT'den daha yüksek radikal söndürücü aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Bitki özütlerinin serbest radikalleri tutması, elde edilen polar özütlerin içinde bulunan maddelerin serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürdüğünü göstermektedir.

Bileşiklerin antioksidan aktiviteleri aromatik hidroksil grubu içeren polar bileşiklerden kaynaklanmaktadır.<sup>2</sup>

Bazı *Astragalus* türlerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ve hekzan/dikolorometan özütlerinin DPPH aktivitesi yönünden incelendiği bir çalışmada, bitkilerden elde edilen metanol özütlerinin IC<sub>50</sub> (µg/ml) değerlerinin; 68-400 aralığında olduğunu, polar olmayan özütlerin ise DPPH aktivitesi göstermediği bildirilmiştir.<sup>12</sup>

Bazı bitkilerin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, bitkilerden elde edilen özütlerin DPPH aktivitesi yönünden incelendiğinde IC<sub>50</sub> değerlerinin, *Astragalus glycyphyllos* 156.98 µg/mL, *Trifolium pannonicum* 13.19 µg/mL, *Lathyrus binatus* 19.62 µg/mL, *Onobrychis scardia* 52.31 µg/mL, *Coronilla emerus* 145.31 µg/mL olarak bulunduğu bildirilmiştir.<sup>13</sup>

Çalışmamızda DPPH aktivitesi için elde ettiğimiz IC<sub>50</sub> değerleri yukarıdaki çalışmalarla benzerlik göstermiştir.

Elde edilen sonuçlara göre bitkinin polar özütlerinin antioksidan kapasitelerinin iyi olduğu söylenebilir.

Metal şelatlama aktivitesinin varlığı lipit peroksidasyonunu azaltması ve hidroksi radikallerinin oluşumunu engellemesi sebebiyle önemli bir antioksidan özellik olarak kabul edilir. Şelatlayıcılar, metal iyonlarıyla σ bağı yaparak metal iyonlarının redoks potansiyelini azaltıp etkili antioksidanlar olarak davranırlar.<sup>14</sup>

Fraksiyonlandırılmış *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnalocepias* türlerinin kök ve gövde özütlerinin, metal şelatlama aktivitesi modifiye Dinis, (1994) metodu ile ölçüldü.<sup>15,16</sup> Güçlü şelatlama aktivitesine sahip olan EDTA pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Çalışılan konsantrasyon aralığında *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde metanol özütü (%74.35 ± 1.51) ve kök hekzan özütü (%62.42 ± 0.73) en yüksek metal şelatlama aktivitesi gösterdi (Çizelge 4.8.7).

*A. gymnalocepias* bitkisinde ise; gövde ve kök metanol özütleri en yüksek metal şelatlama aktivitesi gösterdi (sırasıyla 89.63 ± 0.58, 76.41 ± 0.90). Pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA'nın metal şelatlama aktivitesi ise % 33.14 ± 0.28 , %99.92 ± 0.00 aralığında bulundu (Çizelge 4.8.8).

*A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde kısmından elde edilen özütlerin metal şelatlama aktivitesinin, özütleme işleminde kullanılan çözücülerin polarite artışına bağlı olarak arttığı ve bitkinin fenolik bileşen miktarıyla bağlantılı bir yükselme gösterdiği belirlendi. Bitkinin kök kısmından elde edilen hekzan ve metanol özütlerinin metal şelatlama aktivitelerinin etil asetat ve aseton özütlerinden daha yüksek aktivite değerlerine sahip olduğu tespit edildi. Bitkinin hem kök hem de gövde kısımlarından elde edilen özütler test edilen aralıkta (25-350 µg/mL), konsantrasyondaki artışa bağlı olarak aktivite artışı gösterdikleri saptandı.

*A. gymnalocepias* bitkisinin gövde kısmından elde edilen özütlerdeki metal şelatlama aktivitesindeki artış *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinde olduğu gibi polariteye bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bitkinin kök kısmından elde edilen özütlerden hekzan, etil asetat ve aseton özütlerinin aktivitelerinin birbirine yakın, metanol özütünün ise oldukça yüksek olduğu belirlendi. Pozitif kontrol olarak kullanılan ve metal şelatlama özelliği bilinen EDTA'nın, denen konsantrasyon aralığında (5-350 µg/mL) 25 µg/mL'lik konsantrasyondan sonra %99'luk aktiviteye ulaştığı ve denenen en yüksek konsantrasyona kadar sabit kaldığı belirlendi. Bitkilerden *A. diphtherites* var. *diphtherites*'in EDTA ile karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda, metal şelatlama aktivitesinin oldukça zayıf olduğu, yüksek konsantrasyonlarda ise kök hekzan ve metanol özütlerinin orta derecede, gövde aseton ve metanol özütlerinde pozitif kontrolle aynı derecede aktivite gösterdiği belirlendi.

*A. gymnalocepias* bitkisi pozitif kontrol olarak kullanılan EDTA ile metal şelatlama aktivitesi yönünden karşılaştırıldığında, gövde kısmından elde edilen metanol özütünün 250 ve 350 µg/mL'lik konsantrasyonlarda hemen hemen EDTA kadar metal şelatlama aktivitesi gösterdiği tespit edildi.

Çalışmada yüksek metal şelatlama aktivitesinin genellikle yüksek polariteye sahip metanol özütlerinden elde edilmiştir. Polar çözücülerle yıkanan bileşikler daha çok polifenolik yapıdadırlar. Polifenoller içerdikleri hidroksil grupları sayesinde divalent katyonları şelatlama yeteneği gösterirler.<sup>3,17-19</sup> Bu sonuçlar ferrozinin bitki polar özütlerini Fe<sup>+2</sup>'den önce tuttuğunu, ve özütlerin bu kompleksi bozmada başarılı olduğunu göstermektedir.

Fenton tipi tepkimelerde, Fe<sup>+2</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile tepkimeye girerek hidroksil radikalini oluştururken kendisi Fe<sup>+3</sup>'e yükseltgenir. OH radikalının oluşumu lipid peroksidasyonuna, protein modifikasyonuna ve DNA hasarına yol açar.<sup>20,21</sup>

Spektroskopik olarak 700 nm'de Fe<sup>+3</sup>'ün Fe<sup>+2</sup>'ye indirgenmesi ile absorpsiyon şiddetindeki artışın ölçülmesine dayanan Oyaizu metoduna göre, indirgeme gücünün araştırılmasında, *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin gövde kısmından elde edilen özütlerin total flavonoid miktarındaki artışla ilişkili olarak aktivite gösterdiği görülmektedir. Bu bitkinin en yüksek total flavonoid miktarına sahip olan gövde aseton özütünde (42.20 µg QUE/mg özüt) indirgeme gücünün de en yüksek olduğu belirlendi (700 nm'de absorbans 0.226).

Bitkinin gövde kısmının hekzan, etil asetat ve metanol özütlerindeki total flavonoid miktarı ile indirgeme gücünün paralellik sergilediği görülmektedir. *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin kök kısmından elde edilen özütlerden aseton özütünün gövde kısmından elde edilen özütlerde olduğu gibi yüksek indirgeme gücü aktivitesi göstermesi total fenolik bileşen miktarının kök aseton özütünde yüksek olmasıyla ilişkilidir.

*A. gymnalocepias* bitkisinin hem kök hemde gövde kısmından elde edilen özütlerin hemen hemen hepsinin konsantrasyonla artan benzer indirgeme gücüne sahip olduğu belirlendi.

*A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin hem kök hemde gövde aseton özütlerinin indirgeme gücü aktivitelerin en yüksek olmasına rağmen pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve BHA ile karşılaştırıldığında orta derecede aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitkisinin diğer özütlerinin ve *A. gymnalocepias* bitkisinin bütün özütlerinin konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdiği ancak pozitif kontrollerle karşılaştırıldıklarında oldukça düşük aktivite değerlerine sahip oldukları belirlendi.

Elde edilen veriler, referans değerleri ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve BHA ile karşılaştırıldığında daha düşük indirgeme gücü kapasitesi göstermektedir.

Bitki özütlerinin farklı konsantrasyonlarının deoksiriboz metodu ile  $Fe^{2+}$ /Askorbat/EDTA/ $H_2O_2$  sisteminde hidroksi radikalini söndürme aktivitesi incelendi.<sup>22</sup> Çalışmada kullanılan her iki bitkinde pozitif kontrol olarak kullanılan DMSO ile karşılaştırıldığında konsantrasyon artışına bağlı olarak OH radikali söndürme kapasitelerinin yükseldiği ve antioksidan kapasitelerinin arttığı gözlemlendi.

Gram-pozitif, Gram-negatif bakteriler ile maya olarak *C. albicans* ATCC 10231 kullanıldığı antimikrobiyal aktivite araştırmalarında, sadece *A. gymnalocepias* bitkisinin gövde kısmından elde edilen aseton ve metanol özütlerinin 160 µg/kağıt disk konsantrasyonunda, Gram-pozitif bir bakteri olan ve denenen antibiyotiklere karşı oldukça duyarlılık gösteren *S. pyogenes* ATCC 19615'e karşı aktivite

sergilediği görüldü. *A. diphtherites* var. *diphtherites* bitki özütlelerinin ise denenen hiçbir mikroorganizmaya karşı aktiviteye sahip olmadığı tespit edildi.

Adıgüzel ve arkadaşları (2009) da bazı *Astragalus* türlerinin antimikrobiyal özelliklerini araştırmışlar ve herhangi bir aktivite gözlemlememişlerdir.<sup>12</sup>

Bu sonuçlara göre; *A. diphtherites* var. *diphtherites* ve *A. gymnaocephias* bitkilerinin polar bileşiklerinin antioksidan aktivitelerinin yüksek olduğu görülmektedir. Bundan sonraki çalışmalar bu bileşikleri saflaştırıp yapılarını aydınlatmak ve tek tek bileşiklerin etkilerini gözlemek olmalıdır.

## 5.1. KAYNAKLAR

1. Oki, T.; Masuda, M.; Fruta, S.; Nishibia, Y.; Terahara, N.; Suda, I. Involvement of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds in Radical-Scavenging Activity of Purple-Fleshed Sweet Potato Cultivars, *Food and Chemical Toxicology*, **2002**, *67*, 1752-1765.
2. Yeşilada, E.; Tsuchiya, K.; Takaishi, Y.; Kawazoe, K. Isolation and Characterization of Free Radical Scavenging Flavonoid Glycosides from the Flowers of *Spartium junceum* by Acticity-guided Fractionation, *Journal of Ethnopharmacology*, **2000**, *73*,(3), 471-478.
3. Kang, D.G.; Yun, C.K.; Lee, H.S. Screening and Comparison of Antioxidant Activity of Solvent Extracts of Herbal Medicines in Korea, *Journal of Ethnopharmacology*, **2003**, *87*, 231-236.
4. Pietta, P.G. Flavonoids as Antioxidants, *Journal of Natural Products*, **2000**, *63*, (7), 1035-1042.
5. Shan, B.; Cai, Z.Y.; Brooks D.J.; Corke, H. The *in vitro* Antibacterial Activity of Dietary Spice and Medicinal Herb Extracts, *International Journal of Food Microbiology*, **2007**, *117*, 112-119.
6. Wong, C.C.; Li, B.H.; Cheng, W.K.; Chen, F. A Systematic Survey of Antioxidant Activity of 30 Chinese Medicinal Plants Using the Ferric Reducing Antioxidant Power Assay, *Food Chemistry*, **2006**, *97*, 705-717.
7. Borneo, R.; Leon, A.E.; Aguirre, A.; Ribotta, P.; Cantero, J.J. Antioxidant Capacity of Medicinal Plants from Province Cordoba (Argentina) and their *in vitro* Testing in a Model Food System, *Food Chemistry*, **2009**, *112*, 664-670.



8. Tahawa, K.; Alali, Q.F.; Gharaibeh, M.; Mohammad, M.; El-Elimat, T. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Selected Jordanian Plant Species, *Food Chemistry*, **2007**, *104*, 1372-1378.
9. Cai, Y.; Luo, Q.; Sun, Mei.; Corke, H. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated with Anticancer, *Life Science*, **2004**, *74*, 2157-2184.
10. Brand-Williams, W. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Food Science Thecnology*, **1995**, *28*, 25-30.
11. Kumaran, A.; Karunakaran, R.J. *In vitro* Antioxidant Activities of Methanol Extracts of Phyllanthus Species from India, *LWT*, **2007**, *40*, 344-352.
12. Adıgüzel, A.; Sökmen M.; Özkan, H.; Açar, G.; Güllüce, M.; Şahin, F. *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*, **2009**, *33*, 65-71.
13. Godevac, D.; Zdunic, G.; Savikin, K.; Vajs, V.; Mencovic, N. Antioxidant Activitiy of Nine Fabaceae Species Growing in Serbia and Montenegro, *Fitoterapia*, **2008**, *79*, 185-187.
14. Gordon, M.H. The Mechanism of Antioxidant Action *in vitro*. In: B.J.F. Hudson, Editor, *Food antioxidants*, Elsevier Science, pp. 1–18, London **1990**.
15. Dinnis, T:C.P.; Madeira, V.M.C.; Almeida, L.M. Action of Phenolic Derivates (acetaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as Inhibitors of Membrane Lipid Peroxidation and as Peroxyl Radical Scavengers, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **1994**, *315*, 161-169.

16. Habtemariam, S. Antioxidant Activity of *Knipholone anthrone*, *Food Chemistry*, **2007**, *102*, 1042-1047.
17. de las Heras, B.; Slowing, K.; Benedi, J.; Carretero, E.; Ortega, T.; Toledo, C.; Bermejo, P.; Iglesias, I.; Abad, M.J.; Gomez-Serranillos, P.; Liso, P.A.; Villar, A.; Chiriboga, X. Antiinflammatory and Antioxidant Activity of Plants Used in Traditional Medicine in Ecuador, *Journal of Ethnopharmacology*, **1998**, *61*, 161-166.
18. Hatano, T.; Edamatsu, R.; Haramatsu, M.; Mori, A.; Fujita, Y.; Yasyhara, T.; Yoshida, T.; Okuda, T. Effects of the Interaction of Tannins with Co-Existing Substances VI. Effects of Tannins and Related Polyphenols on Superoxide Anion Radical, and on DPPH Radical, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **1989**, *37*, 2016-2021.
19. Lopes, G.K.; Schulman, H.M.; Hermes-Lima, M. Polyphenol Tannic Acid Inhibits Hydroxyl Radical Formation from Fenton Reaction by Complexing Ferrous Ions, *Biochimica Biophysica Acta*, **1999**, *1472*, 142-152.
20. Halliwell, B.; Gutteridge, J.M.C.; Auroma, O.I. The Deoxyribose Method: A Simple Test Tube Assay for Determination of Rate Constants for Reaction of Hydroxyl Radicals, *Analytical Biochemistry*, **1987**, *165*, 215-219.
21. Gordon, H.M. *The Mechanism of Antioxidant Action Antioxidant Action in vitro*, Elsevier Applied Science, London, **1990**.
22. Yen, G-C.; Hsieh, C.L. Antioxidant Activity of Extracts from *Duzhone (Eucommia ulmoides)* toward Various Lipid Peroxidation Model *in vitro*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1998**, *46*, 3952-3957.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Cumali KESKİN

Doğum Yeri : Diyarbakır

Doğum Tarihi : 27.08.1976

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Ziya Gökalp Lisesi / 1993

Lisans : Dicle Üniv. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Böl. / 1998

Yüksek Lisans : Dicle Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü / 2002

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Mardin Artuklu Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu / 05.03.1999-Devam

ediyor.