

**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAZI ENDEMİK *ASTRAGALUS* TÜRLERİNİN BİYOJEOKİMYASAL  
ANALİZLERİ**

**Emiç UĞUR**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**ÇANKIRI**

**2017**

**Her Hakkı Saklıdır.**

## TEZ ONAYI

Emiç UĞUR tarafından hazırlanan “**Bazı Endemik *Astragalus* Türlerinin Biyojeokimyasal Analizleri**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU

### Jüri Üyeleri

**Başkan** : Yrd. Doç. Dr. Ferda ESER

**Üye** : Doç. Dr. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU

**Üye** : Yrd. Doç. Dr. Muhammed ALTUN

**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

**Doç. Dr. Tamer KEÇELİ**

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

## BAZI ENDEMİK *ASTRAGALUS* TÜRLERİNİN BİYOJEOKİMYASAL ANALİZLERİ

Emiç UĞUR

Çankırı Karatekin Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU

Bu çalışmada endemik üç *Astragalus* türünün (*Astragalus anthylloides* Lam., *A. lycius* Boiss., *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm) sekonder metabolitleri (fenolik bileşikleri ve sabit yağ bileşenleri), biyolojik aktiviteleri (antiproliferatif – sitotoksik etkileri) ve selenyum içerikleri araştırıldı. Bu amaçla öncelikle bitki türleri doğal ortamlarından toplandı. Bu bitki türleri uygun şartlarda kurutuldu ve deneysel çalışmalar için hazırlandı. Bu bitkiler, sırasıyla hekzan, kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol çözücülerini ile ekstrakte edildi. Hekzan ekstraktlarının GC-MS analizi, diğer ekstraktların da HPLC-TOF/MS analizleri gerçekleştirildi. Tüm ekstraktların sıçan beyin tümörü (C6) ve insan rahim kanseri (HeLa) hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi ve yüksek antiproliferatif aktivite gösteren ekstraktların sitotoksik etkileri belirlendi. Ayrıca bitki ve bitkinin yetiştiği toprakların selenyum analizleri gerçekleştirildi.

**2017, 113 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** *Astragalus* ssp., *Astragalus anthylloides* Lam., *A. lycius* Boiss., *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm, sekonder metabolit, Sabit yağ, Antiproliferatif aktivite, HeLa, C6, Selenyum analizi

## ABSTRACT

Master of Science Thesis

### BIOGEOCHEMICAL ANALYSIS of SOME ENDEMIC *ASTRAGALUS* SPECIES

Emiç UĞUR

Çankırı Karatekin University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

Supervisor: Associate Prof. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU

In this study, their secondary metabolites (Phenolic compounds and fatty acids), biological activities (antiproliferative - cytotoxic activity) and selenium analysis of three endemic *Astragalus* species (*Astragalus anthylloides* Lam., *A. lycius* Boiss., *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm) were researched. For this purpose, firstly, plants samples were collected in the natural environment. The plants were dried under appropriate conditions and they were ready for experimental work. The plants were extracted with hexane, chloroform, ethyl acetate, n-buthanol and methanol solvents, respectively. Hexane extracts were characterized by GC-MS and other extracts were determined by HPLC-TOF/MS. The anticancer activities of all the extracts were investigated against rat brain tumor (C6) and human cervical cancer (HeLa) cells. The cytotoxic activities of extracts that have high antiproliferative activities were determined. However, selenium analysis of the plant and soil where the plant grows were performed.

**2017, 113 page**

**Keywords:** *Astragalus* ssp., *Astragalus anthylloides* Lam., *A. lycius* Boiss., *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm, Secondary Metabolites, Fatty acids, Antiproliferative activity, HeLa, C6, Se analysis

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tezin her aşamasında sonsuz emeği olan danışman hocam sayın Doç. Dr. Ayşe Şahin YAĞLIOĞLU' na yardımlarından dolayı minnettarım. Tez projesi kapsamında fikir ve laboratuvar çalışmalarına olan katkısından dolayı sayın Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ'a şükranlarımı sunarım. Bitkilerin toplanması ve ayrıştırılması aşamasında emeği geçen sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN'a katkılarından dolayı şükranlarımı iletirim. Uzun saatler boyunca laboratuvar çalışmalarında emeği geçen yüksek lisans öğrencileri Duygu GÜNEŞ, Murat TEMİRTÜRK, Elifay SERT ve spektroskopik analizlerin gerçekleştirilmesi noktasında yardımcı olan Uzman Ali Rıza TÜFEKÇİ ve Uzman Fatih GÜL' e müteşekkirim. Eğitim hayatım boyunca beni her daim destekleyen başta babam Mehmet SARAY olmak üzere değerli aileme ömür boyu minnettarım. Son olarak, tez çalışmalarım boyunca bana her an moral veren değerli eşim Ensar UĞUR'a tüm kalbimle şükranlarımı sunarım.

Bu tez 114Z198 nolu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

Emiç UĞUR  
Çankırı, Mayıs 2017

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 <i>Fabaceae (Leguminosae)</i> Familyasının Genel Özellikleri.....	4
2.2 <i>Astragalus L.</i> Cinsinin Genel Özellikleri .....	4
2.3 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam. Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı.....	5
2.4 <i>Astragalus lycius</i> Boiss.Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı .....	7
2.5 <i>Astragalus xylobasis</i> Bunge Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı.....	9
2.6 Literatür Özeti.....	12
2.6.1 <i>Astragalus</i> türlerinin potansiyel klinik faydaları .....	12
2.6.2 <i>Astragalus</i> türlerinin fitokimyasal analizi ve biyolojik aktivitesi .....	16
2.6.3 Selenyum analizleri ve toksik etkisi.....	20
2.6.4 Bitkilerde metabolomik analiz .....	21
3. MATERYAL METOT .....	24
3.1 Bitkilerin Toplanması, Kurutulması ve Tür Teşhisi.....	24
3.2 Selenyum Analizi.....	25
3.3 Kullanılan Kimyasallar .....	25
3.4 Kullanılan Cihazlar .....	26
3.5 Bitkinin Özütlenmesi (Ekstraksiyon) İşlemi.....	27
3.6 GC-MS Analizi programı .....	28
3.7 HPLC-TOF/MS Analiz.....	28
3.8 Metabolomik NMR Analizleri .....	33
3.9 Antiproliferatif Aktivite Testlerinin Yapılması .....	33
3.9.1 Kanser hücre hatları ve hücre kültürü .....	33
3.9.2 <i>In vitro</i> antiproliferatif aktivite testi.....	34
3.9.3 BrdU cell ELISA hücre proliferasyon deneyi.....	34
3.9.4 IC <sub>50</sub> konsantrasyonunun belirlenmesi.....	34
3.9.5 Sitotoksik aktivite testlerinin yapılışı .....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1 Bitkilerin Tür Teşhisi Ve Herbarium Numaralarının Alınması.....	36
4.2 Elde Edilen Ekstreler ve Ekstre Verimleri .....	36
4.3 Hekzan Ekstrelerinin GC-MS Analiz Sonuçları .....	39
4.4 Ekstrelerin HPLC-TOF/MS Analiz Sonuçları .....	47
4.5 Metabolomik NMR Sonuçları.....	54
4.6 Antiproliferatif Aktivite Sonuçları .....	67
4.6.1 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam. bitkisinin C6 ve HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları .....	68
4.6.2 <i>Astragalus lycius</i> Bitkisinin C6 ve HeLa Hücrelerine Karşı Antiproliferatif Aktivite Sonuçları .....	69
4.6.3 <i>Astragalus xylobasis</i> Freyn & Bornm. var. <i>angustus</i> Bitkisinin C6 ve HeLa Hücrelerine Karşı Antiproliferatif Aktivite Sonuçları .....	71
4.7 Selenyum Analiz Sonuçları .....	73
4.8 Sitotoksik Aktivite Sonuçları .....	77

<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>79</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>91</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>100</b>



## SİMGELER DİZİNİ

<b><u>Simge</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
L	Litre
µL	Mikrolitre
nm	Nanometre
g	Gram
mg	Miligram
GC-MS	Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi
ICP-MS	
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
HPLC-TOF/MS	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi
ESI	Elektrosprey İyonizasyon
HeLa	İnsan Rahim Kanseri Hücresi
C6	Sıçan Beyin Tümör Hücresi
EtOAc	Etil asetat
n-BuOH	n-Bütanol
5-FU	5-Floro urasil
%	Yüzde
IC <sub>50</sub>	Hücre Bölünmesini %50 İnhibe Eden İlaç Konsantrasyonu
IC <sub>75</sub>	Hücre Bölünmesini %75 İnhibe Eden İlaç Konsantrasyonu
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
CHCl <sub>3</sub>	Kloroform
DMSO	Dimetil sülfoksit



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam. ....	5
Şekil 2. 2 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam. bitkisinin yayılış gösterdiği iller .....	6
Şekil 2. 3 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam. bitkisinin yayılış gösterdiği kareler .....	7
Şekil 2. 4 <i>Astragalus lycius</i> Boiss. ....	7
Şekil 2. 5 <i>Astragalus lycius</i> Boiss. bitkisinin yayılış gösterdiği iller .....	8
Şekil 2. 6 <i>Astragalus lycius</i> Boiss. bitkisinin yayılış gösterdiği kareler .....	9
Şekil 2. 7 <i>Astragalus xylobasis</i> Bunge .....	9
Şekil 2. 8 <i>Astragalus xylobasis</i> bitkisinin yayılış gösterdiği iller. ....	11
Şekil 2. 9 <i>Astragalus xylobasis</i> bitkisinin yayılış gösterdiği kareler .....	11
Şekil 2. 10 <i>Astragalus membranaceus</i> .....	13
Şekil 2. 11 Li ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma şeması .....	15
Şekil 2. 12 <i>achillamide</i> ve <i>astrojanosid</i> A .....	16
Şekil 2. 13 <i>Astragalus lentiginosus</i> 'tan elde edilen bileşenler .....	17
Şekil 2. 14 formononetin (1), oroxylin-A (2) .....	18
Şekil 2. 15 <i>Astragalus cruciatus</i> .....	18
Şekil 2. 16 <i>Astragalus glycyphyllus</i> , <i>Astragalus cicer</i> bitkileri ve asparagin, gliserin molekülleri .....	19
Şekil 2. 17 <i>Astragalus gombiformis</i> .....	20
Şekil 3. 1 Araştırma alanının Grid sistemindeki yeri .....	24
Şekil 3. 2 Hekzan, CHCl <sub>3</sub> , EtOAc, n-BuOH ve MeOH ekstraları .....	28
Şekil 3. 3 Çalışma şeması .....	35
Şekil 4. 1 <i>A. anthylloides</i> Lam., bitkisinin kök, gövde, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki hekzan ekstralarının ana bileşenleri .....	42
Şekil 4. 2 <i>A. lycius</i> Boiss. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki hekzan ekstralarının ana bileşenleri .....	44
Şekil 4. 3 <i>A. xylobasis</i> Freyn & Bornm. var. <i>angustus</i> (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki hekzan ekstralarının ana bileşenleri .....	47
Şekil 4. 4 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam. bitkisinin kök, gövde, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının etil asetat, kloroform, n-bütanol ve metanol ekstralarının ana bileşenleri .....	48
Şekil 4. 5 <i>A. lycius</i> Boiss. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının metanol, n- bütanol, kloroform ve etil asetat ekstralarının ana bileşenleri .....	50
Şekil 4. 6 <i>A. xylobasis</i> Freyn & Bornm. var. <i>angustus</i> (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol ekstralarının ana bileşenleri .....	52
Şekil 4. 7 <i>A. anthylloides</i> hekzan ekstralarının ana bileşenleri .....	54
Şekil 4. 8 <i>Astragalus anthylloides</i> hekzan, kloroform, etilasetat ekstralarının <sup>13</sup> C NMR spektrumları .....	55
Şekil 4. 9 <i>Astragalus anthylloides</i> hekzan, kloroform, etilasetat ekstralarının <sup>13</sup> C NMR değerleri .....	55
Şekil 4. 10 <i>Astragalus anthylloides</i> etilasetat ekstresinin <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	55
Şekil 4. 11 <i>A. lycius</i> hekzan ekstralarının ana bileşenleri .....	56
Şekil 4. 12 <i>A. lycius</i> hekzan, kloroform ve etilasetat ekstralarının <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	57

Şekil 4. 13 <i>A. lycius</i> hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrlerinin alifatik bölgesi genişletilmiş <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	57
Şekil 4. 14 <i>A. lycius</i> hekzan ekstresinin alifatik bölgesi genişletilmiş <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	58
Şekil 4. 15 <i>A. lycius</i> hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrlerinin <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	58
Şekil 4. 16 <i>A. lycius</i> hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrlerinin olefinik bölgesi genişletilmiş <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	59
Şekil 4. 17 <i>A. xylobasis</i> hekzan ekstrlerinin ana bileşenleri.....	60
Şekil 4. 18 <i>A. xylobasis</i> hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrlerinin <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	60
Şekil 4. 19 <i>A. xylobasis</i> hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrlerinin alifatik bölgesi genişletilmiş <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	61
Şekil 4. 20 D-pinitol.....	62
Şekil 4. 21 <i>Astragalus anthylloides</i> n-bütanol ve metanol ekstrlerinin <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	63
Şekil 4. 22 <i>Astragalus anthylloides</i> n-bütanol ve metanol ekstrlerinin genişletilmiş <sup>13</sup> C NMR spektrumu.....	63
Şekil 4. 23 <i>A. lycius</i> n-bütanol ve metanol ekstrlerinin <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	64
Şekil 4. 24 <i>A. lycius</i> n-bütanol ve metanol ekstrlerinin genişletilmiş <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	65
Şekil 4. 25 <i>A. xylobasis</i> n-bütanol ve metanol ekstrlerinin <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	66
Şekil 4. 26 <i>A. xylobasis</i> n-bütanol ve metanol ekstrlerinin genişletilmiş <sup>13</sup> C NMR spektrumu .....	66
Şekil 4. 27 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam. bitki ekstrlerinin C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları.....	68
Şekil 4. 28 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam. bitki ekstrlerinin HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları .....	69
Şekil 4. 29 <i>A. lycius</i> Boiss., bitki ekstrlerinin C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları .....	70
Şekil 4. 30 <i>A. lycius</i> Boiss. bitki ekstrlerinin HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları .....	71
Şekil 4. 31 <i>A. xylobasis</i> Freyn & Bornm. var. <i>angustus</i> (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitki ekstrlerinin C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları .....	72
Şekil 4. 32 <i>A. xylobasis</i> Freyn & Bornm. var. <i>angustus</i> (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm) bitki ekstrlerinin HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları .....	73
Şekil 5. 1 <i>Astragalus anthylloides</i> çalışma şeması .....	80
Şekil 5. 2 <i>Astragalus xylobasis</i> çalışma şeması .....	81
Şekil 5. 3 <i>Astragalus lycius</i> çalışma şeması.....	82

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 3. 1 Analizi gerçekleştirilen fenolik bileşenler .....	29
Tablo 4. 1 Bitkilerin herbaryum numaraları .....	36
Tablo 4. 2 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam., bitkisinin kök , gövde, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarından elde edilen ekstre miktarları ve verimleri .....	37
Tablo 4. 3 <i>A. lycius Boiss.</i> , bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarından elde edilen ekstre miktarları ve verimleri .....	38
Tablo 4. 4 <i>A. xylobasis</i> Freyn & Bornm. var. <i>angustus</i> (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarından elde edilen ekstre miktarları ve verimleri .....	38
Tablo 4. 5. <i>Astragalus anthylloides</i> Lam., bitkisinin kök, gövde, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonuçları.....	40
Tablo 4. 6 <i>A. lycius</i> Boiss. bitkisinin kök(K), toprak üstü (TÜ) ve bütün bitki (BB) kısımlarının hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonuçları .....	43
Tablo 4. 7 <i>A. xylobasis</i> Freyn & Bornm. var. <i>angustus</i> (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının hekzan ekstrelerinin GC- MS analiz sonuçları.....	45
Tablo 4. 8 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam.bitkisinin kloroform, etil asetat ekstrelerinin HPLC-TOF-MS analiz sonuçları .....	48
Tablo 4. 9 <i>Astragalus anthylloides</i> Lam.bitkisinin n-bütanol ve metanol ekstrelerinin HPLC-TOF-MS analiz sonuçları .....	49
Tablo 4. 10 <i>A. lycius</i> Boiss. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının metanol, n- bütanol, kloroform ve etil asetat ekstrelerinin HPLC-TOF-MS analiz sonuçları .....	51
Tablo 4. 11 <i>A. xylobasis</i> Freyn & Bornm. var. <i>angustus</i> (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök (K), toprak üstü (TÜ) ve bütün bitki (BB) kısımlarının metanol, n- bütanol, kloroform ve etil asetat ekstrelerinin HPLC-TOF-MS analiz sonuçları .....	53
Tablo 4. 12 D-pinitol ün <sup>13</sup> C NMR dataları .....	62
Tablo 4. 13 Endemik üç türünün HeLa ve C6 kanser hücrelerine karşı olan IC <sub>50</sub> ve IC <sub>75</sub> değerleri.....	67
Tablo 4. 14 <i>Astragalus</i> türlerinin yetiştiği topraklardaki selenyum içerikleri .....	74
Tablo 4. 15 <i>Astragalus</i> türlerindeki selenyum içerikleri.....	75
Tablo 4. 16 Selenyum analiz sonuçları ile antiproliferatif aktivite sonuçları .....	75

## 1. GİRİŞ

İçerdikleri etkili bileşenler sebebiyle insanlığın varoluşundan bu yana birçok hastalığın tedavisinde kullanılan, bazı hastalıkları önleyen bitkiler, tıbbi bitkiler grubuna girmektedir. Tıbbi kullanıma sahip bitkiler birçok ilacın hammaddesi olarak kullanılması dışında fitoterapi, aromaterapi gibi tamamlayıcı tedavi alanlarında da etkin olarak kullanılmaktadır (Kırbağ ve Zengin 2006; Kürkçüoğlu 2010; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011; Tulukçu ve Sağdıç 2011).

Tıbbi bitkilerin kullanımı M.Ö. 3000 yıllarına Sümer, Akad ve Asur Medeniyetlerine kadar uzanmaktadır. Tıbbi bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı ise, ilk olarak Ninova Tabletleri'nde karşımıza çıkmaktadır. M.Ö. 1550 yıllarında yazıldığı tahmin edilen Eber papirüslerinde tıbbi bitkilerin kullanımı ile ilgili bilgiler bulunmaktadır (Yoket 2003). Lokman Hekim, İbn-i Sina, İbn-i Baytar, Şerafeddin Sabuncuoğlu, İbn-i Şerif gibi Anadolu'da bilinen hekimlerimiz çeşitli hastalıkların tedavi edilmesinde tıbbi bitkileri kullanmışlardır (Yoket 2003; Demirhan Erdemir ve Elçioğlu 2013; URL1).

Tıbbi bitkilerin, ihtiva ettikleri fitokimyasallar (uçucu yağlar, alkoloitler, glikozitler, heterozitler, tanenler, lipitler, flavonozitler, müsilajlar, zamklar, saponozitler vd.) sayesinde hastalıkları tedavi ettiği veya bu hastalıkları önlediği tespit edilmiştir. (Karasu ve Öztürk 2014; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011).

Yaklaşık 2000 yıldır Geleneksel Çin Tıbbında *Astragalus* genellikle diğer otlar ile kombine edilerek hastalığa karşı vücudu güçlendirmek için kullanılmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011). *Astragalus* bir adaptogen görevi üstlenerek; fiziksel, zihinsel veya duygusal stres gibi çeşitli streslere karşı vücut dayanıklılığını artırmaktadır (Zhao et al. 1990; Foster and Chongxl 1992; Chen et al. 1995; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011)

*Astragalus*, kanser ve diyabet gibi hastalıklara karşı vücudun korunmasına yardımcı olmak, bağışıklık sistemini korumak ve desteklemek, soğuk algınlığı ve üst solunum yolu enfeksiyonlarını önlemek, düşük kan basıncı, diyabet tedavisi için ve karaciğeri korumak için kullanılmaktadır (Zhao et al. 1990; Foster and Chongxl 1992; Chen et al.

1995; Jin et al. 1995). *Astragalus* bitkileri topraktaki selenyumunu yüksek oranda alarak bünyesinde en çok selenyum ihtiva eden bitkiler arasında yerini almaktadır (Ateşşahin 2001). Selenyumun en önemli kaynağını bitkiler oluşturmaktadır (Şimşek vd. 2004; Derviş 2011).

Selenyum ile ilgili yapılan araştırmalar, selenyumun güçlü bir antioksidan olduğunu, hücreleri koruyarak ve bağışıklık sistemini güçlendirerek kanser riskini azalttığını göstermiştir (Derviş 2011; URL2). Ayrıca üreme sağlığında rol aldığı, çocuk düşürme riskini azalttığı, bağışıklık sistemini güçlendirdiği, AIDS'i, yaşlanmaya bağlı kataraktı, birçok kanser tipini, kan pıhtılaşmasını, hipertansiyonu önlediği saptanmıştır (Şimşek vd. 2004).

Ülkemizde yaklaşık ikibinbeşyüz türü bulunan *Astragalus*, Selenyum açısından zengin toprakları severek buna paralel olarak bünyesinde de yüksek oranda Selenyum minerali barındırır. Yapılan çalışmalarda bağışıklık sistemini uyararak, normal bireylerde doğal öldürücü hücre aktivitesini artırdığı, kanserli hücrelerde ise antitümör etkiyi artırdığı gözlemlenmiştir. İmmün sistemi iyileştirici etkisi 2007 tarihli bir makalede yaşlanma süreciyle ilişkilendirilmiştir (Şimşek vd. 2004; URL3).

*Astragalus*'un tıbbi amaçla kullanılabilmesini, etkili primer veya sekonder metabolitlerinin çeşitliliği ve miktarı da doğrudan etkilemektedir. Canlıların yapıtaşlarını oluşturan organik moleküller (karbonhidratlar, lipitler, proteinler, nükleik asitler ve enzimler) olup, organizmanın tüm hücrelerinde mevcut olan büyüme, gelişme ve çoğalma için gerekli olan maddelere "primer metabolit" denir. Canlılık faaliyetleri ile doğrudan ilgisi olmayan ve primer metabolizma sonucu sadece belirli organizma, cins (tür) veya dokularda üretilen diğer maddeler ise "sekonder (ikincil) metabolit" olarak tanımlanmaktadır (Kürkçüoğlu, 2010). Sekonder metabolitler mikroorganizmanın büyüme ve üremesi için gerekli değil, mikroorganizmaların yaşamlarını sürdürebilmek ve canlı kalabilmek için ürettiği maddelerdir. Ayrıca sekonder metabolitlerin, tozlaşma, çevresel koşullara uyum, mikroorganizma, böcek ve diğer predatörlere (avcılara) karşı kimyasal savunma, diğer bitkilerle yarışma gibi rollere sahip oldukları düşünülmektedir (Vanisree et al. 2004). Günümüz teknolojisinde hammaddenin tıbbi amaçla

kullanılabilirliği, kalitesinin belirlenmesi ve bitkisel materyaldeki bileşiklerin kimyasal teşhişleri için gerekli her türlü analiz kromotografik veya spektroskopik yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir. Elde edilen numunedeki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında yayılan veya absorblanan elektromanyetik ışımaya ölçülerek ve yorumlanarak saf maddelerin yapı tayini gerçekleştirilebilir (Kürkçüoğlu 2010).

Bu bağlamda madde yapısının aydınlatılmasında, karmaşık karışımlardan kimyasalların tanımlanması ve nicelleştirilmesi için kullanılan en güçlü yöntemlerden biri nükleer manyetik rezonans spektroskopisi, yaygın bilinen adıyla NMR spektroskopisidir. Moleküldeki bazı çekirdeklerin magnetik alanda spin kuantum düzeyleri arasındaki geçişlerini inceleyen bu yöntem ile moleküldeki çekirdeğin sayısı, türü ve kimyasal çevresi bulunabilir (Kürkçüoğlu, 2010; Balcı 2007). 1D ve 2D NMR spektroskopileri organik, inorganik ve biyokimyacılar tarafından bütün organik bileşiklerin analizinde çok fazla kullanılmaktadır (Kürkçüoğlu, 2010).

Tez kapsamında Çankırı ili ve çevresinde yayılış gösteren endemik üç *Astragalus* türü (*Astragalus anthylloides* Lam., *A. lycius* Boiss., *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm) ile çalışıldı.

1. Ekstrelerin fitokimyasal analizi (fenolik madde içeriği, sabit yağları)
2. Aynı ekstrelerin antiproliferatif ve sitotoksik aktivitelerinin incelenmesi
3. *Astragalus* türlerinin yetiştikleri toprağın Se miktarları ve buna bağlı olarak bitkideki Se miktar analizleri yapıldı.
4. Son olarak; *Astragalus* türlerinin türler arasında fitokimyasal ve selenyum içeriklerinin biyolojik aktiviteye katkısının karşılaştırılması yapıldı.
5. Elde edilen ekstrelerin metabolomik NMR analizleri gerçekleştirildi.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 *Fabaceae (Leguminosae)* Familyasının Genel Özellikleri

Yaklaşık 400 cins ve 10.000 dolayında türe sahip büyük bir familya olan Baklagiller (*Fabaceae*), *Leguminosae* olarak da bilinmektedir. Otsu, çalı ve ağaç formu bitkileri içeren bu familyada fasulye, bakla, nohut, soya, mercimek, bezelye, yalancı akasya, yabani keçiboynuzu, akasya, gülibrişim gibi bitkiler yer almaktadır (Lincoln 2003; Ertaş 2013; URL 4).

Saplı pürüzsüz yaprak, bir çanaktan oluşan periant ve her biri 5 bölümden oluşan korollaya sahiptir. Familyanın tüm üyeleri 5 taç yapraklı çiçek bulundurur. Kazık köklere sahip olan familyanın meyveleri legümen olup, tohumları sert kabukludur. Ayrıca *Rhizobium* bakterileri tarafından havanın serbest azotunu bağlarlar (Lincoln 2003; Ertaş 2013; URL 4).

### 2.2 *Astragalus L.* Cinsinin Genel Özellikleri

Baklagiller (*Fabaceae*) familyasına ait *Astragalus* (Geven), yetiştiği bölgelere göre çeşitlilik gösteren 2500 kadar türü bulunan otsu ve küçük çalılardan oluşan bitkidir (Maassoumi, 1998). Tıpta daha çok Çin'de yetişen Çin geveni kullanılmaktadır. Çin'in kuzey ve doğu bölgeleriyle, Moğolistan ve Kore de yetişen *Astragalus* kökü veya *Astragalus membranaceus* en fazla araştırılan türlerdir (URL 5).

Türk kitresi ve Anadolu kitresi olarak bilinen *Astragalus microcephalus* ve *Astragalus gummifer* bitkilerinin gövde veya kök kısımlarının üzerinde açılan kesiklerden alınan zamktan elde edilen kitre ilaç yapımında kullanılır (Kadioğlu vd. 2008; URL 6).

### 2.3 *Astragalus anthylloides* Lam. Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı



Şekil 2. 1 *Astragalus anthylloides* Lam. (URL 7)

#### Sistemik hiyerarşi (URL 8)

<b>Alem</b>	: <i>Plantae</i>
<b>Altalem</b>	: <i>Tracheobionta</i>
<b>Bölüm</b>	: <i>Magnoliophyta</i>
<b>Sınıf</b>	: <i>Magnoliopsida</i>
<b>Altsınıf</b>	: <i>Rosidae</i>
<b>Takım</b>	: <i>Fabales</i>
<b>Familya</b>	: <i>Fabaceae</i>
<b>Cins</b>	: <i>Astragalus</i> L.
<b>Tür</b>	: <i>Astragalus anthylloides</i> Lam.

#### Genel takson özellikleri (URL 8)

<b>Ömür</b>	: Çok yıllık
<b>Yapı</b>	: Otsu
<b>Çiçeklenme</b>	: 5-8 ay



**Habitat** : Bozkır, çalılık

**Yükseklik** : 750-1900m

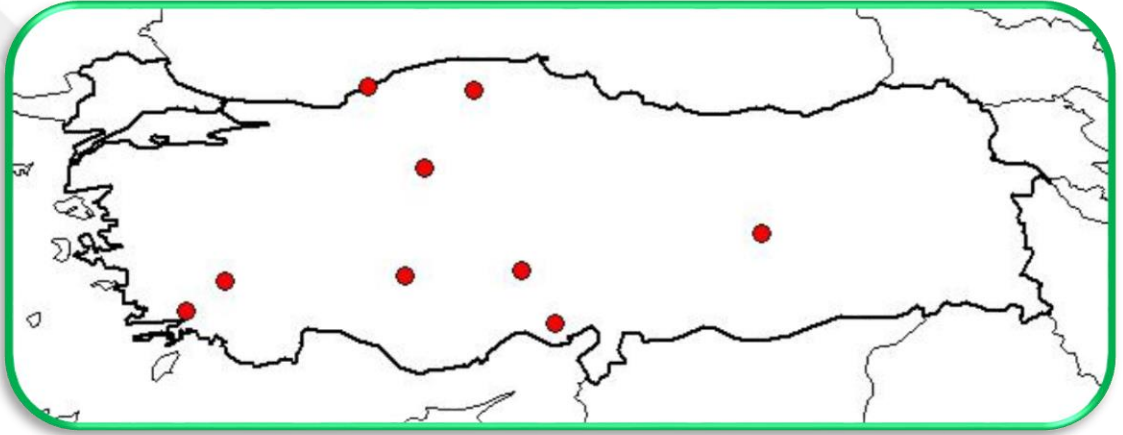
**Endemik** : Endemik

**Element** : İran-Turan

**Türkiye dağılımı:** Kuzey, güney ve Karasal Anadolu

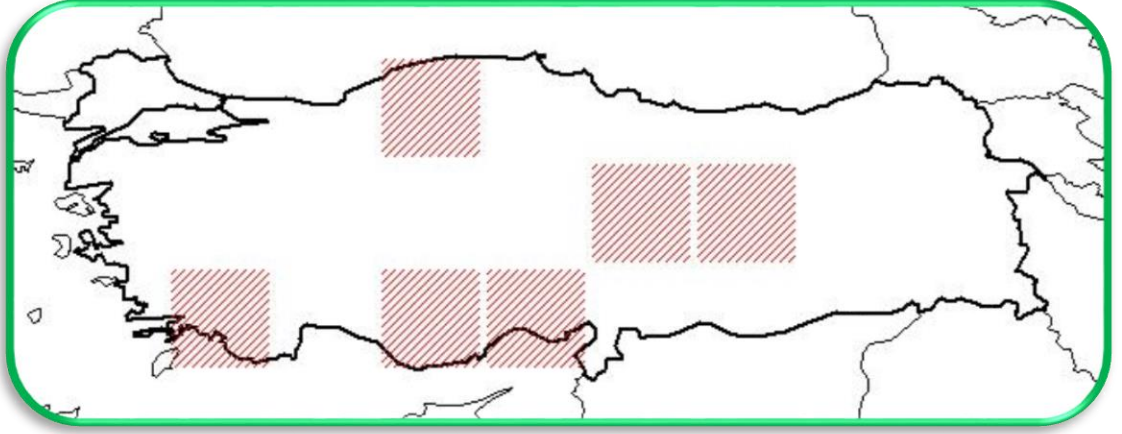
**Genel Dağılımı** : Türkiye

*Astragalus anthylloides* Lam. bitkisinin yayılış gösterdiği iller (Adana, Zonguldak, Kastamonu, Ankara, Denizli, Elazığ, Konya, Muğla, Niğde) (URL 8 Şekil 2.2).



Şekil 2. 2 *Astragalus anthylloides* Lam. bitkisinin yayılış gösterdiği iller (URL 8)

*Astragalus anthylloides* Lam. bitkisinin yayılış gösterdiği kareler: A4, B6, B7, C2, C4, C5 tir (Şekil 2.3).



Şekil 2. 3 *Astragalus anthylloides* Lam. bitkisinin yayılış gösterdiği kareler (URL 8)

#### 2.4 *Astragalus lycius* Boiss. Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı



Şekil 2. 4 *Astragalus lycius* Boiss. (URL 9)

#### Sistemik hiyerarşi (URL 10)

**Alem** : *Plantae*

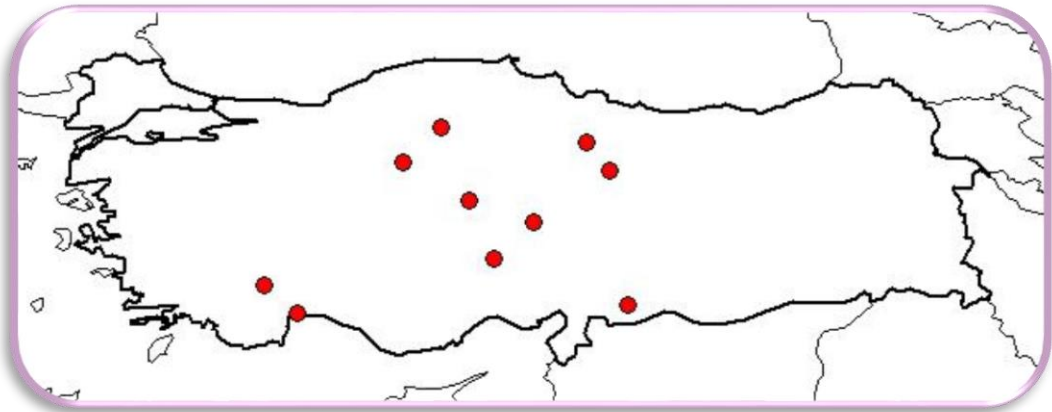
**Altalem** : *Tracheobionta*

**Bölüm** : *Magnoliophyta*  
**Sınıf** : *Magnoliopsida*  
**Altsınıf** : *Rosidae*  
**Takım** : *Fabales*  
**Familya** : *Fabaceae*  
**Cins** : *Astragalus* L.  
**Tür** : *Astragalus lycius* Boiss.

**Genel takson özellikleri (URL 10)**

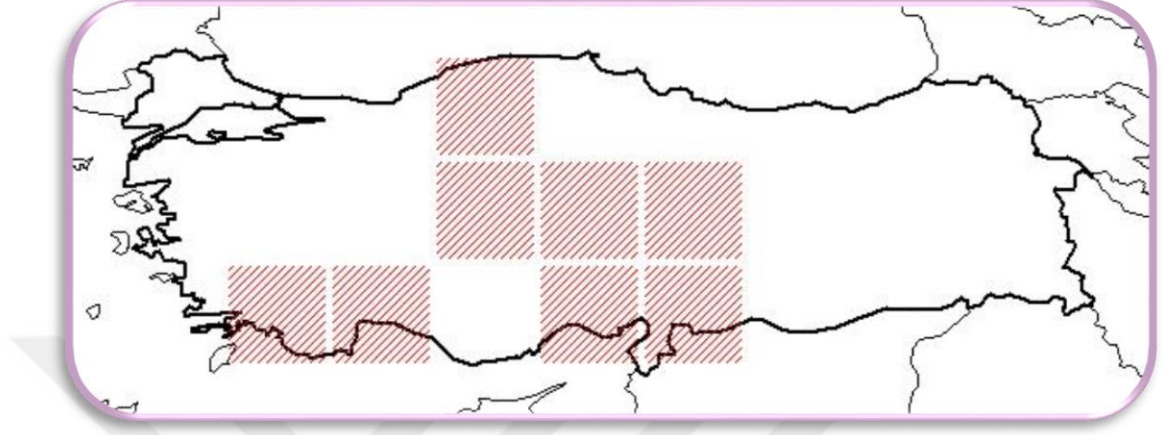
**Ömür** : Çok yıllık  
**Yapı** : Otsu  
**Çiçeklenme** : 5-6. aylar  
**Habitat** : Kireçtaşı yamaçlar, meşe makisi  
**Yükseklik** : 400-1800m  
**Endemik** : Endemik  
**Element** : Bilinmiyor  
**Türkiye dağılımı**: Orta, Kuzey, Güney ve Doğu Anadolu  
**Genel Dağılımı**: Türkiye

*Astragalus lycius* bitkisinin yayılış gösterdiği iller: Gaziantep, Çankırı, Ankara Antalya Burdur, Kayseri, Kırşehir, Niğde, Sivas, Tokattır (URL 10).



Şekil 2. 5 *Astragalus lycius* Boiss. bitkisinin yayılış gösterdiği iller (URL 10)

*Astragalus lycius* bitkisinin yayılış gösterdiği kareler: A4, B4, B5, B6, C2, C3, C5, C6 dır.



Şekil 2. 6 *Astragalus lycius* Boiss. bitkisinin yayılış gösterdiği kareler (URL 10)

## 2.5 *Astragalus xylobasis* Bunge Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı



Şekil 2. 7 *Astragalus xylobasis* Bunge (URL 11 )

**Sistemik hiyerarşi (URL 12)**

<b>Alem</b>	: <i>Plantae</i>
<b>Altalem</b>	: <i>Tracheobionta</i>
<b>Bölüm</b>	: <i>Magnoliophyta</i>
<b>Sınıf</b>	: <i>Magnoliopsida</i>
<b>Altsınıf</b>	: <i>Rosidae</i>
<b>Takım</b>	: <i>Fabales</i>
<b>Familya</b>	: <i>Fabaceae</i>
<b>Cins</b>	: <i>Astragalus</i> L.
<b>Tür</b>	: <i>Astragalus xylobasis</i>

**Genel takson özellikleri (URL 12)**

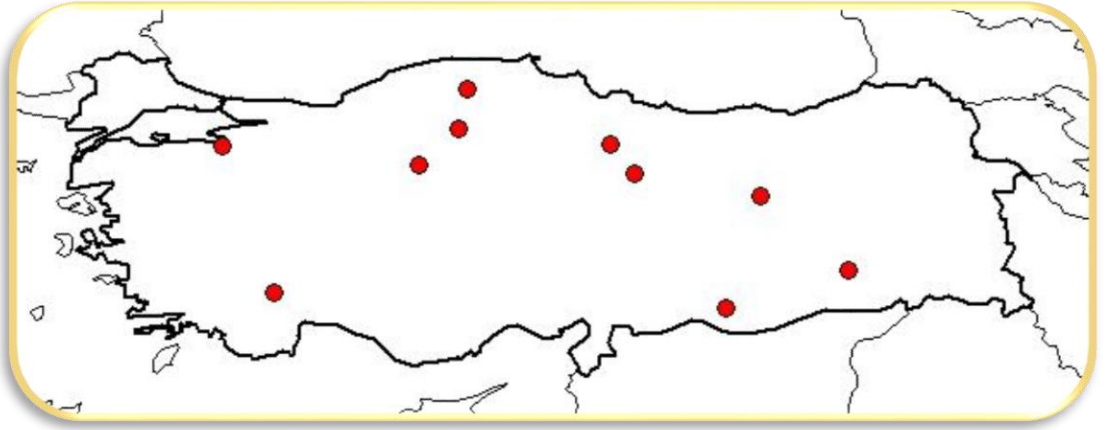
<b>Ömür</b>	: Çok yıllık
<b>Yapı</b>	: Otsu
<b>Çiçeklenme</b>	: 5-7. aylar
<b>Habitat</b>	: Kayalık tepe etekleri, bozkır
<b>Yükseklik</b>	: 300-1600m
<b>Endemik</b>	: Endemik
<b>Element</b>	: İran- Turan

**Türkiye dağılımı:** O. ve komşu K. Anadolu

**Genel Dağılımı:** Türkiye

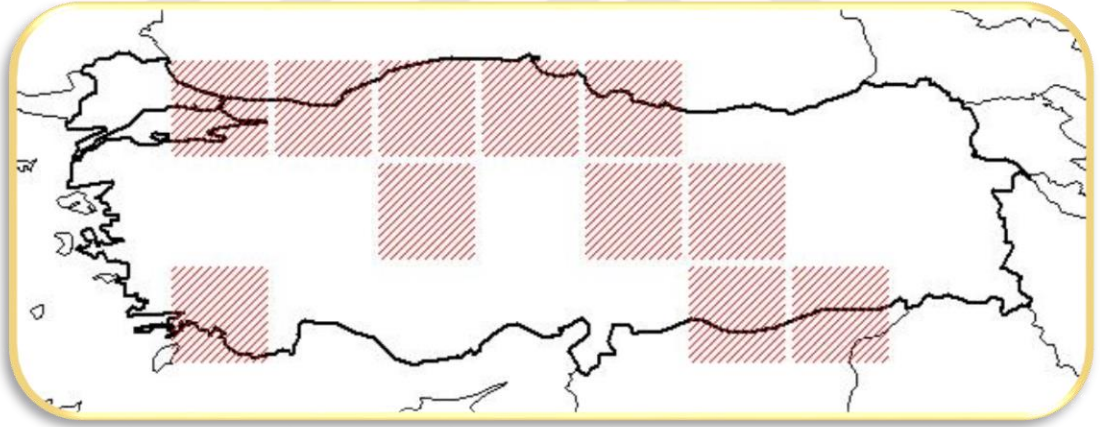
*Astragalus xylobasis* bitkisinin yayılış gösterdiği iller: Batman, Çankırı, Kastamonu, Ankara, Burdur, Bursa, Sivas, Tokat, Tunceli, Şanlıurfa dır (Şekil 2.8 URL 12).





Şekil 2. 8 *Astragalus xylobasis* bitkisinin yayılış gösterdiği iller (URL 12).

*Astragalus xylobasis* Bunge bitkisinin yayılış gösterdiği kareler: A2, A3, A4, A5, A6, B4, B6, B7, C2, C7, C8 (Şekil 2.9 URL 12).



Şekil 2. 9 *Astragalus xylobasis* bitkisinin yayılış gösterdiği kareler (URL 12).

## 2.6 Literatür Özeti

*Astragalus*'un içerdiği vonoidler, saponinler ve polisakkaritler bağışıklık sistemini birçok açıdan uyaran, kemik iliğindeki kök hücre sayısını artıran ve lenf dokusunu güçlendiren etkiye sahiptir (Ma et al. 2002).

İshal, yorgunluk, iştahsızlık, rahim ve göğüs ağrısı, uterus kanamaları, spontan terleme, soğuk algınlığı, nefes darlığı vakalarında tedavi amaçlı faydalanılan *Astragalus* türleri karaciğeri koruması, antioksidan, immünostimülan, antiviral, kalp ve böbrekler üzerinde adaptojenik etki göstermesi sebebiyle halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Hong 1986; Bensky and Gamble 1993; Kadioğlu vd. 2008).

### 2.6.1 *Astragalus* türlerinin potansiyel klinik faydaları

*Astragalus membranaceus* bitkisi gribe karşı, savaş kabiliyeti yüksek antikor üretimi sağlayarak bağışıklık sistemini güçlendirmektedir (Kadioğlu vd, 2008). *Astragalus membranaceus*'un içerisindeki saponinlerin, kan pıhtılaşmasını azalttığı, miyokarddaki lipit peroksitlerin işlevi üzerinde pozitif bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Sinclair 1998) ayrıca *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus hemolyticus*'a karşı *in vitro* antibakteriyel etkinliğe sahiptir (Hong 1986).

*Astragalus membranaceus*'un; içerdiği *Aatragli polysaccharoses*, kalp rahatsızlıklarının tedavi edilmesine, gribal enfeksiyonların şiddetinin ve süresini azaltılmasına, karaciğerin korunmasına, akciğer kanserinde tümör ilerleyişinin durdurulmasına olanak sağlamaktadır (Kadioğlu vd, 2008).

Boğaz hastalıklarının tedavisinde kullanılan *Astragalus gummifer* mukoza üzerine koruyucu etki göstermektedir (Kadioğlu vd, 2008). Eczacılıkta kullanılan *Astragalus tragacanthus* kitresi hastalıklara karşı vücut direncini artırarak bağışıklık sistemine yardımcı olmaktadır (Kadioğlu vd, 2008). *Astragalus canadensis* bitkisinin kök kısımları çiğnenerek veya çay olarak tüketildiğinde analjezik ve antihemorajik etki

gösterdiği, göğüs ve sırt ağrılarını, şiddetli öksürüğü hafiflettiği gözlemlenmiştir. Kök kısmı ezilerek elde edilen lapa yara ve kesikleri tedavide merhem olarak kullanılmaktadır (Moerman 1998).

*Astragalus membranaceus* (Şekil 2.10) ve *Astragalus mongholicus* köklerini de içeren bir tıbbi karışım hepatit B'yi tedavi etmede önemli etkiye sahiptir. Ayrıca toksik maddelerin uzaklaştırılmasını, karaciğerin rahatlatılmasını, dalağın güçlendirilmesini ve kansere karşı da direnç sağlamaktadır (Peng 2016).



Şekil 2. 10 *Astragalus membranaceus* (URL 13)

*Astragalus membranaceus*'un idrar yolu semptomlarının tedavisinde, kronik prostatit semptomlarının tedavisinde; kan stazı, anti-inflamatuar, analjezik etkileri görülmektedir (Cheng, 2015).

*Astragalus membranaceus*, immün sistemi bozukluklarının tedavisinde ve kemoterapötik ilaçların yan etkilerini hafifletmek için kullanıldığı bilgisi ışığında *Astragalus membranaceus* saponin ekstresinin anti-kanserojen etkileri HT-29 insan kolon kanseri



hücreleri ve tümör ksenograftında incelenmiştir. İnceleme sonucunda *Astragalus membranaceus* saponinlerinin insan kolon kanseri hücresi büyümesini hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak bilinen etki mekanizması ile inhibe edebildiği görülmüştür. Kemoterapide kullanılan sitotoksik ilaçların aksine, bu bitkisel ekstre kullanıldığında hem anti-tümör etkinin gözlenebileceği hem de daha az toksisite oluşabileceğini belirtmişlerdir (Tin et al. 2006).

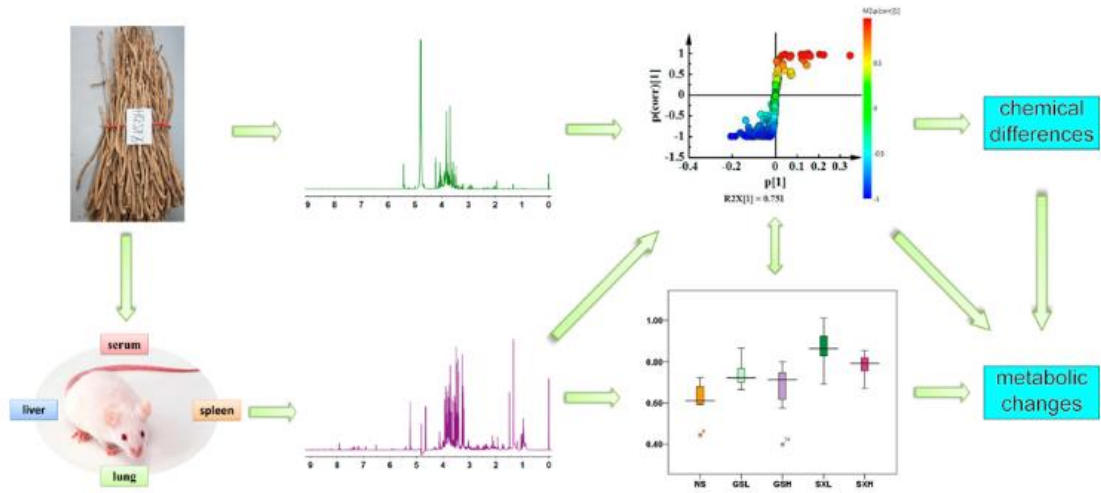
Ko ve arkadaşlarının yapmış olduğu araştırmaya göre bazı *Astragalus* türlerinin ve beraberinde bulunun diğer bitkilerin (*Angelica*, Göksel çiçeği) anjiyoproliferatif bozuklukları tedavi ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca yine bu çalışmada vasküler endotel hücreleri tarafından anjiyogenezi inhibe edici bir etkiye sahip olduğu, ancak toksisite göstermediği ve normal hücrelerde yan etkilere sahip olmadığı tespit edilmiştir (Ko et al. 2015).

Koroner kalp hastalığının tedavi edilmesinde ağırlıklarına göre *Panax ginseng*'le birlikte *Astragalus membranaceus* ve *Astragalus mongholicus* kökleri kullanılmaktadır (Pan et al. 2015).

Akut miyokard infarktüsü geçiren kırküç hasta üzerinde yapılan çalışmalar, *Astragalus membranaceus*'un sol ventrikül fonksiyonunu güçlendirerek, antioksidan etkisinin olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar bu antioksidan etkinin *Astragalus membranaceus*'un kardiyotik etkisinin mekanizmalarından biri olduğunu savunmaktadır (Chen et al. 1995).

Kanseri tedavi etmek için *Astragalus membranaceus* bitkisinin enjeksiyon çözeltisi, adjuvan (ana tedaviye yardımcı tedavi yöntemi) olarak kullanılmıştır. Bitkinin ana biyoaktif bileşeni olan *Astragalus polysaccharide*'in nörol tedavisinde yararlı etkiler sergilediği, sinir yaralanması semptomlarını iyileştirdiği ve aynı zamanda önemli nörotrofik ve nöronal fonksiyon arttırıcı yetenekler gösterdiği bulunmuştur (Xiang et al. 2016).

*Astragali radix* (AR) diyabet, viral miyokarditler, kardiyovasküler hastalıklar, nefropati ve nöropati tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Chen et al. 2006). Çin'de AR'nin ana kaynağı *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao kurutulmuş köküdür. Li ve arkadaşları 2015'te yaptıkları çalışmada, Shanxi bölgesinden topladıkları *Astragalus radix* (SX-AR) ve Gansu bölgesinden topladıkları *Astragalus radix* (GS-AR) iki farklı AR'nin kimyasal bileşimlerini, nükleer manyetik rezonansa dayalı metabolik parmak izi ve çok değişkenli analiz ile karşılaştırmışlardır (Şekil 2.11). SX-AR ve GS-AR ile indüklenen metabolik değişiklikler farelerde endojen metabolitler de karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, SX-AR ve GS-AR'nin sadece birincil metabolitlerde değil aynı zamanda sekonder metabolitlerde de farklı olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, serum, akciğer, karaciğer ve dalaktaki endojen metabolitler arasındaki değişikliklerin nispeten küçük olduğu gözlemlenmiştir (Li et al. 2015).



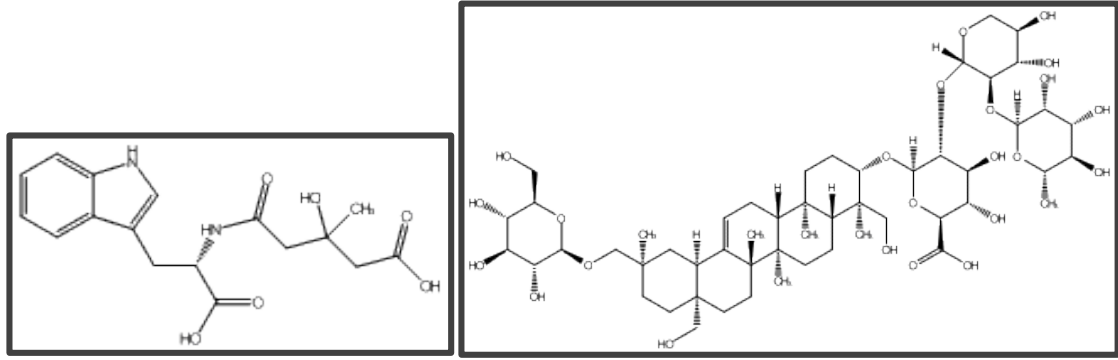
Şekil 2. 11 Li ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma şeması (Li et al. 2015)

Fareler üzerinde yapılan bir araştırmada *Astragalus mongholicus*'da bulunan glikoz ve arabinozdan oluşan polisakkaritlerin DNA, RNA ve protein sentezini artırdığı gözlemlenmiştir (Yeşilada et al. 2004).

## 2.6.2 *Astragalus* türlerinin fitokimyasal analizi ve biyolojik aktivitesi

*Astragalus* türlerinde sekonder metabolit olarak en fazla triterpenoitler (sikloartan, lanostan, oleanan) bulunmaktadır. İlk kez *Astragalus* bitkisinde sikloartan tip triterpenoitler bulunmuştur. Devamında yapılan araştırmalarda *Astragalus* türlerinde yüzelliiki tip sikloartan tanımlanmıştır (Mamedova and Isaev 2004).

*Astragalus trojanus* Stev. bitkisi üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda bilinen glikozitler dışında 8 yeni bileşen izole edilmiştir. Bu bileşenlerin altı tanesi sikloartan tip glikozit, bir tanesi oleanan glikozit (astrojanosid A) ve bir tanesi de triptofandır (achillamide) (Bedir et al. 1999 ; Şekil 2.12).

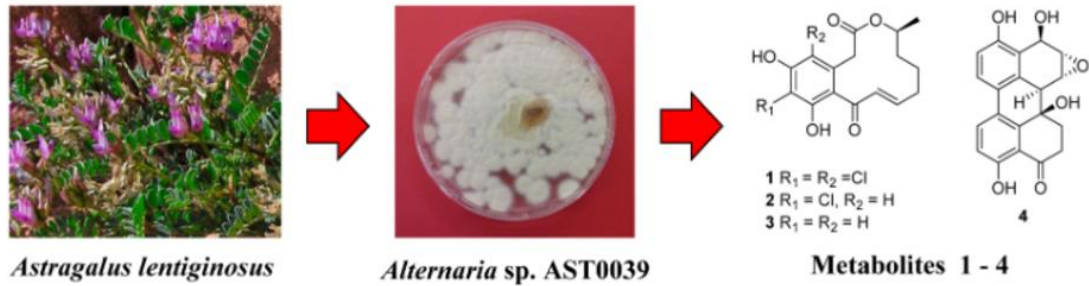


Şekil 2. 12 *achillamide* ve *astrojanosid A*

*Astragalus schottianus* BOISS. türünde yapılan çalışmada dört sikloartan grubu bileşik izole edilmiş, 1 tanesi daha önce yapılan çalışmalarda bulunan molekül olup (Cyclocanthoside E), diğer 3 tane sikloartan grubu bileşik ise bilim dünyası için yeni moleküllerdir.

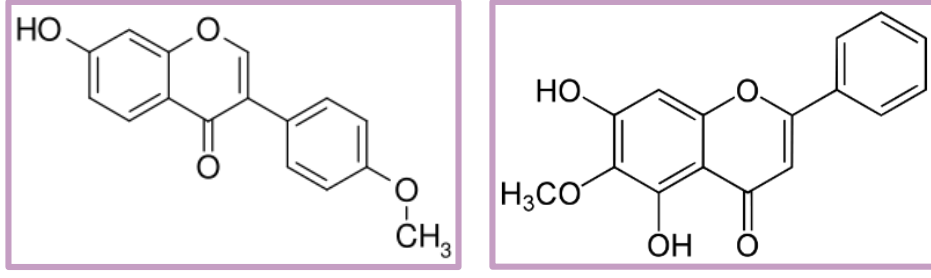
(20(R),25-epoxy-3-O-b-D-xylopyranosyl-24-O-b-D-glucopyranosyl-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,24 $\alpha$ -tetrahydroxy cycloartane, 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-3 $\beta$ , 6 $\alpha$ , 16 $\beta$ , 20(.), 24, 25-hexahydroxy-cycloartane, 20(R), 25-epoxy-3-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-xylopyranosyl-24-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-3 $\beta$ , 6 $\alpha$ , 16 $\beta$ , 24 $\alpha$ -hydroxycycloartane (Karabey ve Bedir 2012).

*Astragalus lentiginosus*'un yaprak dokusundan elde edilen endoftirik bir mantar olan *Alternaria sp.* AST0039'den, (-) - (10E, 15S) -4,6-dikloro-10 (II) -dehidrokurvulerin (1), (-) - 10E, 15S) -6-kloro-10 (11) -dehidrokurvürin (2), (-) - (10E, 15S) -10 (11) -dehidrokurvürin (3) ve alterperilenepoksit A (4) –acetylorsinol (Şekil 2.13) izole edilmiştir. Spektroskopik verilerinden bir ve dört yapıları oluşturulmuştur. Tüm metabolitlerin insan küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, insan CNS glioma, insan metastatik prostat adenokarsinoması, insan metastatik meme adenokarsinoması ve insan meme kanseri hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesi; ısı şoku ve katlanmamış protein tepkisini uyarma becerileri incelenmiştir. İki ve üç numaralı bileşikler, test edilen beş kanserli hücre dizisinin hepsine karşı sitotoksikite sergileyerek, pro-apoptotik transkripsiyon faktörü CHOP seviyesini arttırmıştır. Ancak sadece alterperilenepoksit A ısı şoku tepkisini azaltmış ve güçlü bir katlanmamış protein tepkisine neden olmuştur (Bashyal et al. 2017).



Şekil 2. 13 *Astragalus lentiginosus*'tan elde edilen bileşenler (Bashyal et al 2017)

Tian ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* bitkisinin etanol ekstresinden sekonder metabolitleri çeşitli kromatografi teknikleri kullanılarak saflaştırılmıştır. Sonuç olarak oniki bileşen elde edilmiştir:  $\beta$ -sitosterol (1), daucosterol (2), formononetin (3), oroxylin-A (4), wogonin (5), calycosin (6), adenosine (7), calycosin-7-O- $\beta$ -D-glycoside (8), (6 $\alpha$ R,11 $\alpha$ R)-9, 10-dimethoxy-pterocarpan-3-O- $\beta$ -D-glycoside (9), astragaloside II (10), isoastragaloside II (11), D-3-methoxy-chiro-inositol (12). Formononetin ve oroxylin-A bileşikleri *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* bitkisinden ilk kez izole edilmiştir (Tian et al. 2016) (Şekil 2.14).



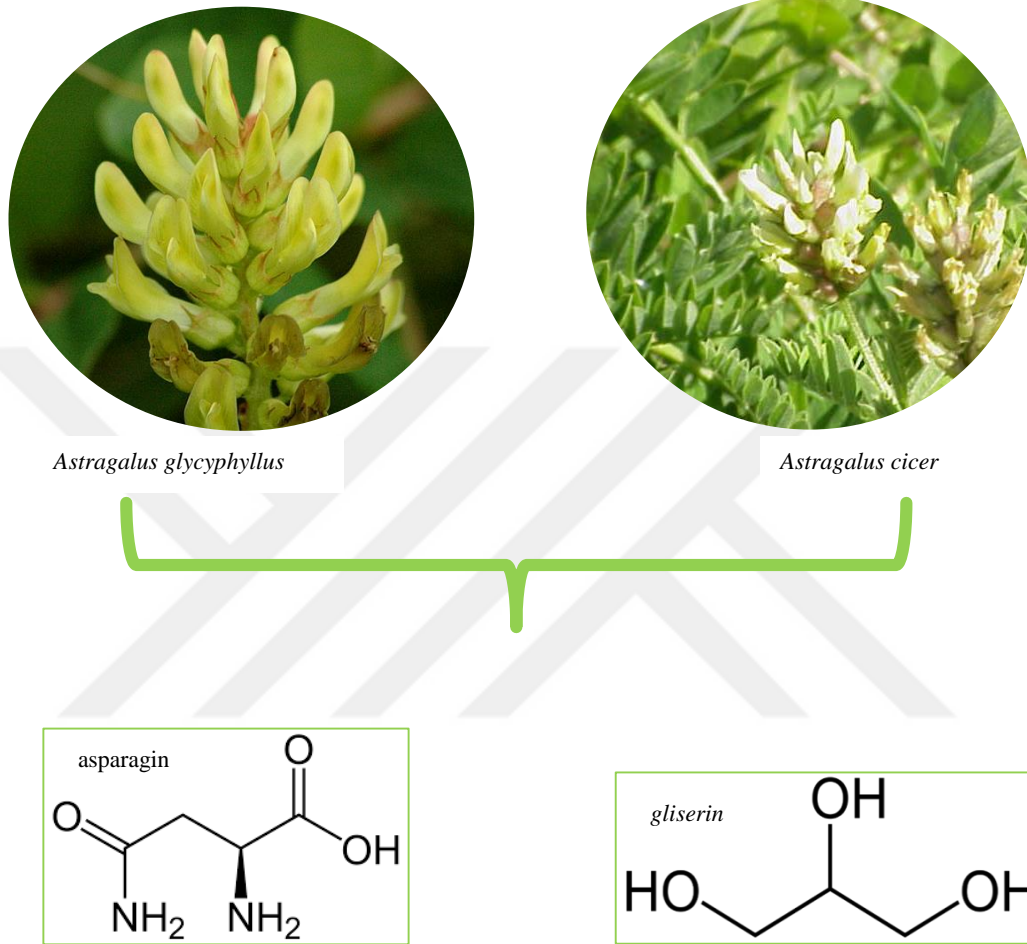
Şekil 2. 14 formononetin (1), oroxylin-A (2)

*Astragalus cruciatus* (Şekil 2.15) tüm bitkisinin metanol ekstresinden iki saponin (azukisaponin, astragaloside), dört flavonoid (narcissin, nicotiflorin, kaempferol-3-O-alpha-L-rhamnopyranosyl-(1-4)-alpha-rhamnopyranosyl-(1-6)-beta-D-glucopyranoside ve 5,7,2'-trihydroxyflavone) ve bir fitosterol glikozit (daucosterol) izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları 1D-2D nükleer manyetik rezonans (NMR) teknikleri ve elektrosprey iyonizasyon (ESI) kütle spektroskopisi kullanılarak belirlenmiştir (Benchadi et al. 2013).



Şekil 2. 15 *Astragalus cruciatus* (URL 14)

Yapılarında asparagin ve gliserin bulunduran *Astragalus glycyphyllus* ağrı kesici ve aneljezik olarak kullanılırken, *Astragalus cicer* tansiyon hastalarının tedavisinde, mide ve bağırsak iltihaplanmalarında kullanılmaktadır (Kadıoğlu vd, 2008) (Şekil 2.16).



Şekil 2. 16 : *Astragalus glycyphyllus* , *Astragalus cicer* bitkileri ve asparagin, gliserin molekülleri (URL 15, URL 16)

*Astragalus gombiformis* (Şekil 2.17) bitkisinin yaprak kısımlarının petrol eteri, diklorometan, metanol ve alkaloid ekstrelerinden akciğer epitelyal karsinoma hücresine karşı en yüksek sitotoksik aktivite diklorometan ekstresinden elde edilmiştir. Ayrıca bu ekstrelerin yedi bakteri türü (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*) üzerinde yapılan antimikrobiyal çalışmalar sonucunda



*S. typhimurium* bakterisine karşı yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Teyeb et al. 2012).



Şekil 2. 17 *Astragalus gombiformis* (URL 17)

### 2.6.3 Selenyum analizleri ve toksik etkisi

İz element selenyum (Se) temel besin mineralidir. Selenyum (Se), hayvanlar ve insanlar için başlıca mikrobesein elementidir. İnsan ve hayvan organizmasında bulunan selenyum eksiklikleri, patolojilerin hiçbirleriyle ilişkili olmadığı için dünya çapında tanınmaktadır (Tsivileva and Perfileva 2017). Ayrıca çeşitli organizmaların birçok proteininin bir bileşenidir (Birringer et al. 2002; Kryukov et al. 2003). Selenyumun bir besin olarak ihtiyaç duyulmasına ek olarak, sağlık içinde kullanım potansiyeli vardır. Erkek üreme ve bağışıklık fonksiyonu (McKenzie et al. 2001; Foresta et al. 2002), viral enfeksiyon (Beck et al. 2003) ve yaşlanma süreci (Soriano-Garcia, 2004) gibi birçok kullanım alanı vardır. Ayrıca, uygun olan miktarda kullanıldığında Se, bir kanser önleyici madde olarak hareket eder (Fleming et al. 2001; Ip et al. 2002; Whanger, 2004; McKenzie et al. 2009). Selenyumun mono metil türevi olan metilselenosistein (MeSeCys), kansere

karşı üstün koruyucu etkiler sağlar (Ip et al. 1991; Ganther, 1999; Ip et al. 2000; Whanger, 2002; McKenzie et al. 2009). MeSeCys den üretilen ve aktif bir anti-kanser madde olan, metil selenol, çok düşük dozlarda hemen hemen hiçbir toksik etkiye sahip değildir (Medina et al. 2001; Finley et al. 2001). Bu özellikler bu bileşikleri, özellikle bir kimyasal önleyici ajan olarak yararlı hale getirir. Hayvan meme kanserinin önlenmesinde, MeSeCys etkinliğini gösteren birçok çalışma vardır (Ip and Ganther 1992; Lu et al. 1996; Ip et al. 2000; Medina et al. 2001). MeSeCys *Brassica* ve *Allium* cinsi (Cai et al. 1995; Clark et al. 1996) ve Se-akümüle eden (topraktan kaldıran) *Astragalus bisulcatus* (Trelease et al. 1960; Nigam and McConnel 1969) tarafından üretilir.

Bu bilgiler ışığında, Çin tıbbi referans alınarak hazırlanan bir bitki çayında selenyum açısından zengin *Astragalus sinicus* kullanılmıştır. Bu çayın tonifikasyon yetersizliği, vücut direncinin güçlendirilmesi, bağışıklığın iyileştirilmesi, kanseri önleme ve kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların korunması gibi önemli etkileri vardır. Benzer olarak doğal selenyum bakımından *Astragalus sinicus* balı üretilmiştir (Wang et al. 2012; Li and Xi 2013). Selenyum açısından zengin *Astragalus sinicus*, sağlıklı yiyecekler veya içecekler üretmek için kullanılabilir (Xu et al. 2002).

#### **2.6.4 Bitkilerde metabolomik analiz**

Metabolomik analiz, metabolit profili veya metabolik parmak izi, özellikle bitki bilimleri alanında bilgi sağlamak için kullanılmaktadır. Bu uygulamalar arasında bitki organlarının ve türlerinin kimyasal parmakizleri, taksonominin belirlenmesi ve kalite kontrolü için faydalı bilgiler sağlamaktadır (Choi et al. 2005; Fiehn 2002; Frederich et al. 2004; Kim et al. 2005). Bu bağlamda bitki ve hayvan metabolizmaları ile ilgili yapılan çalışmalarda ve mikrobiyal araştırmalarda, NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) spektroskopisi (Wishart 2008), yiyecek ve bitkilerin coğrafi kökeninin belirlenmesinde, İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektroskopisi (ICP-MS) ve NMR spektroskopileri sıklıkla kullanılmaktadır (Kwon et al. 2014) .



Metabolizma ve metabolik süreçleri anlamamızı sağlayan en önemli metabolomik analiz yöntemlerinden biri olan NMR spektroskopisi, karmaşık karışımlardaki kimyasalların tanımlanması ve nicelleştirilmesi için kullanılır. Bilinen konsantrasyondaki saf bileşiklerden alınan referans spektrumları, kütüphanesindeki karışımlarla karşılaştırarak, birçok farklı biyolojik numunenin metabolomlarını karakterize etmemizi sağlayan NMR spektroskopi teknikleri ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  NMR) binlerce bitki ve hayvan metabolizmasına ilişkin araştırmalarda kullanılmıştır (Wishart 2008; Frederich et al. 2009).

NMR tabanlı yöntemler nispeten az numune hazırlamayı gerektiren, tahribatsız ve karışık bile olsa, tek tek bileşiklerin moleküler yapılarının belirlenmesine izin veren avantajlara sahiptir. Bu nedenle, fitofarmasötiklerin kalite kontrolü için bir yöntem olarak büyük bir potansiyele sahiptir (Verpoorte et al. 2007, 2008).

NMR spektrofotometresi 4 ana bölümden oluşur.

- 1) Kutup uçları arasında yüksek derecede homojen alan içeren mıknatıs
- 2) Radyo frekans vericisi
- 3) Radyo frekans alıcısı
- 4) Kaydedici

Örnek (proton içeren herhangi bir bileşik) homojen alan içerisine koyulur. Daha homojen bir alan elde etmek için numune döndürülür. Manyetik alanda proton farklı enerji seviyelerine dağılır. Radyo frekans vericisi tarafından oluşturulan değişken alan numune üzerine gönderilir. Radyo frekans vericisinin oluşturduğu değişken alanın frekansı rezonans koşulunu sağladığı zaman enerji absorplanır. Böylece kaybolan enerji radyo frekans alıcısı tarafından ölçülerek kaydedici tarafından sinyal olarak kaydedilir (Balcı 2007).

Bir NMR spektrumu; bize şu bilgileri verebilir:

- 1) NMR spektrumunda kaç çeşit proton olduğunu öğreniriz.
- 2) Sinyal gruplarının yerleri protonun türünü gösterir (aromatik, alifatik, olefinik)
- 3) Sinyal gruplarındaki yarılmalar komşu gruptaki proton sayısını ve bağ özelliğini verir.

- 4) Sıcaklık değiştirilerek moleküldeki bulunan prosesler belirlenebilir
- 5) Sinyal gruplarının altında kalan alanların integrasyonu, protonların sayıları hakkında bilgi verir (Balcı 2007).

Analitik cihazlardan elde edilen bilgilerin en detaylı ve yapıyı ortaya koyan en sağlıklı bilgiler NMR spektrumlarından elde edilmektedir. En fazla bilgiyi içermesi, bu spektrumların çok iyi yorumlanabilmesini de beraberinde getirmektedir. NMR spektroskopisi ile bir bileşikte konstitüsyon (atomların birbirine bağlantısı) tayininin yanı sıra konfigürasyon ve konformasyon tayini yapmakta mümkündür. Aynı zamanda moleküllerde mevcut olan dinamik prosesleri, yaklaşık olarak bağ uzunluklarını, atomlar arasındaki açıları inceleyen çok yönlü bir yöntemdir (Balcı 2007).

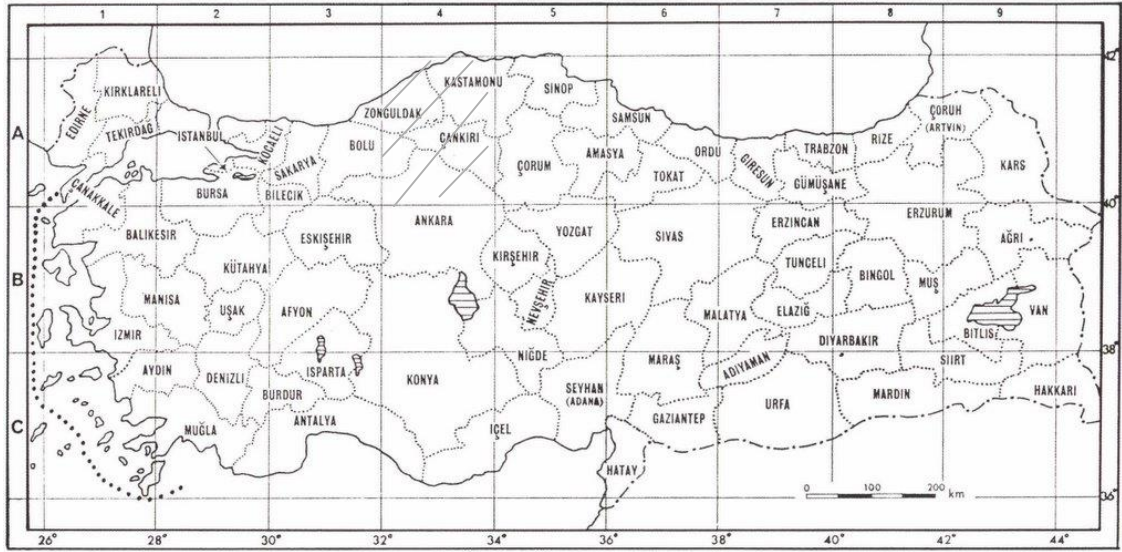
Metabolizma ve metabolik süreçleri anlamamızı sağlayan en önemli metabolomik analiz yöntemlerinden bir diğeri de ICP-MS'tir.

İndüktif olarak eşleştirilmiş plazma (ICP) ve kütle spektrometresi (MS) olmak üzere iki üniteden oluşan ICP-MS cihazında önce analiz edilmek istenen örnekteki elementler ICP de iyonlaştırılır daha sonra kütle spektroskopisine gönderilerek burada kütle/yük ( $m/z$ ) oranlarına göre ayrılarak ölçümler yapılır. Çözeltideki iz elementlerin derişimlerinin belirlenmesinde kullanılan bu cihaz aynı anda çok sayıda elementi analiz edebilme özelliği sayesinde nitel analizlerde ve izotop oranlarının belirlenmesinde, periyodik tablodaki elementlerin büyük çoğunluğunun (başta metalik elementler) nicel ve yarı-nitel tayinlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. ICP-MS'in çalışma aralığı diğer yöntemlere oranla oldukça geniştir. Birçok element için gözlenebilme sınırı  $ng/L$ 'nin (ppb ve daha düşük derişimler) altındadır. Birçok element için  $pg-mg/L$  arasında kalibrasyon grafikleri çizilebilmektedir ve bu farklı derişime sahip birçok elementin aynı anda analizine olanak sağlamaktadır. Değişik örnek göndericilerle eşleştirildiğinde ICP-MS, sıvı örnekler dışında katı örneklerin analizinde de sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır (Kürkçüoğlu 2010; URL 18).

### 3. MATERYAL METOT

#### 3.1 Bitkilerin Toplanması, Kurutulması ve Tür Teşhisi

Yapraklı ormanları İç Anadolu'da Çankırı İli'nin 25 km kuzeydoğusunda bulunmaktadır. Araştırma alanının yüksekliği yaklaşık olarak 1700 m civarındadır. Araştırma alanı fitocoğrafik açıdan İran-Turan (Irano-Turanian) floristik bölgesi içinde yer almaktadır. Türlerin ülkemizdeki yayılışlarının daha kolay izlenebilmesi için Davis'in (1965) önerdiği Grid sistemi örnek alındı. Bu sistemde Türkiye enlem ve boylamların geçtiği dereceler esas alınarak kuzeyden güneye A, B ve C olmak üzere üç ve batıdan doğuya doğru ise 1'den 10'a kadar olmak üzere 29 kareye ayrılır. Ayrılan karelere göre araştırma alanı A4 karesi içindedir (Şekil 3.1).



Şekil 3. 1 Araştırma alanının Grid sistemindeki yeri (URL 19)

Bitki örnekleme 2014 yılı haziran - eylül ayları arasında araştırma alanında yapıldı. *Astragalus anthylloides* Lam. Çankırı ili Yapraklı ilçesinde bozkır ve çalılıklarda, *Astragalus lycius* Boiss. kireçtaşı, yamaçlar, meşe makiliklerinde, *Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm. kayalık tepeler ve bozkırda yayılış göstermektedir. Bitki taksonları endemik olup, IUCN species Survival

Commission tarafından hazırlanan “IUCN Red List Categories” adlı yayınlardan, 1994’te yayınlanan Versiyon 2.3’e göre Ekim ve ark. (2000)’nın hazırladığı “Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı” (Ekim vd. 2000), adlı eser ve 2006 yılında yayınlanan Versiyon 6.2 (IUCN 2006)’e göre değerlendirilerek taksonların endemik sınıfı LC (en az endişe verici) kategorisi şeklinde belirlendi. Bitki örnekleme yapılırken bu bilgiler dikkate alınarak alandan bitki toplanmıştır.

### **3.2 Selenyum Analizi**

#### **3.2.1 Bitkide selenyum analizi**

0,2 g toz haline getirilmiş ve homojenize edilmiş bitkiden 15 mL falkon tüpe alındı. Üzerine 2 mL derişik HNO<sub>3</sub> eklendi. Kapakları kapatılarak 1 gece bekletildi. Ertesi gün 1 mL derişik HNO<sub>3</sub> ve 1 mL derişik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklendi. Kapaklar kapatılarak 60 °C su banyosunda 5 saat tutuldu. Örnekler santrifüj edilerek üzerinden alınan 500 µL çözeltili başka bir falkonda su ile 5 mL’ye tamamlandı. Çözeltili 0,45 mikron süzektan süzöldü ve analiz edildi. Selenyum analizleri, ICP-MS ile gerçekleştirildi.

#### **3.2.2 Toprak selenyum analizi**

1 g toprak (homojenize) üzerine 25 mL 0.1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> eklendi ve çalkalayıcıda 30 dakika çalkalandı. Çözeltili santrifüjlenecek ve 0.45 mikron süzektan süzölerek analiz edildi. Selenyum analizleri, ICP-MS ile gerçekleştirildi.

### **3.3 Kullanılan Kimyasallar**

Hekzan (Merck), kloroform (Merck), etil asetat (Merck), n-bütanol (Merck), metanol (Merck) ekstraksiyonları elde ederken kullanıldı.

DMEM (Dulbecco Modified Eagles Medium), Penicillin Streptomisine, Fetal Bovine Serum, Tripsin EDTA, 5-Florourasil, BrdU ELISA Kolorometric Kit, Trypan Blue antiproliferatif aktivite testlerinde kullanıldı.

### **3.4 Kullanılan Cihazlar**

ICP- MS : Aligent 7700

ELISA Mikroplate Okuyucu: Awareness Chromate, USA

GC-MS (Agilent 7890A gas chromatography and 5975C inert MSD, with Triple-Axis detector -Agilent Technology)

HPLC-TOF/MS (Agilent Technologies 1200 Infinity Series LC-6200 Series Accurate-Mass Time-of-Fligh)

İnkübatör CO<sub>2</sub> Water-Jacketed (Nuair US Autoflow)

Mikroskop (Olympus CX21)

Steril Kabin (Esco class II type A2)

Otoklav (Panasonic)

Döner buharlaştırıcı

Santrifüj

Manyetik karıştırıcı

Etüv

Isıtıcı

pH metre

Ultrasonik Banyo

Vorteks

Terazi

Hassas terazi

Su banyosu

Vakum pompası

### 3.5 Bitkinin Özütleme (Ekstraksiyon) İşlemi

Üç *Astragalus* türü kurutma işleminden sonra sıvı azot kullanılarak parçalama işlemine tabii tutuldu. Parçalanan bitkilerden 50'şer gram tartılarak bütün bitki kısımları için maserasyon yöntemi kullanıldı. Sırasıyla oda sıcaklığında, ikişer gün hekzan, kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ), etilasetat (EtOAc), n-bütanol (n-BuOH) ve metanol (MeOH) çözücülerinde ekstraksiyon işlemine tabii tutuldu. Elde edilen çözeltiler döner buharlaştırıcı kullanılarak uzaklaştırıldı ve hekzan,  $\text{CHCl}_3$ , EtOAc, n-BuOH ve MeOH ekstraktları elde edildi (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2 Hekzan,  $\text{CHCl}_3$ , EtOAc, n-BuOH ve MeOH ekstreleri

### 3.6 GC-MS Analizi Programı

Hekzan ekstresi Perkin Elmer Clarus 500 model gaz kromatografisi kullanıldı. Cihazda otosampler, HP-5MS kapiler kolon ( $350\text{ }^\circ\text{C}$ :  $30\text{ m} \times 250\text{ }\mu\text{m} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ ),  $70\text{ eV}$  iyonlaştırma voltajı ve FID detektörü kullanıldı. Fırın sıcaklığı şu şekilde:  $100\text{ }^\circ\text{C}$  de 2 dakika ve  $100\text{-}240\text{ }^\circ\text{C}$  arası  $5\text{ }^\circ\text{C/dk.}$  de 5 dakika, ve  $250\text{-}280\text{ }^\circ\text{C}$  arası  $5\text{ }^\circ\text{C/dk.}$  de 15 dakika tutuldu. Şırınga hacmi  $10\text{ }\mu\text{L}$ , enjeksiyon hacmi  $1\text{ }\mu\text{L}$  ve ekstreler splitsiz cihaza enjekte edildi. MS Source ( $230\text{-}250\text{ }^\circ\text{C}$ ) ve MS Quad ( $150\text{-}200\text{ }^\circ\text{C}$ ) olarak ayarlandı. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı ve akış oranı  $1\text{ mL/dk.}$  olarak ayarlandı.

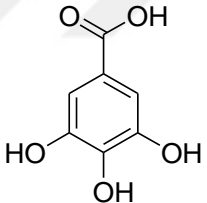
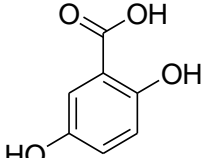
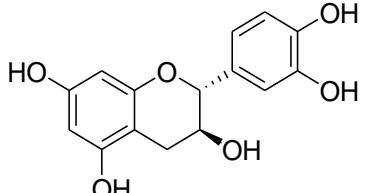
### 3.7 HPLC-TOF/MS Analiz

Bitki ekstrelerinin fenolik içeriği, Agilent Poroshell 120 EC-C18 ( $2.7\text{ mm}$ ,  $4,0 \times 50\text{ mm}$ ) kolon, 6210 (TOF) LC/MS dedektör ile birlikte Agilent Technologies 1260 Infinity HPLC Sistemi kullanılarak belirlendi. Mobil faz A ve B, sırasıyla, ultra saf su çözeltisi ile % 0,1 formik asit ve asetronitril olarak belirlendi. Akış hızı  $0,4\text{ mL/dk}$ , kolon sıcaklığı  $35\text{ }^\circ\text{C}$  ve enjeksiyon hacmi  $5\text{ }\mu\text{L}$ 'dir. Çözücü programı: 0. dakikada % 10 B; 0-1. dakikada % 10 B; 1-10. dakikada % 80 B; 10-19. dakikada % 80 B; 19-19,10. dakikada % 10 B; 19,10-29,1. dakikada % 10 B olarak takip edildi. Tayin basamağında

standart bileşiklerin tutunma süreleri ve m/z değerleri kullanıldı. MS-TOF cihazının iyonizasyon modu 325°C gaz sıcaklığı ile negatif, gaz akışı 11.0 mL/dk ve nebulizör 45 (psi) olarak belirlendi.

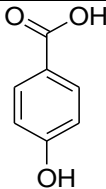
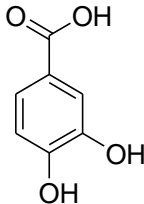
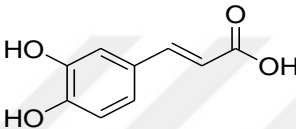
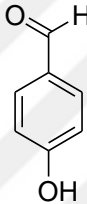
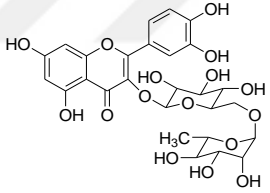
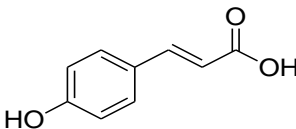
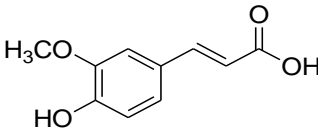
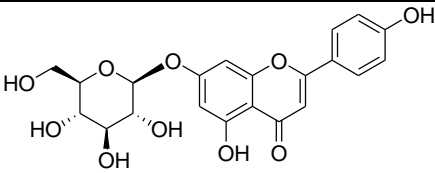
Yirmi beş fenolik bileşenin (klorojenik asit, 4-hidroksibenzaldehit, hesperidin, apigenin-7-glikozit, rosmarinik asit, protokateşik asit etil esteri, kateşin, gallik asit, vanilik asit, gentisik asit, kaftarik asit, 4-hidroksibenzoik asit, kersetin, kafeik asit, rutin, p-kumarik asit, kamferol, ferulik asit, protokateşik asit, naringenin, salisilik asit, sisorik asit, ellajik asit, resveratrol, sinnamik asit) kantitatif analizi gerçekleştirildi (Tablo 3.1).

Tablo 3. 1 Analizi Gerçekleştirilen Fenolik Bileşenler

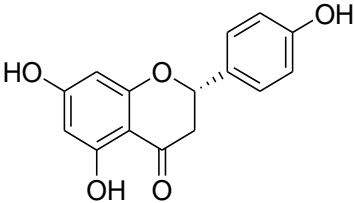
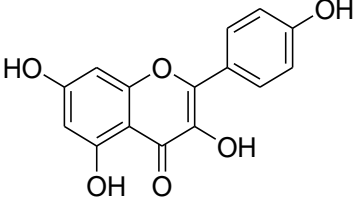
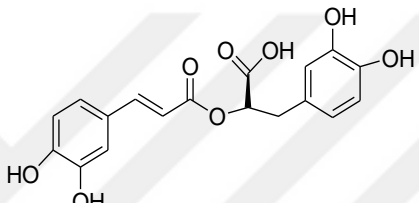
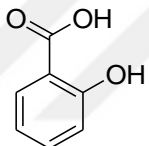
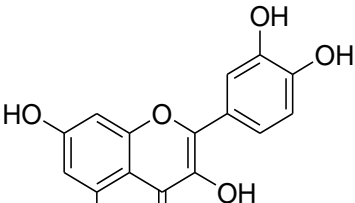
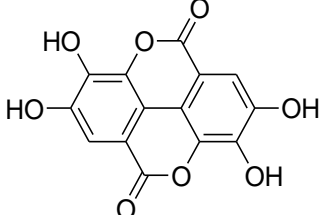
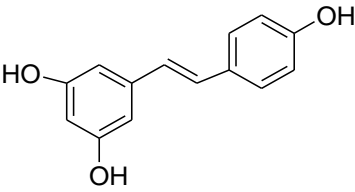
No	Molekül Adı	Molekül formülü	Kapalı formülü	Gerçek Molekül ağırlığı (g/mol)	Hesaplanan Molekül ağırlığı (g/mol)
1	Gallik asit		C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	169,0142	169,0112
2	Gentisik Asit		C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	153,0193	153,0163
3	Kateşin		C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	289,0718	289,0675



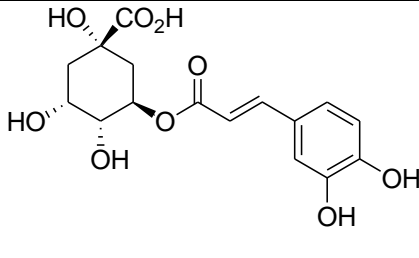
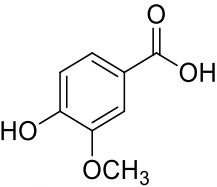
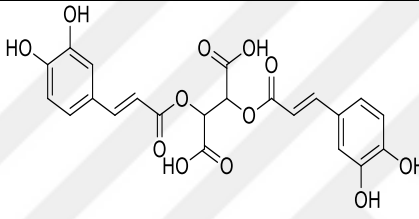
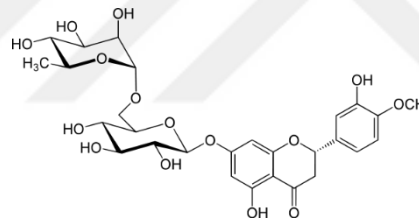
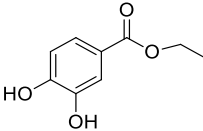
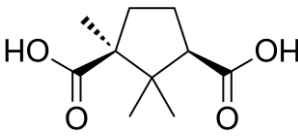
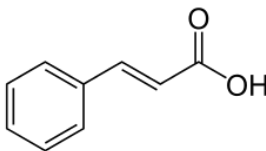
Tablo 3.1 Devam

4	4-Hidroksi benzoik Asit		$C_7H_6O_3$	137,0244	137,0217
5	Proto kateşoik Asit		$C_7H_6O_4$	153,0193	153,0159
6	Kafeik Asit		$C_9H_8O_4$	179,0350	179,0316
7	4-Hidroksi benzaldehit		$C_7H_6O_2$	121,0295	121,0271
8	Rutin		$C_{27}H_{30}O_{16}$	609,1461	609,1395
9	p-Kumarik Asit		$C_9H_8O_3$	163,0401	163,0367
10	Ferulik Asit		$C_{10}H_{10}O_4$	193,0506	193,0469
11	Apigenin-7-glikozit		$C_{21}H_{20}O_{10}$	431,0984	431,0939

Tablo 3.1 Devam

12	Naringenin		$C_{15}H_{12}O_5$	271,0612	271,0698
13	Kamferol		$C_{15}H_{10}O_6$	285,0405	285,0369
14	Rosmarinik Asit		$C_{18}H_{16}O_8$	359,0772	359,0732
15	Salisilik Asit		$C_7H_6O_3$	137,0244	137,0220
16	Kersetin		$C_{15}H_{10}O_7$	301,0354	301,0317
17	Ellajik Asit		$C_{14}H_6O_8$	300,9990	300,9946
18	Resveratrol		$C_{14}H_{12}O_3$	227,0714	227,0678

Tablo 3.1 Devam

19	<b>Klorojenik Asit</b>		$C_{16}H_{18}O_9$	353,0878	353,0826
20	<b>Vanilik Asit</b>		$C_8H_8O_4$	167,0349	167,0467
21	<b>Sisorik Asit</b>		$C_{22}H_{18}O_{12}$	473,0725	473,0676
22	<b>Hesperidin</b>		$C_{28}H_{34}O_{15}$	609,1824	609,1761
23	<b>Protokateşik Asit Etil Esteri</b>		$C_9H_{10}O_4$	181,0506	181,0479
924	<b>Kaftarik Asit</b>		$C_{10}H_{16}O_4$	199,0975	199,0977
25	<b>Sinnamik asit</b>		$C_9H_8O_2$	147,0451	147,0552

### 3.8 Metabolomik NMR Analizleri

Elde edilen tüm ekstrelerden 10mg alındı ve 450 µL DMSO-d<sub>6</sub>'da çözüldü. <sup>1</sup>H NMR analizleri 256 scan sayısında, <sup>13</sup>C NMR analizleri ise 4000 scan sayısında Bruker 600 MHz NMR'da alındı.

### 3.9 Antiproliferative Aktivite Testlerinin Yapılması

#### 3.9.1 Kanser hücre hatları ve hücre kültürü

Bu çalışmada HeLa ve C6 kanser hücre hatları kullanıldı. Hücreler Fetal Bovine Serum (% 10 FBS) ve Penisilin-Streptomisin (% 2 PenStrep) solüsyonu içeren Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM; Sigma, Germany) besi yerinde kültüre edildi. Hücreler, steril T75 hücre kültür flasklarında 37°C'de % 5 CO<sub>2</sub> ortamında 4-5 gün inkübe edilip konfluent hale geldiğinde, flasklardaki besi yeri 10 mL Tripsin-EDTA solusyonu ile değiştirildi, 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında flask hafifçe çalkalanarak hücrelerin yüzeyden ayrılması sağlandı. Oluşan hücre süspansiyonu 15 mL steril falkon tüplere aktararak, hücreler üzerine 10 mL taze besi yeri eklenerek ve hücreler 600 RPM de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısım aspire edildikten sonra, hücre pelleti 2 mL taze besi yeri ile süspansiyon haline getirildi. Hücre sayımı için süspansiyonundan alınan 20 µl hücre 20 µl tripan mavisi solusyonu ile karıştırıldı. Bu karışımın 20 µL'si Thoma lamına pipetlenerek hücreler mikroskop altında sayılarak hücre konsantrasyonu belirlendi. (Hücre sayısı = 5 kuyucuktan sayılan toplam hücre sayısı x seyreltme faktörü x 50.000). Sayım işleminden sonra yeni bir steril 15 mL'lik Falcon tüp içinde çalışılarak hücre stok süspansiyonu hazırlandı. Eğer hücreler sadece split edilecekse ana hücre stoğundan 1x10<sup>6</sup> hücre/ml olacak şekilde dilue edilerek, 1 ml hücre içinde 20 ml taze medyum bulunan kültür flasklarına pipetlenerek 37 °C'de % 5 CO<sub>2</sub> ortamında 4-5 gün inkübe edildi.

### **3.9.2 *In vitro* antiproliferatif aktivite testi**

Hazırlanan hücre stoğundan 100 µL hücre süspansiyonu 96 kuyucuklu plakaların kuyucuklarına triplike olacak şekilde pipetlendi. Pozitif kontrol olarak, antikanser bileşik olan 5-Florourasil (5-FU; Sigma F6627) test maddesi ile aynı konsantrasyonlarda, negatif kontrol olarak test maddelerin çözüldüğü çözücü olan DMSO istenen konsantrasyonlara (IC<sub>50</sub> konsantrasyonu altında ve üstünde) göre ilgili kuyucuklara eklendi. Kuyucuklardaki son hacim 200 µL olacak şekilde besi yeri ile tamamlandı. Pipetleme işlemi tamamlandıktan sonra plakalar 37 °C'de % 5 CO<sub>2</sub> ortamında 24 saat inkübe edildi.

### **3.9.3 BrdU cell ELISA hücre proliferasyon deneyi**

Test maddelerinin antikanser (antiproliferatif) aktivitesi BrdU Cell Proliferation ELISA Kiti (Roche 11 647 229 001, Germany) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne göre test edildi. Kısaca, inkübasyon sonrasında tüm kuyucuklara 20 µL BrdU eklendi. 4 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda kuyucuklardaki çözelti ters çevrilerek boşaltılarak 200 µL FixDenat eklendi. 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Daha sonra FixDenat solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra tüm kuyucuklara 200 µl anti-BrdU-POD solüsyonu eklendi. 90 dakika inkübe edilecek ve sonunda kuyucuklardaki çözelti ters çevrilerek boşaltıldı. Bu işlem sonunda bütün kuyucuklar 3 x 200 µL yıkama solüsyonu ile yıkandı. 100 µL substrat solüsyonu eklendi. 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Daha sonra reaksiyon 25 µL 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenerek durduruldu. Plakalar uygun bir mikropilaka okuyucu kullanılarak 450 ve 650 nm dalga boyunda okutuldu. Absorbans değerleri elde edildi.

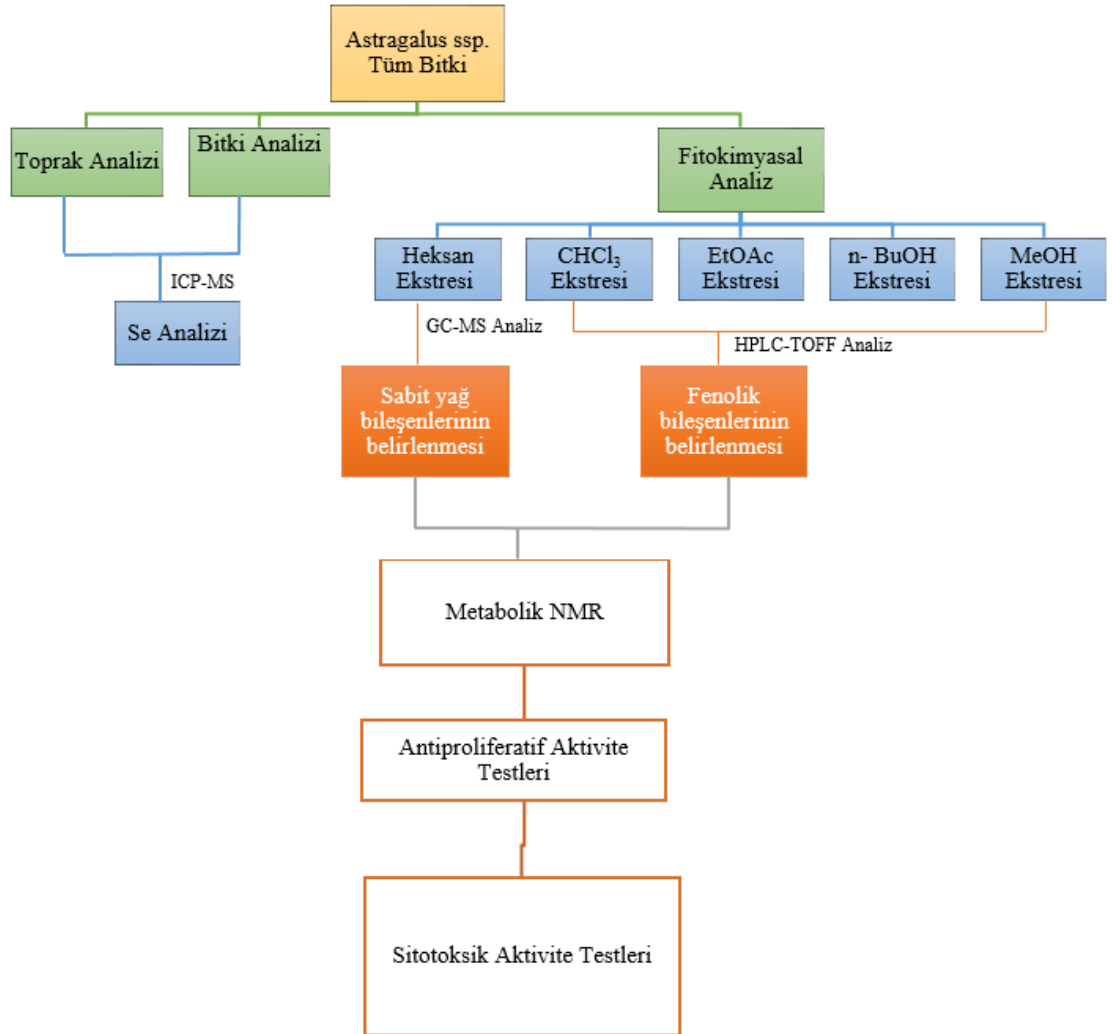
### **3.9.4 IC<sub>50</sub> konsantrasyonunun belirlenmesi**

Test edilen her maddenin IC<sub>50</sub> konsantrasyonunu (% 50'sinin proliferasyonunun inhibe ettiği konsantrasyon) belirlenmesi için Excel, SigmaPlot veya ED50V10.XLS programı kullanılarak hesaplandı.

### 3.9.5 Sitotoksik aktivite testlerinin yapılışı

Test maddelerinin sitotoksik aktivitesinin belirlenmesi için, hücreler test maddesinin IC<sub>50</sub> konsantrasyonunun altında ve üstünde seçilecek konsantrasyonlarda LDH Cell Cytotoxicity Assay (Roche 04 744 926 001, Germany) kullanarak üretici firmanın prosedürüne göre belirlendi ve % sitotoksisite hesaplandı.

Projenin özet şeması Şekil 3.3’de verilmiştir.



Şekil 3. 3 Çalışma şeması

## 4. BULGULAR

### 4.1 Bitkilerin Tür Teşhisi ve Herbaryum Numaralarının Alınması

Toplanan bitkilerin tür teşhisi Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN tarafından yapıldı. Bitkinin herbaryum materyali hazırlandı ve herbaryum numaraları Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumundan alındı (Tablo 4.1).

Tablo 4. 1 Bitkilerin herbaryum numaraları

Bitki Adı	Herbaryum Numarası
<i>Astragalus anthylloides</i> Lam	ANK 60523
<i>Astragalus lycius</i> Boiss.	ANK 60527
<i>Astragalus xylobasis</i> var. <i>angustus</i>	ANK 60529

### 4.2 Elde Edilen Ekstreler ve Ekstre Verimleri (%)

*Astragalus anthylloides* Lam., bitkisinin kök (K), gövde (G), çiçek (Ç), toprak üstü (TÜ) ve bütün bitki (BB) kısımlarından elde edilen en yüksek verim (% 3.20-7.12) metanol ekstrelerinden elde edilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4. 2 *Astragalus anthylloides* Lam., bitkisinin kök , gövde, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarından elde edilen ekstre miktarları ve verimleri (%)

Çözücü	Kısım	Bitki miktarı (g)	Çözücü (mL)	Ekstre (mg)	Verim (%)
<b>Hekzan</b>	K	30	450	64,00	0,21
	G	30	450	40,60	0,14
	Ç	30	450	97,80	0,33
	TÜ	30	450	74,50	0,25
	BB	50	750	219,90	0,44
<b>Kloroform</b>	K	30	450	110,00	0,37
	G	30	450	67,00	0,22
	Ç	30	450	116,80	0,39
	TÜ	30	450	99,60	0,33
	BB	50	750	186,70	0,37
<b>Etil asetat</b>	K	30	450	19,60	0,07
	G	30	450	42,10	0,14
	Ç	30	450	21,20	0,07
	TÜ	30	450	40,30	0,13
	BB	50	750	47,80	0,10
<b>n-Bütanol</b>	K	30	450	33,80	0,11
	G	30	450	16,70	0,06
	Ç	30	450	64,10	0,21
	TÜ	30	450	11,80	0,04
	BB	50	750	81,80	0,16
<b>Metanol</b>	K	30	450	958,60	3,20
	G	30	450	1994,60	6,65
	Ç	30	450	1516,20	5,05
	TÜ	30	450	2135,70	7,12
	BB	50	750	1920,10	3,84

*A. lycius* Boiss., bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarından elde edilen en yüksek verim (% 1.01-3.72) metanol ekstrelerinden elde edildi (Tablo 4.3).



Tablo 4. 3 *A. lycius Boiss.*, bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarından elde edilen ekstre miktarları ve verimleri (%)

Çözücü	Kısım	Bitki miktarı (g)	Çözücü (mL)	Ekstre (mg)	Verim (%)
<b>Hekzan</b>	K	20	450	70,70	0,35
	TÜ	30	450	107,70	0,36
	BB	50	750	291,60	0,58
<b>Kloroform</b>	K	20	450	85,10	0,43
	TÜ	30	450	160,70	0,54
	BB	50	750	2344,40	4,69
<b>Etil asetat</b>	K	20	450	25,30	0,13
	TÜ	30	450	44,10	0,15
	BB	50	750	170,50	0,34
<b>n-Bütanol</b>	K	20	450	67,70	0,34
	TÜ	30	450	88,10	0,29
	BB	50	750	152,20	0,30
<b>Metanol</b>	K	20	450	<b>359,6</b>	<b>1,79</b>
	TÜ	30	450	1115,60	3,72
	BB	50	750	507,10	1,01

*A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarından elde edilen en yüksek verim (% 2.16-8.40) metanol ekstrelerinden elde edilmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4. 4 *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarından elde edilen ekstre miktarları ve verimleri (%)

Çözücü	Kısım	Bitki miktarı (g)	Çözücü (mL)	Ekstre (mg)	Verim (%)
<b>Hekzan</b>	K	30	450	13,20	0,04
	TÜ	30	450	42,90	0,14
	BB	50	750	142,70	0,29
<b>Kloroform</b>	K	30	450	32,90	0,11
	TÜ	30	450	125,80	0,42
	BB	50	750	199,20	0,40

Tablo 4.4 Devam

<b>Etil asetat</b>	K	30	450	23,10	0,08
	TÜ	30	450	45,10	0,15
	BB	50	750	85,20	0,17
<b>n-Bütanol</b>	K	30	450	39,20	0,13
	TÜ	30	450	49,20	0,16
	BB	50	750	56,80	0,11
<b>Metanol</b>	K	30	450	647,30	2,16
	TÜ	30	450	2518,90	8,40
	BB	50	750	1264,20	2,53

### 4.3 Hekzan Ekstrelerinin GC-MS Analiz Sonuçları

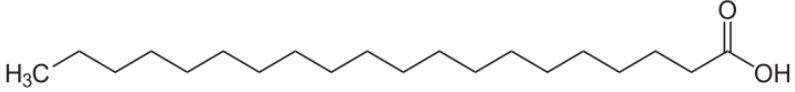

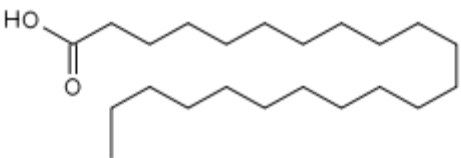
*Astragalus anthylloides* Lam., bitkisinin kök (K), gövde (G), çiçek (Ç), toprak üstü (TÜ) ve bütün bitki (BB) kısımlarının hekzan ekstrelerinin GC-MS analizi sonucunda, toplam 63 bileşen belirlenmiştir. Bu bileşenlerden 11 tanesi doymuş yağ asidi, 1 tanesi mono doymamış yağ asidi, 2 tanesi çoklu doymamış yağ asidi ve diğer bileşenlerdir (Tablo 4.5, Şekil 4.1). *A. anthylloides* Lam., bitkisinin kök kısımlarının hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak araşidik asit (% 18.64), behenik asit (% 24.03) ve nonakosan (% 10.48) olarak belirlendi. Bu bitkinin gövde kısımlarının hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonucunda, araşidik asit (% 32.64), behenik asit (% 23.55) ana bileşenler olarak tespit edildi. *A. anthylloides* Lam., bitkisinin çiçek kısımlarının hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak araşidik asit (% 12.24), heptakosan (% 10.58) ve nonakosan (% 33.03) olarak belirlendi. Toprak üstü kısımlarında ise, araşidik asit (% 43.35), behenik asit (% 10.05) ana bileşenler olarak tespit edildi. Son olarak bütün bitkinin hekzan ekstrelerinde ise, heptakosan (% 18.58) nonakosan (% 19.85) ve oktakosanol (% 17.77) ana bileşenler olarak belirlendi.

Tablo 4. 5 *Astragalus anthylloides* Lam., bitkisinin kök, gövde, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonuçları

No	RT	İzomer	Bileşik Adı	%miktar				
				K	G	Ç	TÜ	BB
<b>Doymuş Yağ Asitleri</b>								
1	19.825	C <sub>12</sub> :0	Laurik asit	0,40	0,22	0,49	0,12	1,28
2	22.881	C <sub>14</sub> :0	Miristik asit	0,89	0,54	0,62	0,45	1,95
3	27.567	C <sub>16</sub> :0	Palmitik asit	5,49	2,81	2,97	3,20	0,99
4	32.557	C <sub>18</sub> :0	Stearik asit	2,32	2,05	1,63	1,91	0,39
5	34.908	C <sub>20</sub> :0	<b>Araşidik asit</b>	<b>18,64</b>	<b>32,64</b>	<b>12,24</b>	<b>43,35</b>	2,66
6	36.007	C <sub>21</sub> :0	Heneikosylik asit	1,65	1,91		1,88	
7	37.289	C <sub>22</sub> :0	<b>Behenik asit</b>	<b>24,03</b>	<b>23,55</b>	<b>8,11</b>	<b>10,05</b>	1,23
8	38.788	C <sub>23</sub> :0	Trisiklik asit	1,48	0,24		0,40	
9	40.613	C <sub>24</sub> :0	Lignoserik asit	7,26	3,60		2,52	
10	45.528	C <sub>26</sub> :0	Cerotik asit	0,93	0,36		0,45	
11	53.270	C <sub>28</sub> :0	Montanik asit	1,25	0,44		0,59	
<b>Ara Toplam</b>				64,34	68,36	26,07	64,92	8,50
<b>Mono Doymamış Yağ Asitleri</b>								
12	32.242	C <sub>18</sub> :1	Oleik asit	6,09	0,59	2,35	0,42	
<b>Ara Toplam</b>				6,09	0,59	2,35	0,42	
<b>Çoklu Doymamış Yağ Asitleri</b>								
13	32.162	C <sub>18</sub> :2	Linoleik asit		0,26	1,31		
14		C <sub>18</sub> :3	Linolenik acid					
<b>Ara Toplam</b>					0,26	1,31		
<b>Diğer Bileşenler</b>								
15	17.187		alfa-Cubebene					0,61
16	17.948		Beta-Cubebene					1,34
17	17.948		p-Cubebene		0,17			0,00
18	19.362		alfa-copaene		0,12			0,00
19	19.362		γ-Murolene					3,25
20	19.940		γ -Kadinin					0,83
21	20.054		calamenene					0,42
22	20.129		Pentadekan, 7-metil-					0,44
23	20.294		Tridekan, 4-sikloheksil-					0,49
24	20.363		Pentadekan, 2-metil					0,39
25	20.472		Pentadekan, 2-metil-					0,32
26	20.884		hegzadekan					2,01
27	21.050		Karyofilen oksit		0,09			6,42
28	21.645		Isocalamendiol					1,97
29	22.434		heptadekan	1,99				2,04

Tablo 4.5 Devam

30	23.155		2,6-diizopropilnaftalenin					0,33
31	24.311		okta	0,63				0,73
32	24.563		13-Metiltetradec-9-enoik asit, metil ester	0,57				
33	25.427		Heksahidrofarnesil aseton	0,61	0,21	1,61	0,36	1,35
34	31.984		1-Oktadesen		0,85			
35	32.047		9-Hexadecen-1-ol			5,42		
36	32.436		fitol		0,50		0,26	
37	32.934		1,2-Sikloheksan di karboksilik asit, metil nonil ester				0,31	
38	33.163		Oktadekanoik asit, 4-hidroksi-metil ester				0,43	
39	33.381		24,25-dihidroksikolekalsiferol				0,66	
40	33.707		Oktadekanoik asit, 17-metil-, metil ester		0,09		0,60	
41	33.867		Ladp-8 (20) -en-15-oik asit, metil ester		0,27			
42	34.468		1-oktadekanol		3,57	2,69	7,07	1,85
43	34.634		1-ikosen		0,18			
44	35.315		Metil dehidroabietat		0,47		1,04	0,49
45	35.469		Heptadekan, 9-heksil-			1,79		
46	35.624		tetrakozan				1,01	
47	35.624		3-Etil-5-(2'-etilbutil) oktadekan		0,37			
48	36.201		Etil stearat, 9,12-diepoksi				0,50	
49	36.848		1-dokosanol		6,84		7,66	
50	36.865		Pentakosan	1,69		5,03		
51	36.865		oktildodekanol					4,19
52	37.174		Labd-8 (20) -en-15,18-dioik asit, dimetil ester		1,85		0,81	
53	38.267		Hexakosan			2,66		
54	38.879		Tetrakosanal		0,22			
55	40.024		Heptakosan	7,95		10,58	5,83	18,58
56	40.035		Octakosane		6,48	1,12		
57	42.971		1-Hexacosene	1,16				
58	44.636		<b>Nonakosan</b>	<b>10,48</b>	<b>5,10</b>	<b>33,03</b>	<b>5,74</b>	<b>19,85</b>
59	49.288		1,30-Triacontanediol	1,21				
60	51.674		Hentriakontane		0,65	6,34	0,60	5,83
61	52.069		1-Heneikosil format	3,30				
62	52.103		Oktakozanol		2,76			17,77
63	52.154		1-heksakozanol				1,80	
<b>Ara Toplam</b>				<b>29,59</b>	<b>30,79</b>	<b>70,27</b>	<b>34,68</b>	<b>91,5</b>
<b>Genel Toplam</b>				<b>100,02</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100,02</b>	<b>100</b>

Araşidik asit	
Nonakosan	
Behenik asit	

Şekil 4. 1 *A. anthylloides Lam.*, bitkisinin kök, gövde, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki hekzan ekstralarının ana bileşenleri

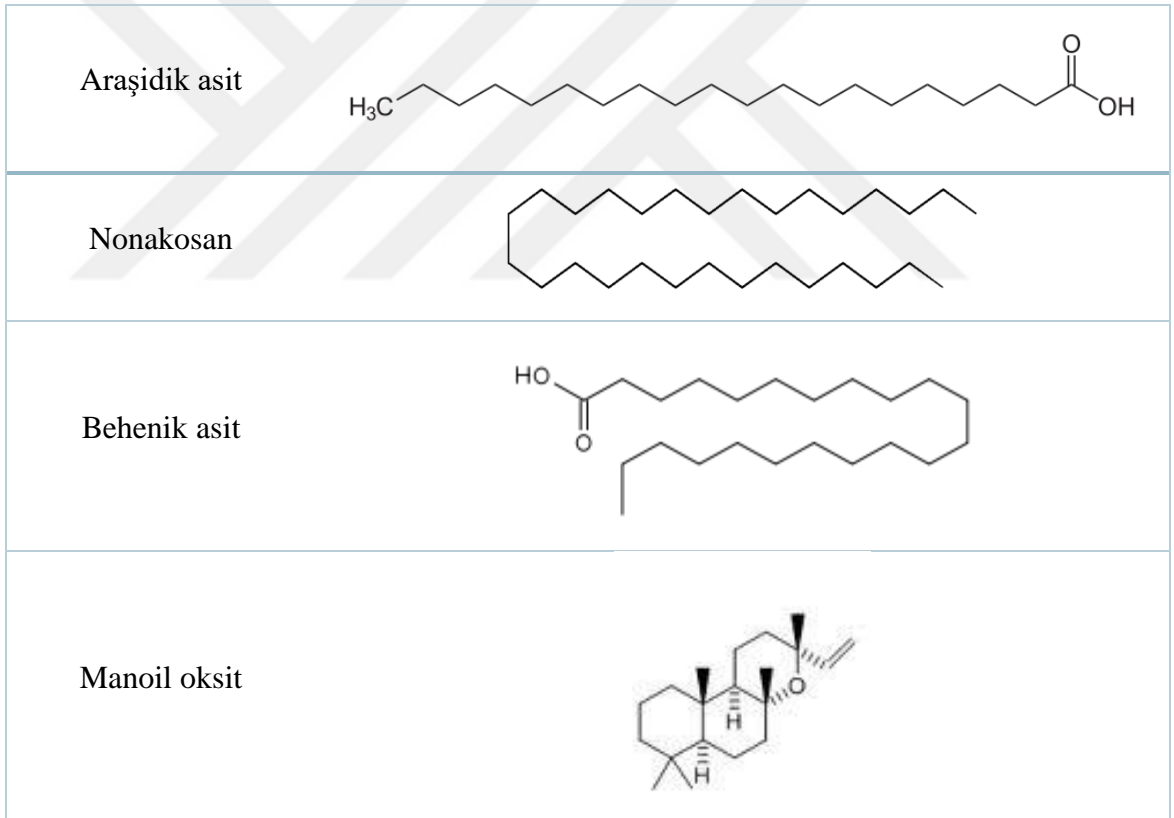
*A. lycius* Boiss. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, toplam 49 bileşen belirlenmiştir. Bu bileşenlerden 15 tanesi doymuş yağ asidi, 2 tanesi mono doymamış yağ asidi, 2 tanesi çoklu doymamış yağ asidi ve diğer bileşenlerdir (Tablo 4.6, Şekil 4.2). *A. lycius* Boiss. bitkisinin kök kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak araşidik asit (% 13.30), behenik asit (% 13.59) ve nonakosan (% 24.64) belirlendi. Bu bitkinin toprak üstü kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, heptakosan (% 7.57) ve nonakosan (% 34.40) ana bileşenler olarak tespit edildi. *A. lycius* Boiss. bitkisinin bütün bitki kısımlarında, manoil oksit (% 8.78), heptakosan (% 10.12) ve nonakosan (% 20.14) ana bileşenler olarak tespit edildi.

Tablo 4. 6 *A. lycius* Boiss. bitkisinin kök (K), toprak üstü (TÜ) ve bütün bitki (BB) kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonuçları

No	RT	İzomer	Bileşik Adı	%miktar		
				K	TÜ	BB
<b>Doymuş Yağ Asitleri</b>						
1	19.837	C <sub>12</sub> :0	Laurik asit	1,85	1,39	0,48
2	22.892	C <sub>14</sub> :0	Miristik asit	0,62	3,79	2,11
3	24.907	C <sub>15</sub> :0	Pentadesilik asit		0,25	
4	27.630	C <sub>16</sub> :0	Palmitik asit	2,87	5,18	5,89
5	30.903	C <sub>17</sub> :0	Margarin asit			0,67
6	32.568	C <sub>18</sub> :0	Stearik asit			1,23
7	33.747	C <sub>19</sub> :0	Nonadesil asidi			0,92
8	34.863	C <sub>20</sub> :0	<b>Araşidik asit</b>	<b>13,30</b>	6,02	2,78
9	36.007	C <sub>21</sub> :0	Heneikosilik asit	1,30	0,85	
10	37.340	C <sub>22</sub> :0	<b>Behenik asit</b>	<b>13,59</b>	3,81	1,29
11	38.805	C <sub>23</sub> :0	Trisiklik asit	0,78		
12	40.630	C <sub>24</sub> :0	Lignoserik asit	5,17	1,07	
13	45.569	C <sub>25</sub> :0	Pentakosil asidi	7,08		
14	45.563	C <sub>26</sub> :0	Cerotik asit		0,88	
15	53.339	C <sub>28</sub> :0	Montanik asit	1,99		
<b>Ara Toplam</b>				<b>48,54</b>	<b>23,24</b>	<b>15,36</b>
<b>Mono Doymamış Yağ Asitleri</b>						
16	0,38	C <sub>16</sub> :1	Palmitoleik Asit	0,38		
17	8,58	C <sub>18</sub> :1	Oleik asit	8,58		
<b>Ara Toplam</b>				<b>8,96</b>		
<b>Çoklu Doymamış Yağ Asitleri</b>						
18	32.173	C <sub>18</sub> :2	Linoleik asit			1,32
19	32.282	C <sub>18</sub> :3	Linoleik asit			3,71
<b>Ara Toplam</b>						<b>5,03</b>
<b>Diğer Bileşenler</b>						
20	18.075		Eugenol	1,38		
21	19.368		γ -Murolene			0,70
22	19.945		γ -Kadinin			0,33
23	20.289		Tridekan, 4-sikloheksil-		0,80	
24	20.890		hegzadekan	0,97		0,50
25	21.056		Karyofilen oksit	0,00	2,27	1,28
26	22.446		heptadekan	0,95	1,03	0,49
27	25.444		Heksahidrofarmesil aseton		1,44	2,32
28	30.714		<b>Manoil oksit</b>			<b>8,78</b>
29	32.454		fitol		11,28	11,61
30	32.803		1-Heksadesin-3-ol, 3,7,11,15-tetrametil-			0,62
31	33.873		Ladp-8 (20) -en-15-oik asit, metil ester		0,77	
32	34.439		1-ikosen		0,99	
33	34.451		1-oktadekanol	3,21		0,66
34	34.496		Trikosan	0,00		0,55
35	36.883		Pentakosan	1,87	2,64	3,54
36	37.180		Labd-8 (20) -en-15,18-dioik asit, dimetil ester			0,47

Tablo 4.6 Devam

37	40.070		<b>Heptakosan</b>	5,99	<b>7,57</b>	<b>10,12</b>
38	42.015		Oktadekanal	0,58	0,75	
39	42.027		Oktakosan			1,04
40	42.988		1,30-Triakontanediol		1,13	
41	44.762		<b>Nonakosan</b>	<b>24,64</b>	<b>34,40</b>	<b>20,14</b>
42	47.686		Triakontan	0,00	1,94	0,94
43	51.674		Hentriakontan	0,78	5,00	0,00
44	51.971		heksatriakontan	0,00	0,00	7,82
45	52.137		Oktakozanol	0,00	1,47	0,00
46	52.217		1-heksakozanol	0,00	0,00	2,75
47	64.228		gama-Sitosterol	2,13	0,00	0,00
48	64.285		beta-sitosterol	0,00	1,95	3,12
49	74.316		Sitostenone	0,00	1,34	1,84
<b>Ara Toplam</b>				42,50	76,76	79,60
<b>Genel Toplam</b>				100	100	100



Şekil 4. 2 *A. lycius* Boiss. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki hekzan ekstraktlarının ana bileşenleri

*Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, toplam 38 bileşen belirlenmiştir. Bu bileşenlerden 13 tanesi doymuş yağ asidi, 2 tanesi mono doymamış yağ asidi, 1 tanesi çoklu doymamış yağ asidi ve diğer bileşenlerdir (Tablo 4.7, Şekil 4.3). *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak araşidik asit (% 10.65), behenik asit (% 15.88) ve cerotic acid (% 11.42) belirlendi. Bu bitkinin toprak üstü kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, araşidik asit (% 17.01), behenik asit (% 11.23) ve nonakosan (% 15.72) ana bileşenler olarak tespit edildi. *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin bütün bitki kısımlarında, araşidik asit (% 20.81), behenik asit (% 19.69) ve 1-tetrakosanol (% 12.28) ana bileşenler olarak tespit edildi.

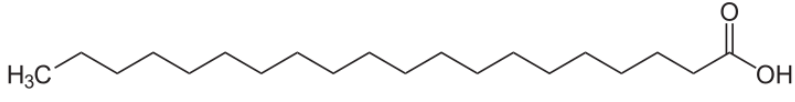
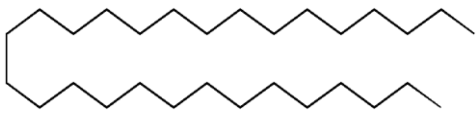
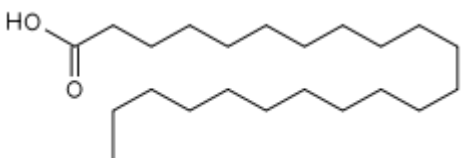
Tablo 4. 7 *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının hekzan ekstralarının GC- MS analiz sonuçları

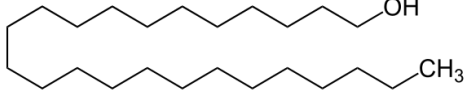
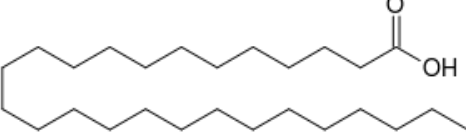
No	RT	İzomer	Bileşik Adı	%miktar		
				K	T	B
<b>Doymuş Yağ Asitleri</b>						
1	19.837	C <sub>12:0</sub>	Laurik asit	1,33	0,23	0,40
2	22.887	C <sub>14:0</sub>	Miristik asit	0,00	0,00	0,75
3	24.901	C <sub>15:0</sub>	Pentadesilik asit	0,83	0,00	
4	27.607	C <sub>16:0</sub>	Palmitik asit	3,52	9,54	3,37
5	32.574	C <sub>18:0</sub>	Stearik asit	0,00	3,41	3,43
6	34.903	C <sub>20:0</sub>	<b>Araşidik asit</b>	<b>10,65</b>	<b>17,01</b>	<b>20,81</b>
7	36.007	C <sub>21:0</sub>	Heneikosilik asit	1,14	0,87	1,19
8	37.375	C <sub>22:0</sub>	<b>Behenik asit</b>	<b>15,88</b>	<b>11,23</b>	<b>19,69</b>
9	38.797	C <sub>23:0</sub>	Trisiklik asit	1,05	3,78	1,22
10	40.665	C <sub>24:0</sub>	Lignoserik asit	6,29	0,00	5,81
11	40.647	C <sub>26:0</sub>	<b>Cerotik asit</b>	<b>11,42</b>	3,52	
12	45.568	C <sub>27:0</sub>	Heptakosilik asit	0,00	2,50	1,99
13	53.270	C <sub>28:0</sub>		1,83	0,59	0,58
<b>Ara Toplam</b>				53,92	52,67	59,24
<b>Mono Doymamış Yağ Asitleri</b>						
14	27.270	C <sub>16:1</sub>	Palmitoleik Asit	1,52		
15	32.231	C <sub>18:1</sub>	Oleik asit			0,79
<b>Ara Toplam</b>				1,52		0,79



Tablo 4.7 Devam

Çoklu Doymamış Yağ Asitleri						
16	32.168	C <sub>18:2</sub>	Linoleik asit	8,20		
<b>Ara Toplam</b>				8,20		
Diğer Bileşenler						
17	20.884		hegzadekan	1,75		
18	24.563		13-Metiltetrades-9-enoik asit metil ester	2,41		
19	25.427		Heksahidrofarnefil aseton	0,00	1,26	0,57
20	25.902		Hexadecanal	0,00	0,29	
21	32.019		1-Oktadesen	0,00	1,19	1,53
22	33.713		Oktadekanoik asit, 17-metil-, metil ester	0,00	0,32	0,87
23	34.416		1-oktadekanol	0,00	1,11	1,81
24	35.309		Metil dehidroabietat	0,00	0,00	0,97
25	36.865		1-dokosanol	2,41	4,96	6,67
26	38.290		1-Dodekanol, 2-oktil-	0,00	0,32	0,73
27	38.887		Tetrakosanal	0,00	4,80	
28	40.093		1-Tetrakosanol	5,36	8,59	12,28
29	42.221		9-Trikozen	0,00	1,68	
30	42.948		1,30-Triakontanediol	0,00	0,84	
31	44.733		<b>Nonakosan</b>	<b>9,53</b>	<b>15,72</b>	<b>8,38</b>
32	47.668		Triakontan	0,00	0,28	
33	51.794		Hentriakontan	0,00	3,40	2,08
34	52.149		Oktakozanol	0,00	0,00	1,34
35	64.165		gama-Sitosterol	6,92	0,00	
36	64.205		stigmasterol	0,00	0,00	2,77
37	64.216		beta-sitosterol	0,00	0,96	
38	74.035		Sitostenone	7,99	1,62	
<b>Ara Toplam</b>				<b>36,36</b>	<b>47,33</b>	<b>40,00</b>
<b>Genel Toplam</b>				<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Araşidik asit	
Nonakosan	
Behenik asit	

1- Tetrakosanol	
Cerotik asit	

Şekil 4. 3 *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki hekzan ekstralarının ana bileşenler

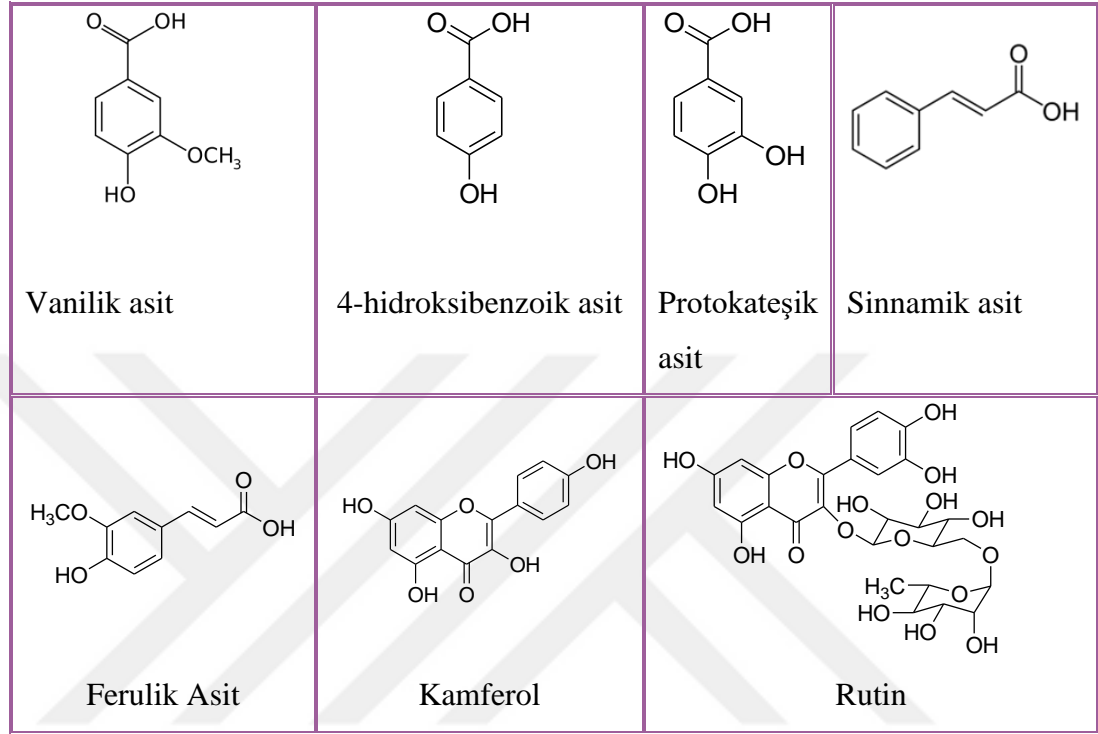
#### 4.4 Ekstrelerin HPLC-TOF/MS Analiz Sonuçları

Yirmi beş fenolik bileşenin (klorojenik asit, 4-hidroksibenzaldehit, hesperidin, apigenin-7-glikozit, rosmarinik asit, protokateşik asit etil esteri, kateşin, gallik asit, vanilik asit, gentisik asit, kaftarik asit, 4-hidroksibenzoik asit, kersetin, kafeik asit, rutin, p-kumarik asit, kamferol, ferulik asit, protokateşik asit, naringenin, salisilik asit, sisorik asit, ellagic asit, resveratrol, sinnamik asit) kantitatif analizi gerçekleştirildi.

*Astragalus anthylloides* Lam. bitkisinin kök (K), gövde (G), çiçek (Ç), toprak üstü (TÜ) ve bütün bitki (BB) kısımlarının kloroform ve etil asetat ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları Tablo 4.8’de verildi. *A. anthylloides* Lam. bitkisinin kök, gövde ve bütün bitki kısımlarının kloroform ekstralarında ana bileşen olarak sinnamik asit, çiçek kısmının kloroform ekstresinde kamferol ve toprak üstü kısmının kloroform ekstresinde ise ferulik asit belirlendi. *A. anthylloides* Lam. bitkisinin kök, gövde ve toprak üstü kısımlarının etil asetat ekstralarında ana bileşen olarak 4-hidroksibenzoik asit, bütün bitki kısımlarının etil asetat ekstralarında sinnamik asit ana bileşen olarak tespit edildi.

*Astragalus anthylloides* Lam. bitkisinin kök, gövde, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının n-bütanol ve metanol ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları Tablo 4.9’da verildi. *A. anthylloides* Lam. bitkisinin kök kısmının n-bütanol ekstralarında ana bileşen olarak vanilik asit, gövde kısmının n-bütanol ekstresinde protokateşik asit, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının n-bütanol 4-hidroksibenzoik asit gözlemlendi. *A.*

*anthylloides* Lam. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının metanol ekstralarında ana bileşen olarak 4-hidroksibenzoik asit, gövde ve çiçek kısımlarının metanol ekstralarında rutin ana bileşen olarak elde edildi (Şekil 4.4).



Şekil 4. 4 *Astragalus anthylloides* Lam. bitkisinin kök, gövde, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının etil asetat, kloroform, n-bütanol ve metanol ekstralarının ana bileşenleri

Tablo 4. 8 *Astragalus anthylloides* Lam. bitkisinin kloroform, etil asetat ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları (10<sup>3</sup> mg fenolik/kg kuru bitki)

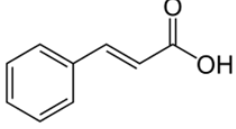
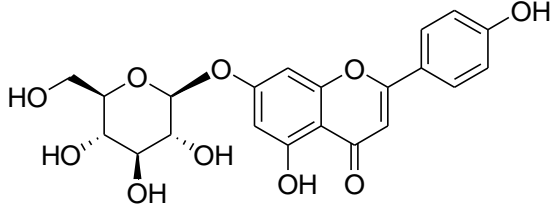
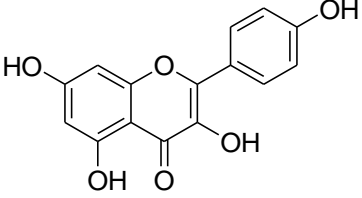
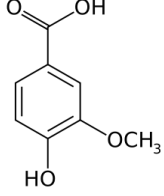
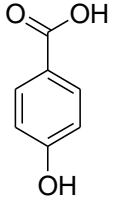
	KLOROFORM					ETİL ASETAT				
	K	G	Ç	TÜ	BB	K	G	Ç	TÜ	BB
Klorojenik asit	-	-	-	-	-	469,18	-	-	-	-
4-Hidroksibenzaldehit	-	-	70,18	-	-	-	3,74	-	34,63	12,12
Hesperidin	-	-	-	-	-	30,64	-	-	-	-
Vanilik asit	-	-	-	-	-	184,64	20,64	-	25,33	-
Gentisik asit	-	-	-	-	-	45,04	-	-	26,32	-
4-Hidroksibenzoik asit	-	-	720,42	-	-	245,99	161,0	-	295,59	87,61
Kafeik asit	-	-	-	-	-	7,76	-	-	-	-
Kamferol	-	-	1929,12	-	-	-	-	-	156,53	-
Ferulik asit	-	5,74	236,92	44,63	-	96,30	48,14	-	44,70	53,86
Protokateşik asit	-	-	-	-	-	60,07	-	-	-	-

Tablo 4. 9 *Astragalus anthylloides* Lam.bitkisinin n-bütanol ve metanol ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları (10<sup>3</sup> mg fenolik/kg kuru bitki)

	n-BÜTANOL					METANOL				
	K	G	Ç	TÜ	BB	K	G	Ç	TÜ	BB
Gallik asit	-	-	-	-	-	329,24	860,81	609,18	1182,74	790,11
Vanilik asit	113,71	-	-	54,28	376,29	-	-	-	-	-
Gentisik asit	51,29	12,61	456,39	58,31	404,22	157,11	1752,51	15755,8	4039,92	2911,91
4-Hidroksibenzoik asit	88,31	36,90	840,19	110,31	764,69	1793,07	3721,65	2836,72	8126,53	2512,29
Kersetin	-	-	-	-	-	373,58	-	595,05	830,67	744,75
Rutin	-	-	-	-	-	197,39	9519,77	27346,0	867,99	285,65
Ferulik asit	31,36	4,01	177,92	15,38	106,63	38,44	1379,51	555,71	-	1599,80
Protokateşik asit	102,04	50,31	194,71	35,61	246,83	-	-	-	146,49	-
Salisilik asit	-	-	184,70	-	-	-	-	778,38	1482,84	-
Sinamik asit	1391, 68	845,9	-	-	1426,86	-	-	-	512,74	366,36

*A. lycius* Boiss. bitkisinin kök (K), toprak üstü (TÜ) ve bütün bitki (BB) kısımlarının kloroform ve etil asetat ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları Tablo 4.10'da verildi. *A. lycius* Boiss. bitkisinin kök ve bütün bitki kısımlarının kloroform ekstralarında ana bileşen olarak, sinamik asit, toprak üstü kısımlarının kloroform ekstralarında kamferol belirlendi. *A. lycius* Boiss. bitkisinin toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının etil asetat ekstralarında apigenin-7-glikozit tespit edildi (Şekil 4.5).

*A. lycius* Boiss. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının n-bütanol ve metanol ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları Tablo 4.10'da verildi. *A. lycius* Boiss. bitkisinin kök kısımlarının n-bütanol ekstralarında ana bileşen olarak, vanilik asit, toprak üstü kısımlarının n-bütanol ekstralarında sinamik asit ve bütün bitki kısımlarının n-bütanol ekstresinde 4-hidroksibenzoik asit belirlendi. *A. lycius* Boiss. bitkisinin kök kısımlarının metanol ekstralarında 4-hidroksibenzoik asit, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının metanol ekstralarında apigenin-7-glikozit tespit edildi (Şekil 4.5).

		
Sinnamik asit	Apigenin-7-glikozit	
		
Kamferol	Vanilik asit	4-hidroksibenzoik asit

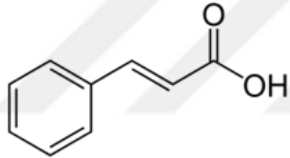
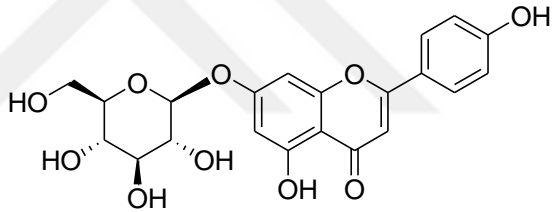
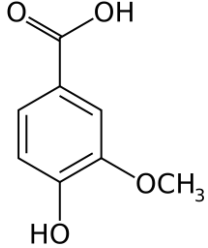
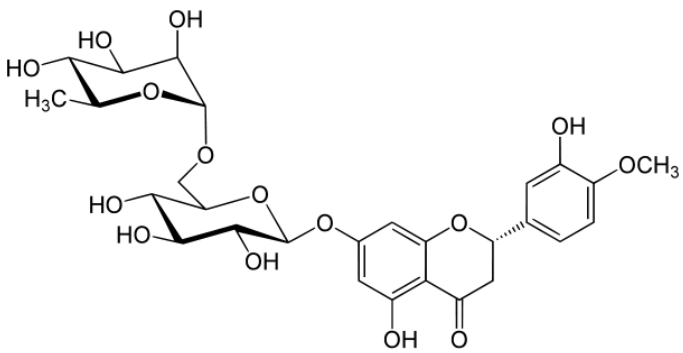
Şekil 4. 5 *A. lycius* Boiss. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının metanol, n- bütanol, kloroform ve etil asetat ekstralarının ana bileşenleri

Tablo 4. 10 *A. lycius* Boiss. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının metanol, n- bütanol, kloroform ve etil asetat ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları (10<sup>3</sup> X mg fenolik/100g kuru bitki)

	KLOROFORM			ETİL ASETAT			N-BÜTANOL			METANOL		
	K	TÜ	BB	K	TÜ	BB	K	TÜ	BB	K	TÜ	BB
<b>Klorojenik asit</b>	-	-	-	-	-	-	489,61	-	-	-	-	-
<b>4-Hidroksi benzaldehit</b>	195,37	-	-	-	-	-	97,49	-	-	-	-	-
<b>Apigenin-7-glikozit</b>	-	-	-	-	<b>6565,34</b>	<b>11400,45</b>	-	-	-	-	<b>143911,00</b>	<b>11095,69</b>
<b>Gallik asit</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	329,24	592,24	104,91
<b>Vanilik asit</b>	-	-	-	-	184,49	228,91	<b>1757,11</b>	167,67	-	-	-	-
<b>Gentisik asit</b>	-	-	-	-	-	-	103,16	62,77	140,14	157,11	3066,83	180,38
<b>4-Hidroksi benzoik asit</b>	-	-	-	-	360,32	285,25	250,79	109,90	<b>633,93</b>	<b>1793,07</b>	6176,75	622,45
<b>Kersetin</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	373,58	434,27	118,89
<b>Kafeik asit</b>	-	-	-	-	-	-	13,06	-	-	-	165,02	-
<b>Rutin</b>	-	-	-	-	-	-	-	177,31	83,93	197,39	2742,20	111,31
<b>p-Kumarik asit</b>	-	-	-	-	-	25,51	-	-	-	-	-	-
<b>Kamferol</b>	-	<b>534,69</b>	3230,94	-	1168,62	3669,50	-	-	-	-	-	-
<b>Ferulik asit</b>	289,65	119,46	1272,70	-	141,55	393,82	153,32	139,99	260,82	38,44	425,37	418,28
<b>Protokateşik asit</b>	-	-	-	-	132,83	308,81	201,88	-	271,30	-	122,38	-
<b>Naringenin</b>	-	-	-	-	156,26	334,62	-	-	-	-	-	-
<b>Salisilik asit</b>	-	-	-	-	488,29	934,03	-	135,24	404,07	-	5552,95	996,24
<b>Sinamik asit</b>	<b>1134,92</b>	-	<b>18063,44</b>	-	-	-	845,45	<b>1120,02</b>	-	-	-	-

*A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının kloroform ve etil asetat ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları Tablo 4.11’de verildi. *A. xylobasis* Freyn & Bornm. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının kloroform ve etil asetat ekstralarında ana bileşen olarak, sinnamik asit tespit edildi (Şekil 4.6).

*A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının n-bütanol ve metanol ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları Tablo 4.11’de verildi. *A. xylobasis* Freyn & Bornm. bitkisinin kök kısımlarının n-bütanol ekstralarında ana bileşen olarak, hesperidin, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının n-bütanol ekstralarında vanilik asit tespit edildi. *A. xylobasis* Freyn & Bornm. bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının metanol ekstralarında ana bileşen olarak apigenin-7-glikozit belirlendi (Şekil 4.6).

	
<b>Sinnamik asit</b>	<b>Apigenin-7-glikozit</b>
	
<b>Vanilik asit</b>	<b>Hesperidin</b>

Şekil 4. 6 *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol ekstralarının ana bileşenleri

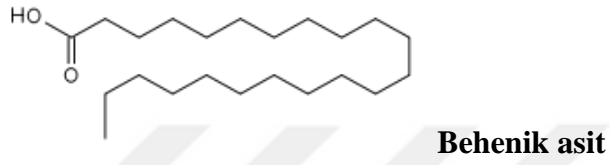
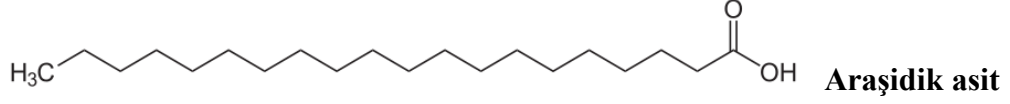
Tablo 4. 11 *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kök (K), toprak üstü (TÜ) ve bütün bitki (BB) kısımlarının metanol, n-bütanol, kloroform ve etil asetat ekstraktlarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları (10<sup>3</sup> X mg fenolik/100g kuru bitki)

	ETİL ASETAT			KLOROFORM			N-BÜTANOL			METANOL		
	K	TÜ	BB	K	TÜ	BB	K	TÜ	BB	K	TÜ	BB
<b>4-Hidroksi benzaldehit</b>	94,29	-	-		27,82	116,12	21,41	39,76	2,61	-	-	-
<b>Hesperidin</b>	-	-	-		-	-	<b>885,27</b>	-	-	-	-	-
<b>Apigenin-7-glikozit</b>	-	-	-		339,38	382,43	-	-	-	<b>32831,1</b>	<b>32061,42</b>	<b>34253,15</b>
<b>Gallik asit</b>	-	-	-		-	-	-	-	-	330,64	232,23	281,05
<b>Vanilik asit</b>	80,37	201,13	163,80		190,74	251,25	405,25	<b>1514,26</b>	<b>204,23</b>	-	-	-
<b>Gentisik asit</b>	-	-	-		-	-	43,17	127,42	51,61	610,40	587,59	540,51
<b>4-Hidroksi benzoik asit</b>	-	-	-		102,63	311,38	249,04	302,86	136,02	452,11	2526,58	1729,52
<b>Kersetin</b>	-	-	-		-	-	-	-	-	252,04	252,84	295,59
<b>Rutin</b>	-	-	-		-	-	-	-	-	32,63	285,99	-
<b>p-Kumarik asit</b>	-	-	-		-	103,24	-	28,45	-	-	-	-
<b>Ferulik asit</b>	28,23	81,79	133,19		54,50	221,02	96,10	78,42	83,98	681,37	816,91	874,79
<b>Protokateşik asit</b>	-	-	-		136,12	154,13	-	-	103,69	211,12	262,41	-
<b>Salisilik asit</b>	-	-	-		7,98	-	-	267,27	-	4118,17	2101,66	2069,83
<b>Sinamik asit</b>	<b>422,81</b>	<b>1590,18</b>	<b>1513,60</b>		<b>579,98</b>	<b>646,09</b>	494,07	620,45	-	-	-	-



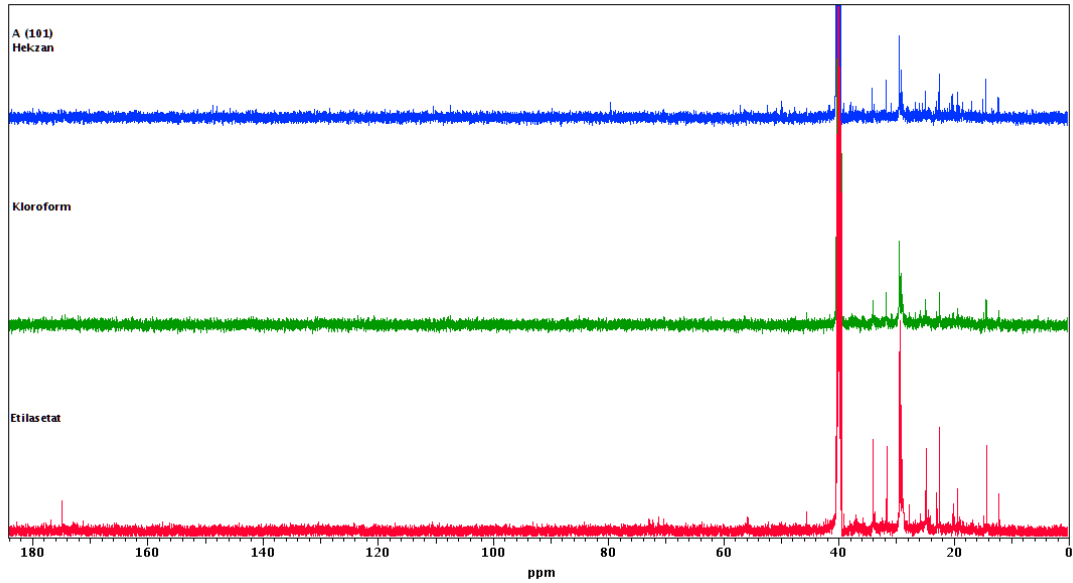
## 4.5 Metabolomik NMR Sonuçları

*Astragalus anthylloides* bütün bitki kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analizleri neticesinde ana bileşen olarak araşidik asit ve behenik asit belirlenmiştir (Şekil 4.7).

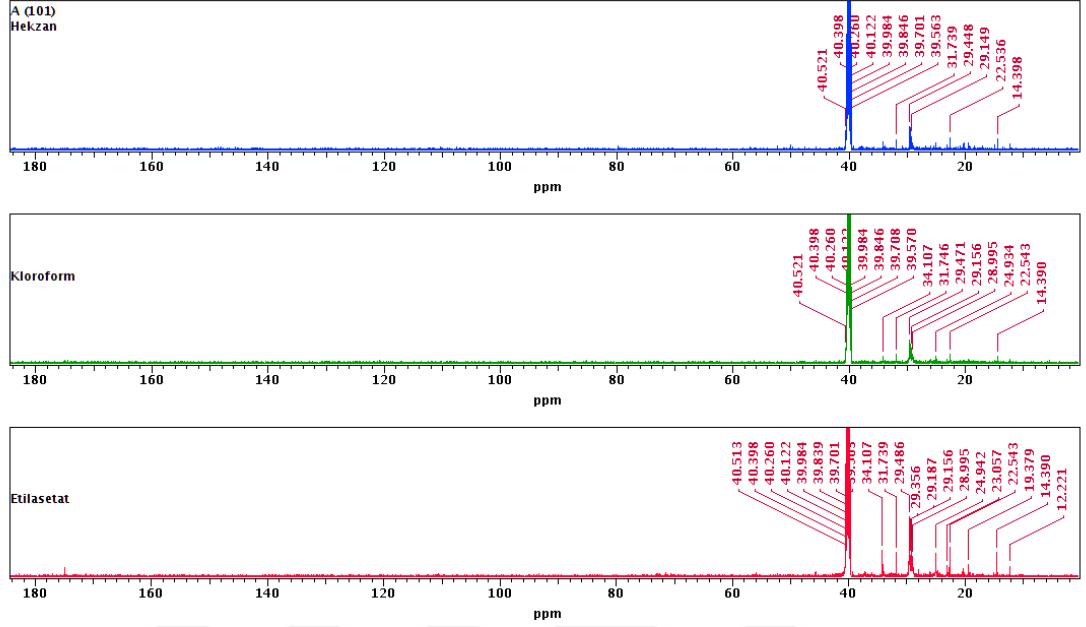


Şekil 4. 7 *A. anthylloides* hekzan ekstralarının ana bileşenleri

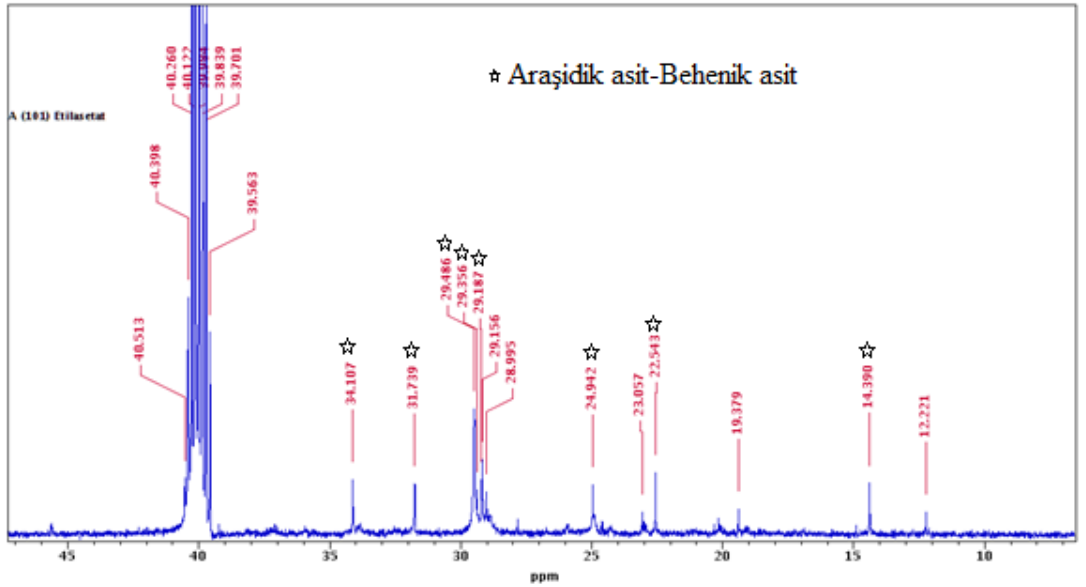
*A. anthylloides* hekzan, kloroform, etilasetat ekstralarının  $^{13}\text{C}$  NMR ları incelendiğinde her iki aside ait (14.39; 22.54; 24.94; 29.18; 29.35; 29.48; 31.73; 34.10; 174.92 ppm'de) pikler gözlenmiştir. Bu karbon değerleri literatür ile uyum içindedir (URL 20) (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10).



Şekil 4. 8 *Astragalus anthylloides* hekzan, kloroform, etilasetat ekstrlerinin  $^{13}\text{C}$  NMR'ları



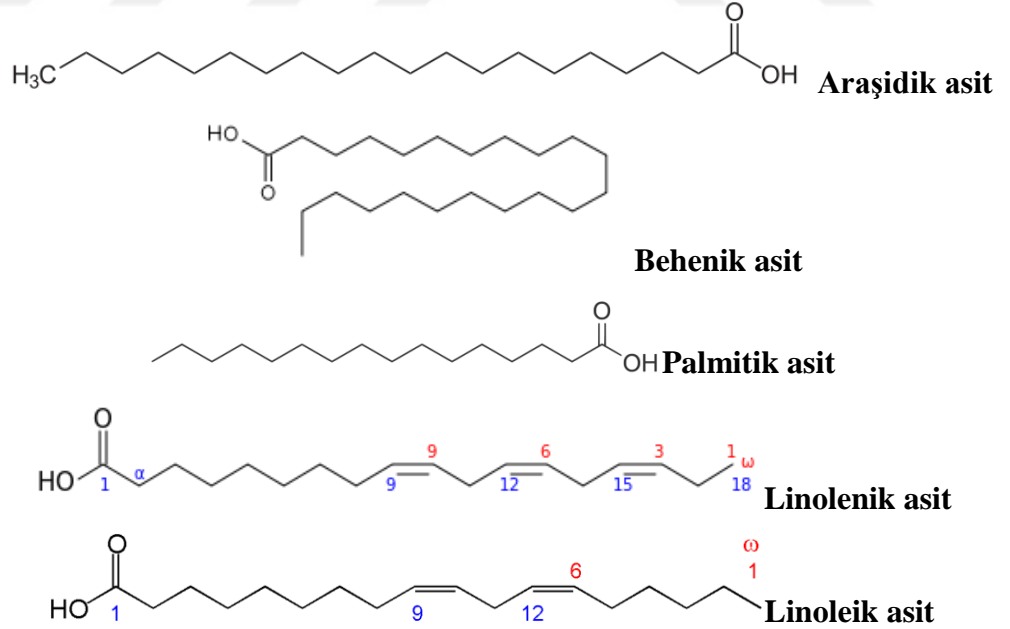
Şekil 4. 9 *Astragalus anthylloides* hekzan, kloroform, etilasetat ekstrlerinin  $^{13}\text{C}$  NMR değerleri



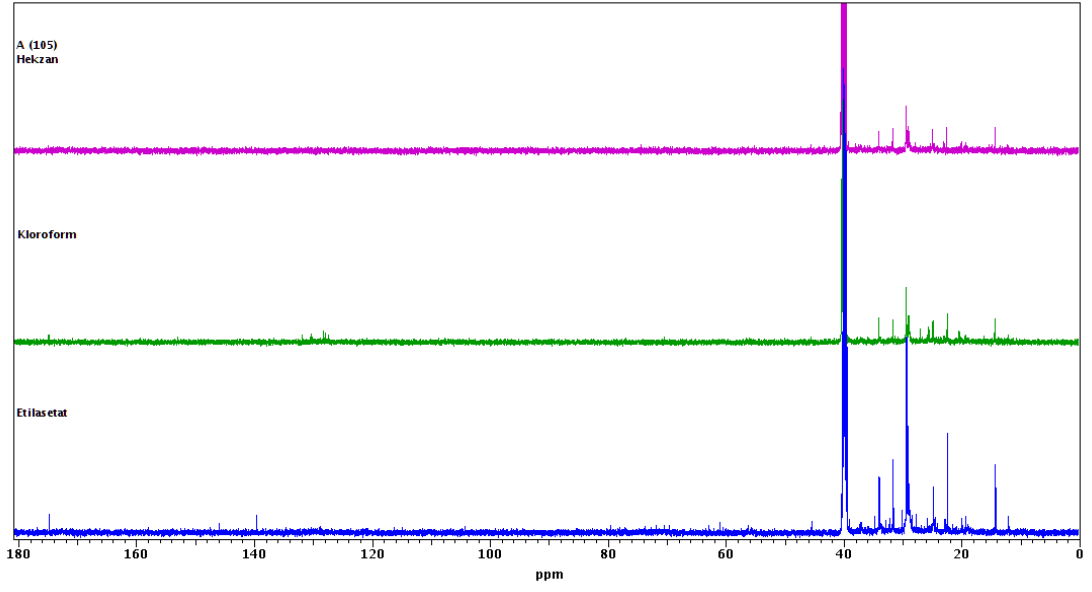
Şekil 4. 10 *Astragalus anthylloides* etilasetat ekstresinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

*Astragalus lycius* bütün bitki kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analizleri neticesinde doymuş yağ asidi olarak araşidik asit, araşidik asit, behenik asit ve palmitik asit belirlenmiştir. Çoklu doymamış yağ asidi olarak ise linolenik ve linoleik asit tespit edilmiştir (Şekil 4.11).

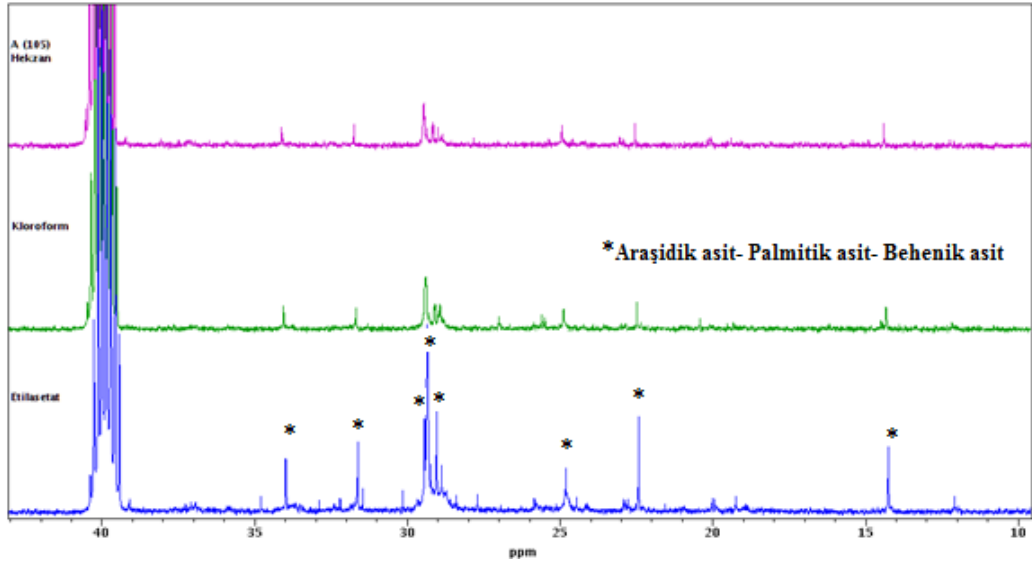
*A. lycius* hekzan, kloroform ve etilasetat ekstralarının  $^{13}\text{C}$  NMR'ları incelendiğinde araşidik asit, behenik asit ve palmitik aside ait (14.39; 22.54; 24.93; 29.18; 29.34; 29.44; 31.74; 34.11; 174.92 ppm de) pikler gözlenmiştir. Linolenik (% 3.71) ve linoleik asit (%1.31) hekzan ekstresinin GC-MS analizi sonucunda az miktarda da olsa belirlenmiş olup  $^{13}\text{C}$  NMR'ları incelendiğinde tespit edilememiştir. Bununla birlikte kloroform ekstresinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumunda linolenik ve linoleik asit tespit edilmiştir (Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16). Linolenik ve linoleik asitin  $^{13}\text{C}$  NMR değerleri (174.90; 131.94; 130.33; 128.34; 128.00; 127.42; 34.11; 29.44; 29.14; 29.03; 27.05; 25.64; 25.55; 24.92; 20.48; 14.38 ppm) literatür ile uyum içindedir (URL 18; Marcel et al. 1997).



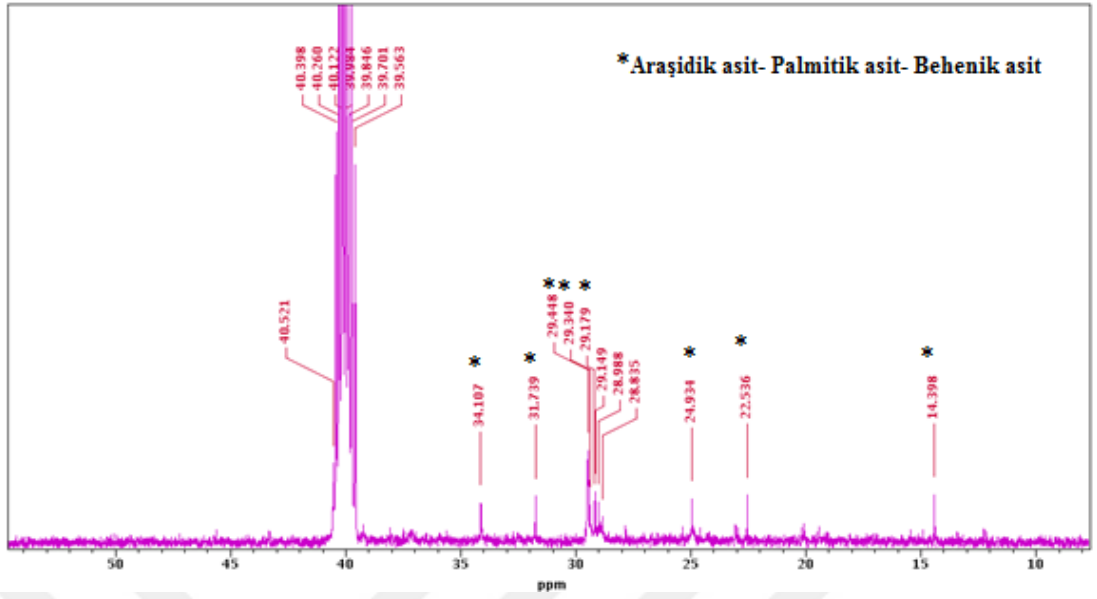
Şekil 4. 11 *A. lycius* hekzan ekstralarının ana bileşenleri



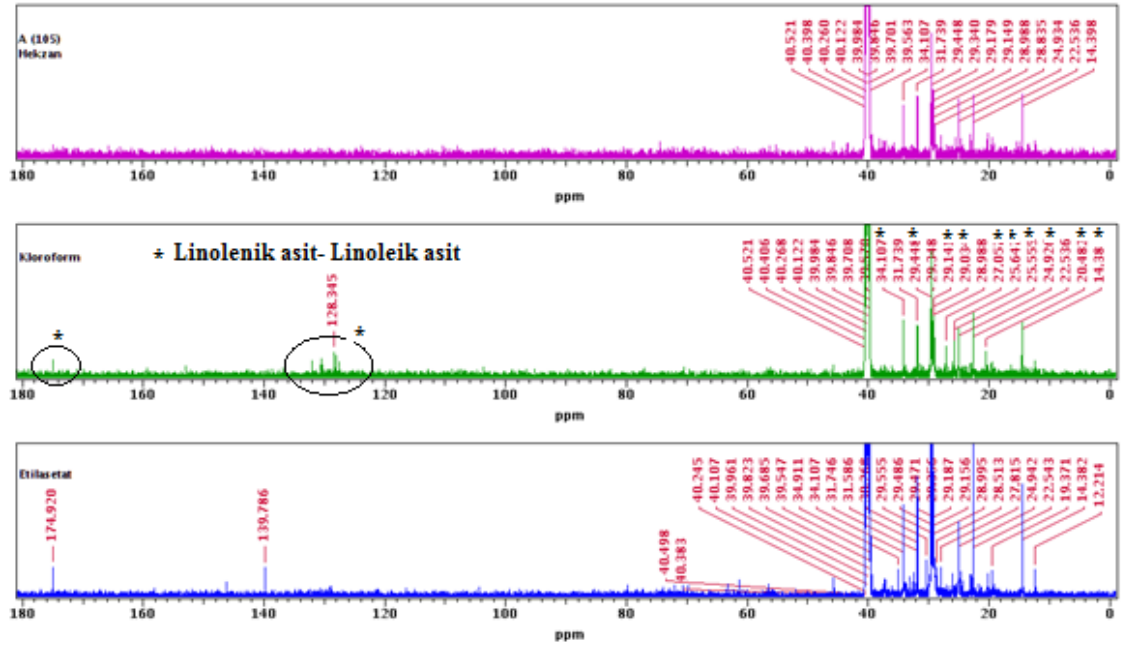
Şekil 4. 12 *A. lycius* hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrelerinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



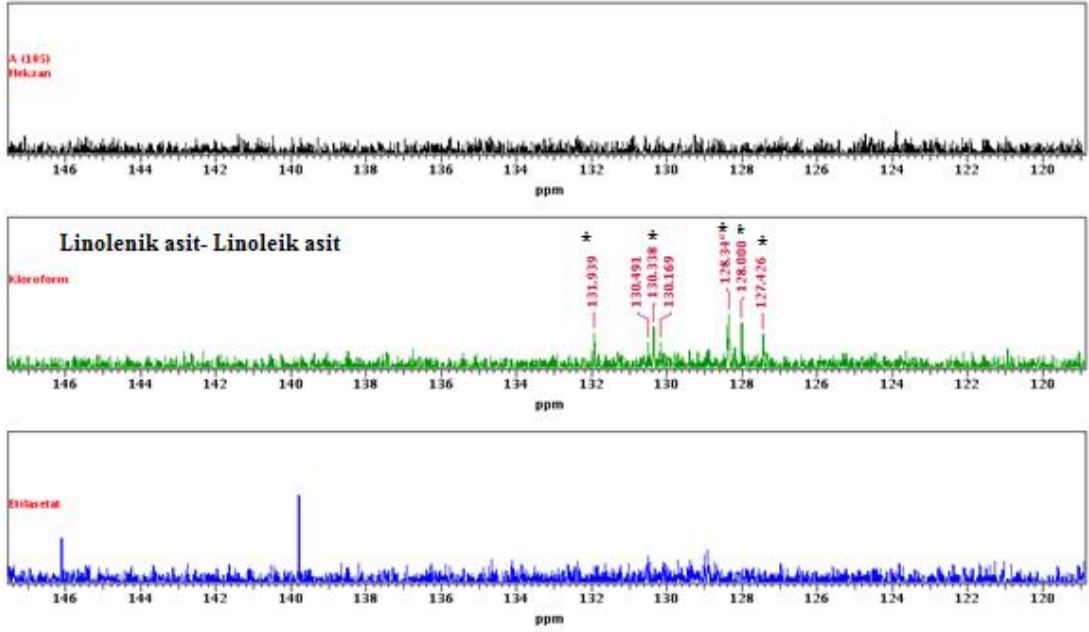
Şekil 4. 13 *A. lycius* hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrelerinin alifatik bölgesi genişletilmiş  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



Şekil 4. 14 *A. lycius* hekzan ekstresinin alifatik bölgesi genişletilmiş  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

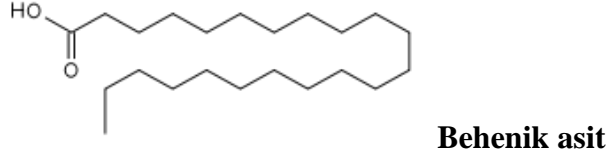
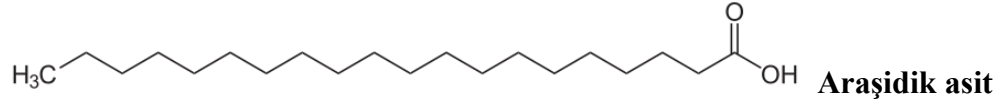


Şekil 4. 15 *A. lycius* hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrlerinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

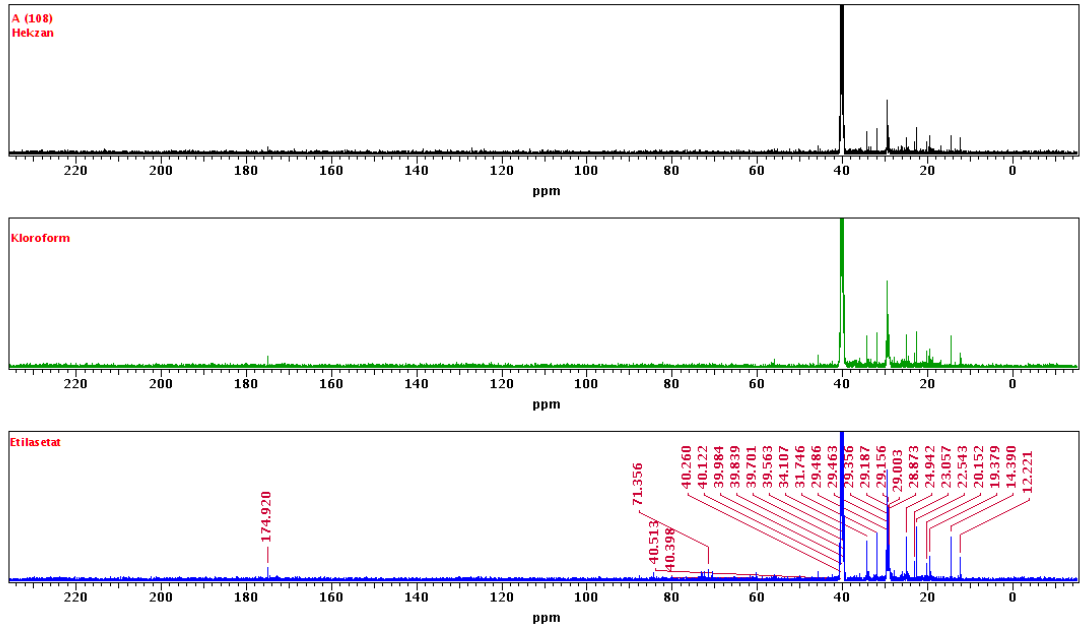


Şekil 4. 16 *A. lycius* hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrelerinin olefinik bölgesi genişletilmiş  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

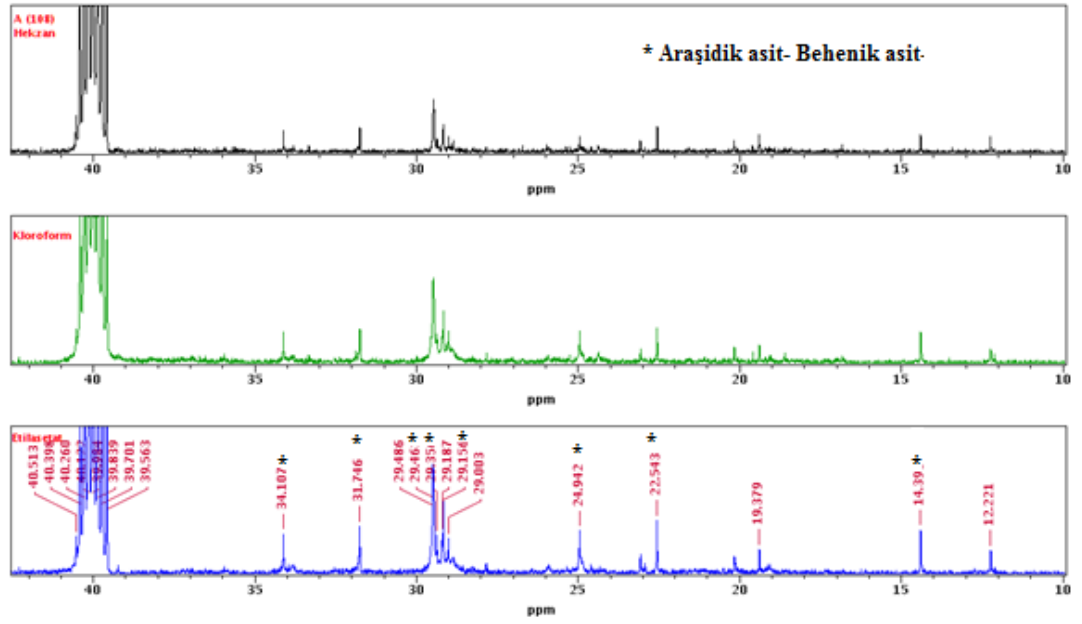
*Astragalus xylobasis* bütün bitki kısımlarının hekzan ekstrelerinin GC-MS analizleri neticesinde doymuş yağ asidi olarak ana bileşenler, araşidik asit ve behenik asit belirlenmiştir (Şekil 4.17). *A. xylobasis* hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrelerinin  $^{13}\text{C}$  NMR ları incelendiğinde araşidik asit ve behenik aside ait (14.39; 22.54; 24.94; 29.15; 29.35; 29.46; 31.74; 34.11; 174.92 ppm de) pikler gözlenmiştir. Linolenik ve linoleik asit hekzan ekstresinin GC-MS analizi sonucunda belirlenmemiş olup, hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrelerinin  $^{13}\text{C}$  NMR'ları incelendiğinde aynı bileşenler tespit edilememiştir (Şekil 4.18, Şekil 4.19).



Şekil 4. 17 *A. xylobasis* hekzan ekstrelerinin ana bileşenleri



Şekil 4. 18 *A. xylobasis* hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrelerinin <sup>13</sup>C NMR spektrumu

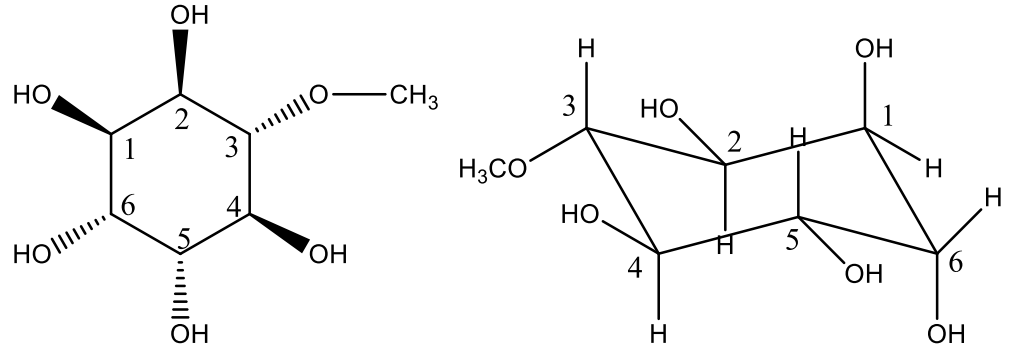


Şekil 4. 19 *A. xylobasis* hekzan, kloroform ve etilasetat ekstralarının alifatik bölgesi genişletilmiş  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

#### 4.5.1 n-Bütanol ve Metanol ekstralarının metabolomik NMR analizleri

*Astragalus anthylloides* n-bütanol ve metanol ekstralarının metabolomik NMR analizleri gerçekleştirilmiştir. *A. anthylloides* n-bütanol ve metanol ekstralarının  $^{13}\text{C}$  NMR'ları incelendiğinde D-pinitol'e ait pikler Tablo 4.12'de verilmiştir (Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22). Bu karbon değerleri literatür ile uyum içindedir (Chaubal et al. 2005; Chen and Dai 2014; Eser et al. 2017). D-pinitol'ün konfigürasyonu literatürdeki  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR dataları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir (Misra and Siddiqi 2004; Blanco et al. 2008).

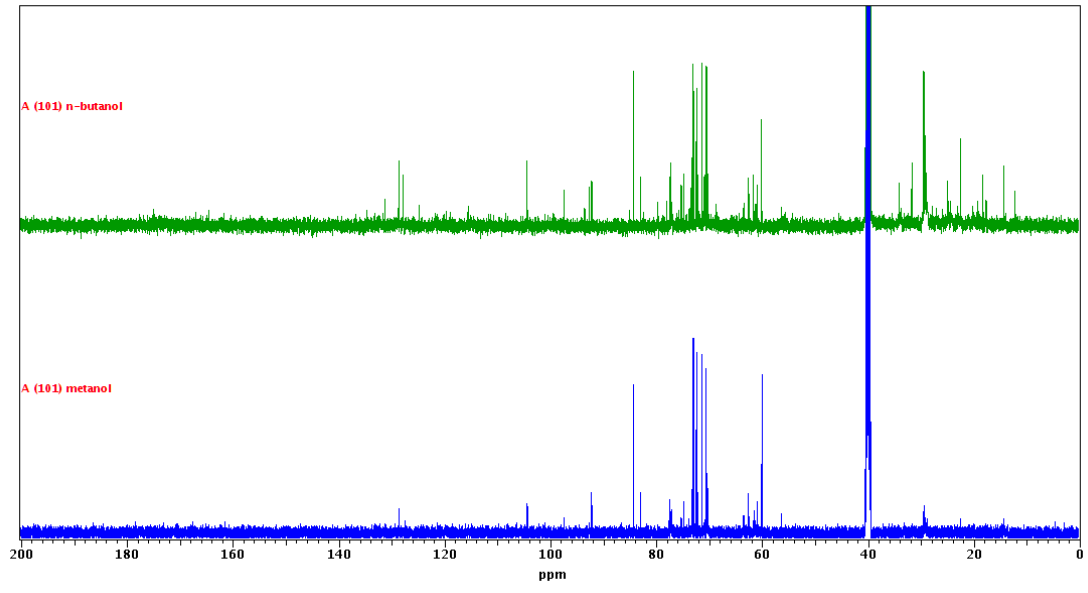




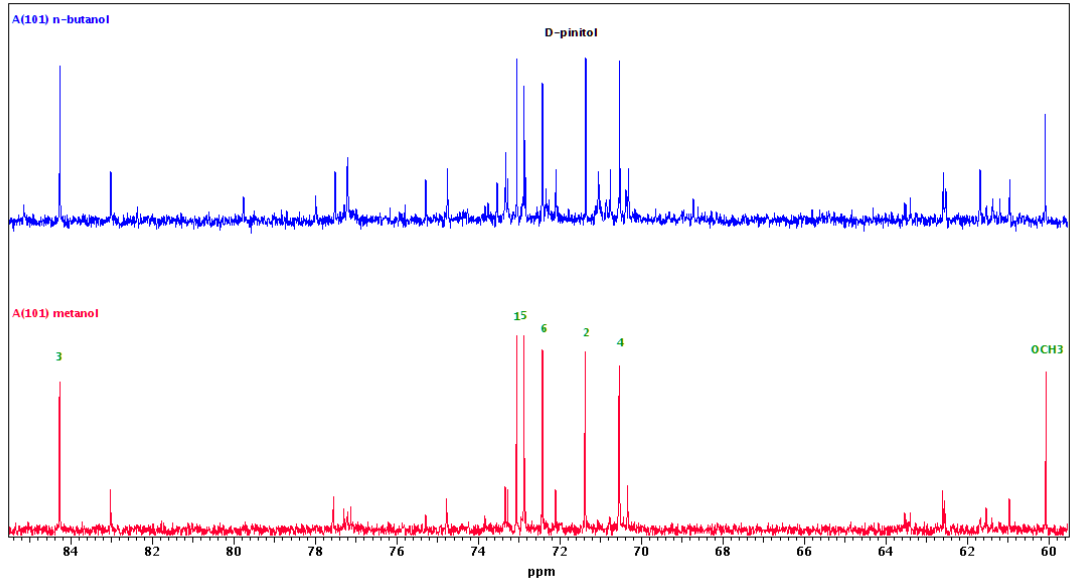
Şekil 4. 20 D-pinitol

Tablo 4. 12 D-pinitol'ün  $^{13}\text{C}$  NMR dataları

C	Deneysel değer	Eser et al., 2017	Chen and Dai, 2014	Chaubal et al., 2005
	$\delta_{\text{C}}$ , ppm	$\delta_{\text{C}}$ , ppm	$\delta_{\text{C}}$ , ppm	$\delta_{\text{C}}$ , ppm
<b>1</b>	71.35	71.38	72.50	73.48
<b>2</b>	73.05	73.04	70.65	71.89
<b>3</b>	84.26	84.21	83.60	84.56
<b>4</b>	70.52	70.53	72.95	71.09
<b>5</b>	72.42	72.40	71.36	73.00
<b>6</b>	72.87	72.85	72.29	72.59
<b>OCH<sub>3</sub></b>	60.09	60.07	60.56	59.63

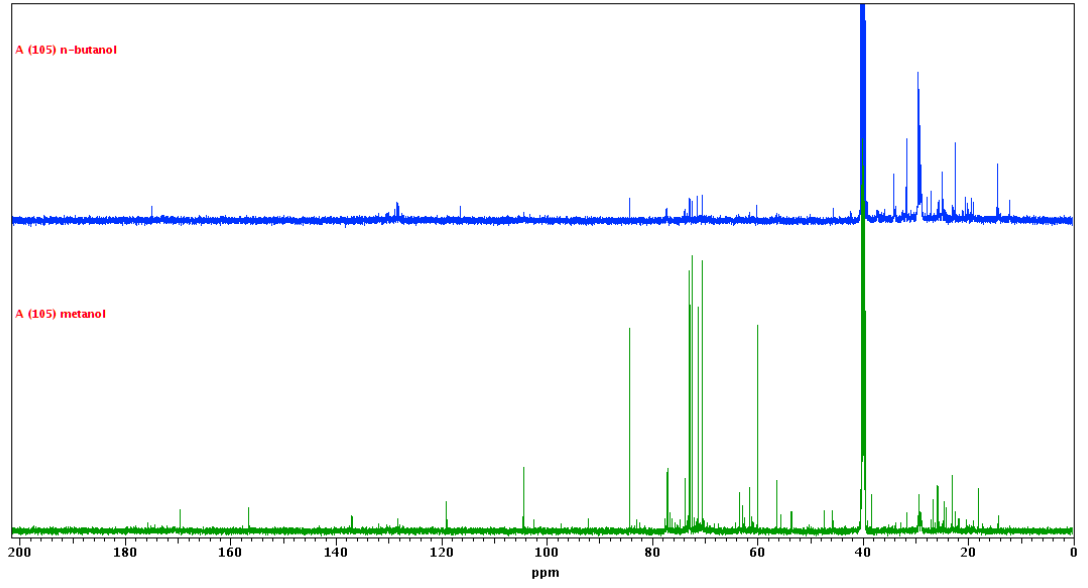


Şekil 4. 21 *Astragalus anthylloides* n-bütanol ve metanol ekstralarının <sup>13</sup>C NMR spektrumu

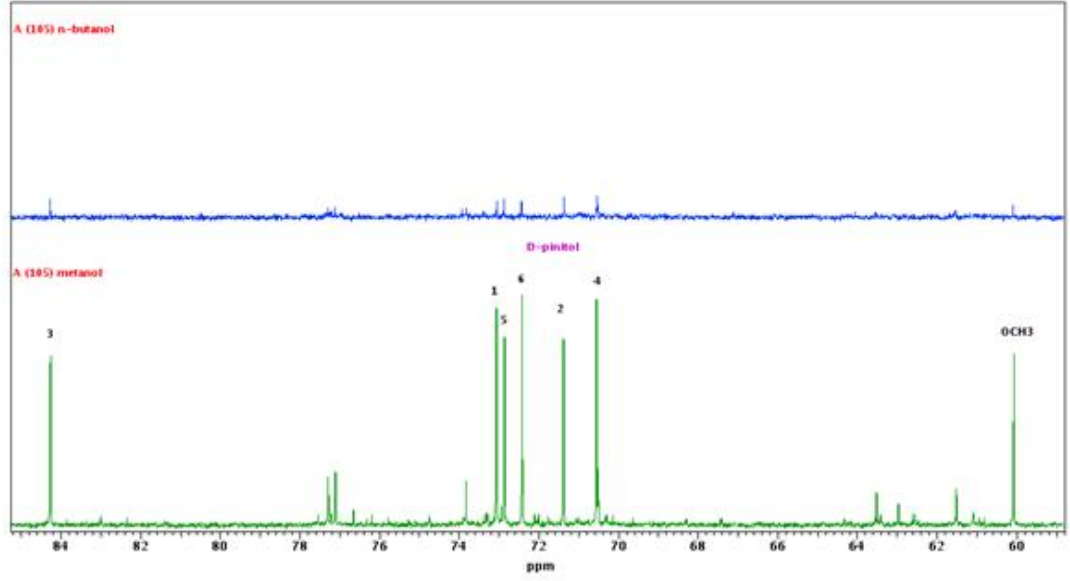


Şekil 4. 22 *Astragalus anthylloides* n-bütanol ve metanol ekstralarının genişletilmiş <sup>13</sup>C NMR spektrumu

*Astragalus lycius* n-bütanol ve metanol ekstralarının metabolomik NMR analizleri gerçekleştirilmiştir. *A. lycius* n-bütanol ve metanol ekstralarının  $^{13}\text{C}$  NMR'ları incelendiğinde D-pinitol'e ait pikler Tablo 4.12'de verilmiştir (Şekil 4.23, Şekil 4.24). Bu karbon değerleri literatür ile uyum içindedir (Chaubal et al. 2005; Chen and Dai 2014; Eser et al. 2017). D-pinitol'ün konfigürasyonu literatürdeki  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR dataları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir (Misra and Siddiqi 2004; Blanco et al. 2008).

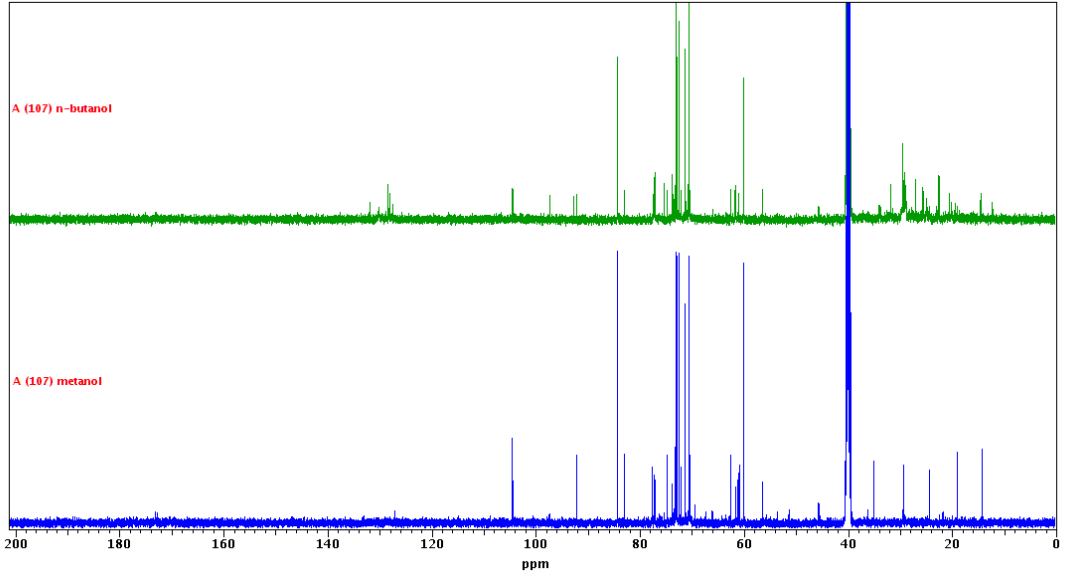


Şekil 4. 23 *A. lycius* n-bütanol ve metanol ekstralarının  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

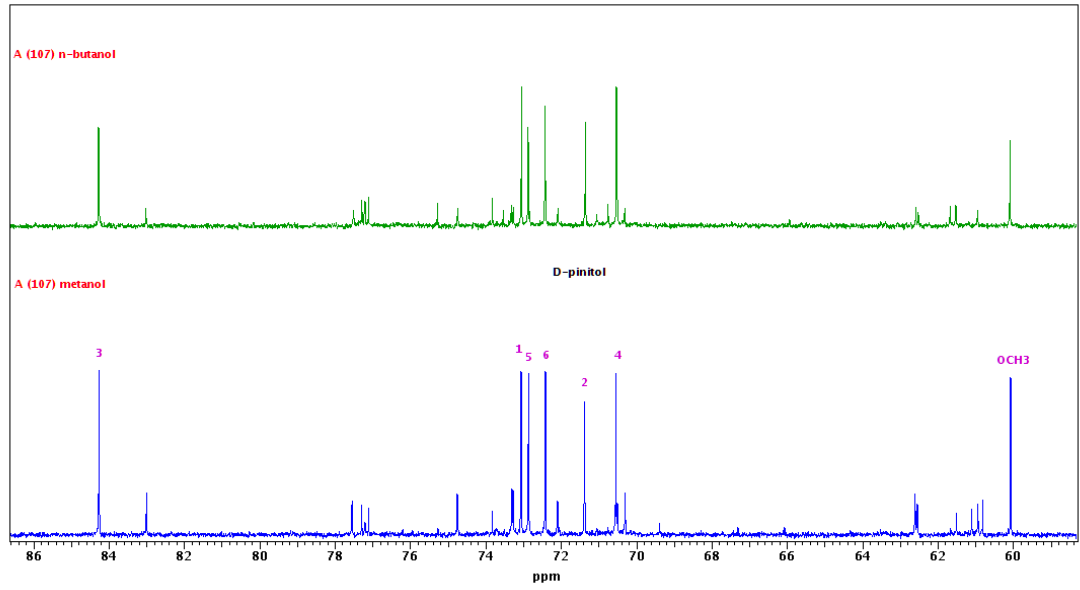


Şekil 4. 24 *A. lycius* n-bütanol ve metanol ekstralarının genişletilmiş <sup>13</sup>C NMR spektrumu

*Astragalus xylobasis* n-bütanol ve metanol ekstralarının metabolomik NMR analizleri gerçekleştirilmiştir. *A. xylobasis* n-bütanol ve metanol ekstralarının <sup>13</sup>C NMR'ları incelendiğinde D-pinitol'e ait pikler Tablo 4.12'de verilmiştir (Şekil 4.25, Şekil 4.26). Bu karbon değerleri literatür ile uyum içindedir (Chaubal et al. 2005; Chen and Dai 2014; Eser et al. 2017). D-pinitol'ün konfigürasyonu literatürdeki <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR dataları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir (Misra and Siddiqi 2004; Blanco et al. 2008).



Şekil 4. 25 *A. xylobasis* n-bütanol ve metanol ekstralarının  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu (125 MHz)



Şekil 4. 26 *A. xylobasis* n-bütanol ve metanol ekstralarının genişletilmiş  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

#### 4.6 Antiproliferatif Aktivite Sonuçları

Endemik üç *Astragalus* türünden elde edilen Hekzan, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstreleri ve standart olarak kullanılan 5-FU'nun C6 ve HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstrelerin C6 ve HeLa hücrelerine karşı IC<sub>50</sub> ve IC<sub>75</sub> değerleri Tablo 4.13'de verildi.

*Astragalus anthylloides* Lam. bitkisinin C6 hücresine karşı en düşük IC<sub>50</sub> değerleri etilasetat ve kloroform ekstrelerinde gözlemlendi (Tablo 4.13). *Astragalus lycius* Boiss. bitkisinin C6 hücresine karşı en düşük IC<sub>50</sub> değerleri etilasetat ekstresinde belirlendi (Tablo 4.13). *Astragalus xylobasis* bitkisinin C6 hücresine karşı en düşük IC<sub>50</sub> değerleri etilasetat ekstresinde tespit edildi (Tablo 4.13).

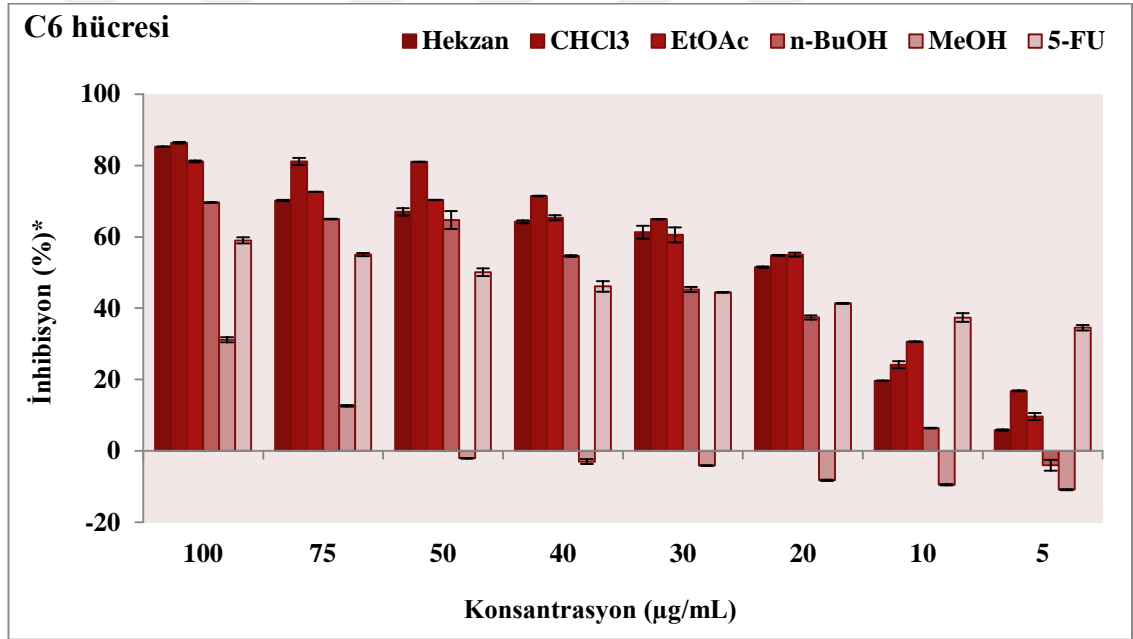
Tablo 4. 13 Endemik üç *Astragalus* türünün HeLa ve C6 kanser hücrelerine karşı IC<sub>50</sub> ve IC<sub>75</sub> değerleri

Bitki Adı	Ekstre Adı	HeLa		C6	
		IC <sub>50</sub>	IC <sub>75</sub>	IC <sub>50</sub>	IC <sub>75</sub>
A. anthylloides	Hekzan	37.12	62.41	26.24	56.71
	CHCl <sub>3</sub>	42.55	70.28	<b>16.58</b>	<b>48.06</b>
	EtOAc	61.16	79.20	16.50	49.78
	n-BuOH	<b>25.70</b>	<b>56.02</b>	30.72	54.91
	MeOH	67.73	80.68	76.67	95.30
A. lycius	Hekzan	47.87	67.15	37.95	62.30
	CHCl <sub>3</sub>	29.27	64.09	17.37	49.89
	EtOAc	<b>14.58</b>	<b>52.66</b>	<b>5.01</b>	<b>46.45</b>
	n-BuOH	29.76	57.64	18.54	48.68
	MeOH	*	*	51.92	70.15
A. xylobasis	Hekzan	33.08	62.27	63.54	80.37
	CHCl <sub>3</sub>	<b>32.60</b>	<b>59.06</b>	55.89	79.54
	EtOAc	39.17	63.68	<b>24.89</b>	<b>54.22</b>
	n-BuOH	58.95	80.71	43.63	73.40
	MeOH	75.35	77.76	46.34	73.60

\* < belirlenemedi.

#### 4.6.1 *Astragalus anthylloides* Lam. bitkisinin C6 ve HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları

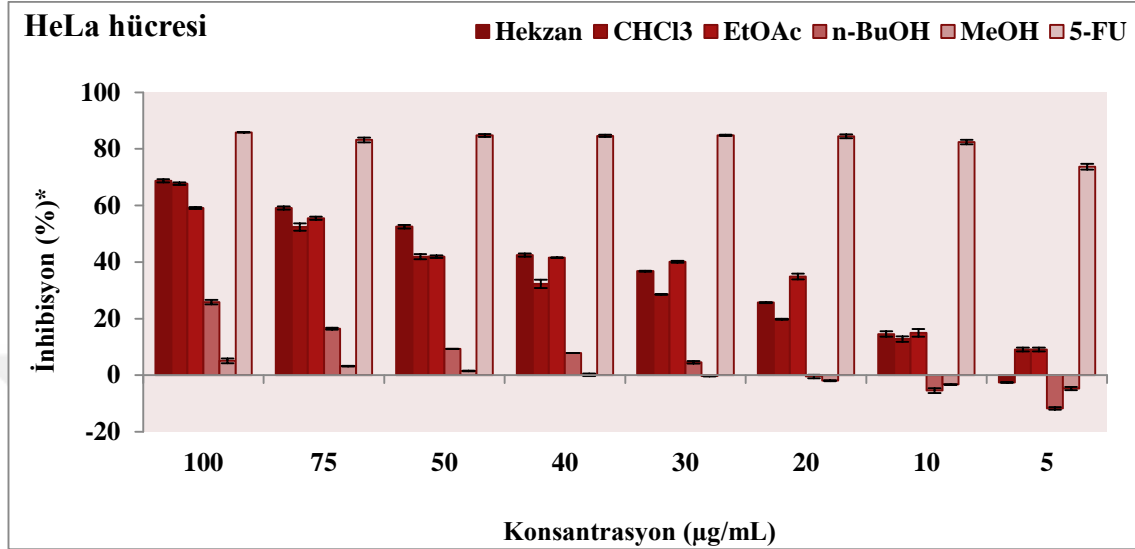
Endemik *Astragalus anthylloides* Lam. türünden elde edilen hekzan, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstralarının ve standart olarak kullanılan 5-FU'nun C6 hücresine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstraların doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.27). 100 µg/mL konsantrasyonda, tüm ekstralarda (metanol ekstresi hariç) C6 hücresine karşı 5-FU'den daha yüksek aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: CHCl<sub>3</sub> ekstresi > Hekzan ekstresi > EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > 5-FU > MeOH ekstresi şeklindedir.



Şekil 4. 27 *Astragalus anthylloides* Lam. bitki ekstralarının C6 hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (\* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

Endemik *A. anthylloides* Lam. türünden elde edilen hekzan, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstralarının ve standart olarak kullanılan 5-FU'nun HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstraların doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.28). Tüm ekstralarda HeLa

hücresine karşı 5-FU'den daha düşük aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: 5-FU > Hekzan ekstresi > CHCl<sub>3</sub> ekstresi > EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > MeOH ekstresi şeklindedir.



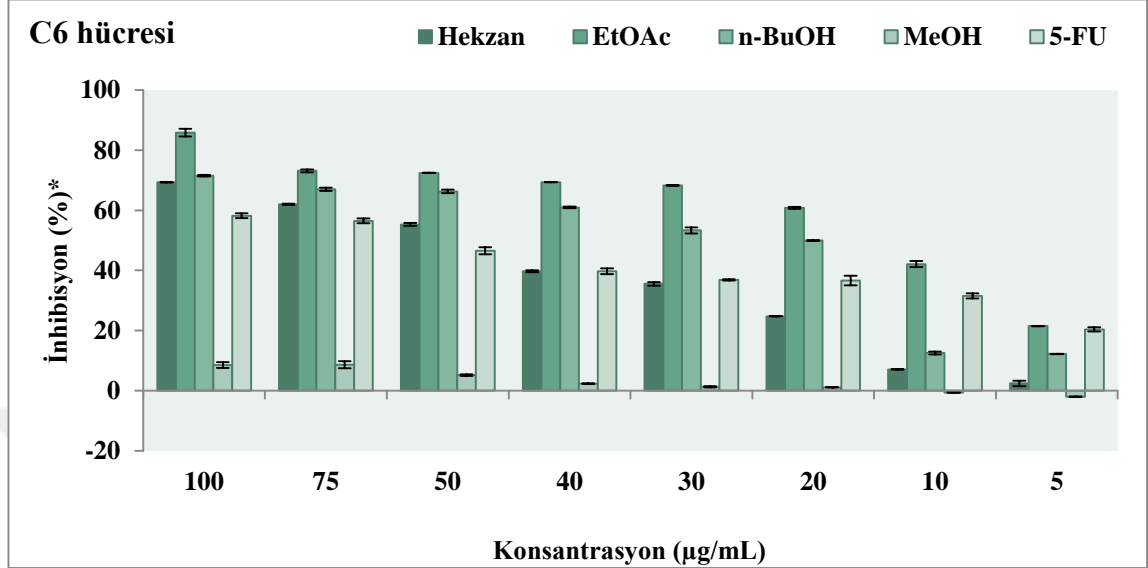
Şekil 4. 28 *Astragalus anthylloides* Lam. bitki ekstraktlarının HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (\* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

#### 4.6.2 *Astragalus lycius* Bitkisinin C6 ve HeLa Hücrelerine Karşı Antiproliferatif Aktivite Sonuçları

Endemik *A. lycius* Boiss. türünden elde edilen hekzan, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstraktlarının ve standart olarak kullanılan 5-FU'nun C6 hücresine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstraktların doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.29). EtOAc ekstresinde C6 hücresine karşı 5-FU'den tüm dozlarda daha yüksek aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda, tüm ekstraktlarda (metanol ekstresi hariç) C6 hücresine karşı 5-FU'den daha yüksek aktivite gözlemlendi. Ayrıca CHCl<sub>3</sub> ve n-BuOH ekstraktları çalışılan en düşük iki doz hariç (5 ve 10 µg/mL) 5-FU'den daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi.

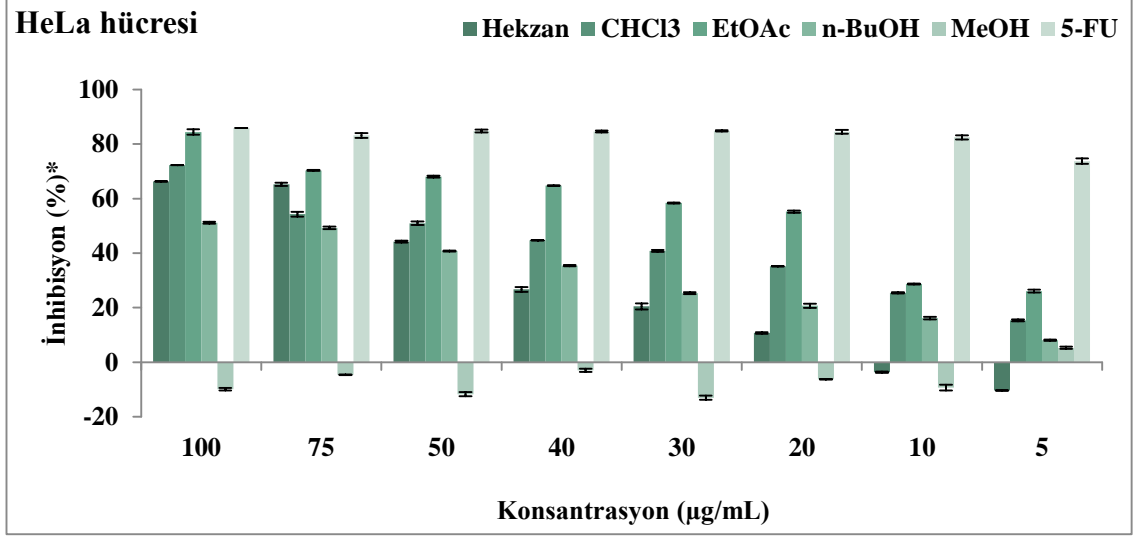


100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: EtOAc ekstresi> n-BuOH ekstresi> CHCl<sub>3</sub> ekstresi> Hekzan ekstresi> 5-FU> MeOH ekstresi şeklindedir.



Şekil 4. 29 *A. lycius* Boiss., bitki ekstralarının C6 hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (\* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

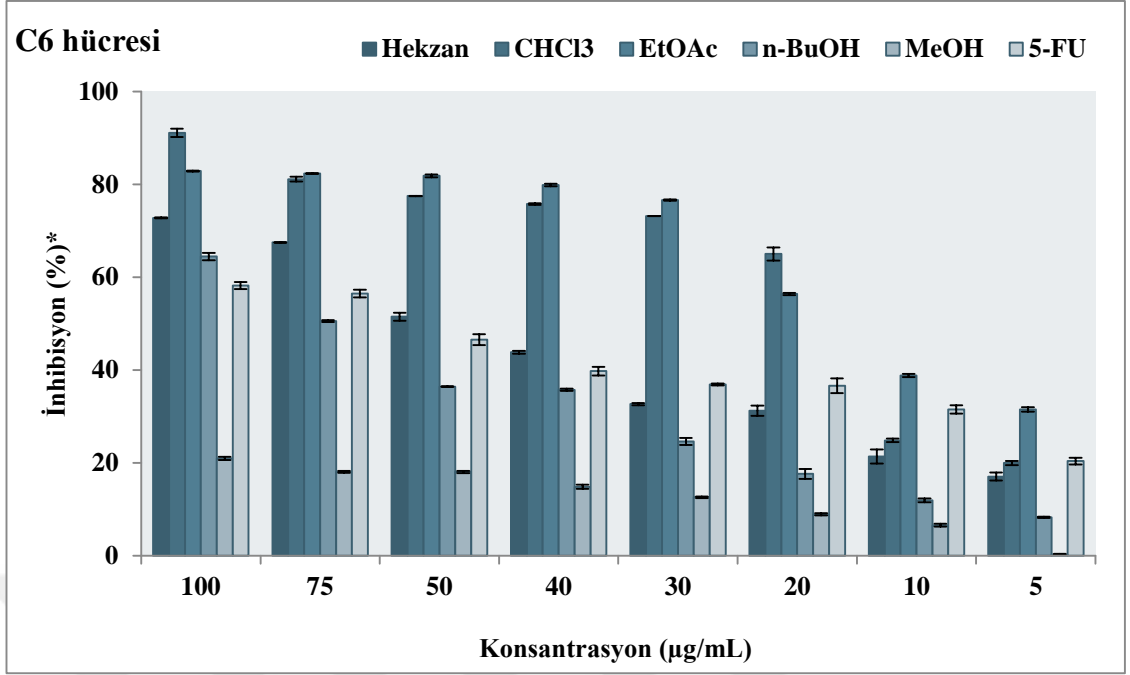
Endemik *A. lycius* Boiss. türünden elde edilen hekzan, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstralarının ve standart olarak kullanılan 5-FU'nun HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstraların doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.30). Ayrıca, tüm ekstralarda HeLa hücresine karşı 5-FU'den daha düşük aktivite gözlemlendi. Ek olarak, EtOAc ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda 5-FU ile hemen hemen aynı aktiviteyi gösterdiği gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: 5-FU~ EtOAc ekstresi> CHCl<sub>3</sub> ekstresi > Hekzan ekstresi> n-BuOH ekstresi> MeOH ekstresi şeklindedir.



Şekil 4. 30 *A. lycius* Boiss. bitki ekstralarının HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (\* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

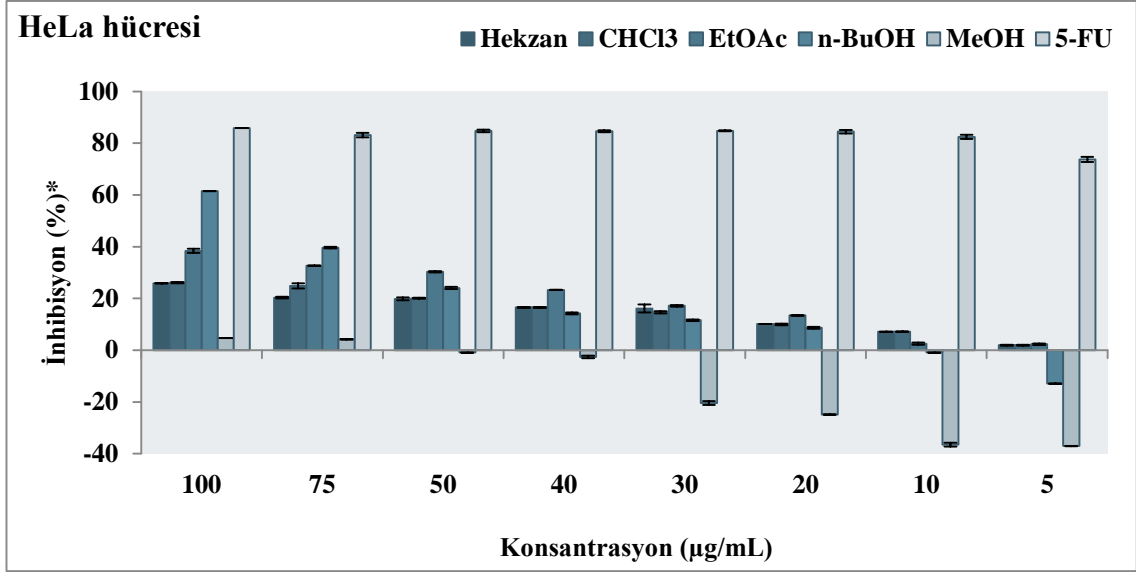
#### 4.6.3 *Astragalus xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* Bitkisinin C6 ve HeLa Hücrelerine Karşı Antiproliferatif Aktivite Sonuçları

Endemik *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm türünden elde edilen hekzan, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstralarının ve standart olarak kullanılan 5-FU'nun C6 hücresine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstraların doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.31). EtOAc ekstresinde C6 hücresine karşı 5-FU'den tüm dozlarda daha yüksek aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda, tüm ekstralarda (metanol ekstresi hariç) C6 hücresine karşı 5-FU'den daha yüksek aktivite gözlemlendi. Ayrıca CHCl<sub>3</sub> ve ekstresi çalışılan en düşük iki doz hariç (5 ve 10 µg/mL) 5-FU'den daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: CHCl<sub>3</sub> ekstresi> EtOAc ekstresi> Hekzan ekstresi> n-BuOH ekstresi> 5-FU> MeOH ekstresi şeklindedir.



Şekil 4. 31 *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitki ekstralarının C6 hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (\* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

Endemik *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm türünden elde edilen hekzan, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstralarının ve standart olarak kullanılan 5-FU'nun HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstraların doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.32). Ayrıca, tüm ekstralarda HeLa hücresine karşı 5-FU'den daha düşük aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: 5-FU > n-BuOH ekstresi > EtOAc ekstresi > CHCl<sub>3</sub> ekstresi > Hekzan ekstresi > MeOH ekstresi şeklindedir.



Şekil 4. 32 *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitki ekstralarının HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (\* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

#### 4.7 Selenyum Analiz Sonuçları

Endemik üç *Astragalus* (*Astragalus anthylloides* Lam., *A. lycius* Boiss., *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm türünden elde edilen kuru bitkilerin ve toplandıkları toprakların ICP-MS analizleri sonucunda selenyum miktarları belirlendi (Tablo 4.14).

*A. anthylloides* Lam. bitkisinin yetiştiği topraklardan alınan örneklerde 0.368 ppb, *A. lycius* Boiss bitkisinin yetiştiği topraklardan alınan örneklerde 0.934 ppb, *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin yetiştiği topraklardan alınan örneklerde 0.714 ppb Selenyum belirlendi. Selenyum miktarındaki değişim çoktan aza doğru şu şekilde sıralanmaktadır:

*A. lycius* toprak örnekleri > *A. xylobasis* toprak örnekleri > *A. anthylloides* toprak örnekleri.

Tablo 4. 14 *Astragalus* türlerinin yetiştiği topraklardaki selenyum içerikleri

Toprak Örnekleri	Örnek No	Konsantrasyon [ ppb ]	Mean	RSD
<i>A. anthylloides</i>	1	0,329	0,368	6,385
	2	0,376		1,809
	3	0,389		0,317
	4	0,351		1,583
	5	0,396		7,648
<i>A. lycius</i>	1	0,945	0,934	0,850
	2	0,980		1,828
	3	0,988		1,313
	4	0,899		6,116
	5	0,857		2,738
<i>A. xylobasis</i>	1	0,764	0,714	6,870
	2	0,806		0,383
	3	0,714		2,161
	4	0,680		2,632
	5	0,607		13,939
<b>MilliQ (Deiyonize saf su)</b>		0,021		40,406

*A. anthylloides* Lam. bitkisinin yetiştiği topraklardan alınan örneklerde 0.175 ppb, *A. lycius* Boiss bitkisinin yetiştiği topraklardan alınan örneklerde 0.054 ppb, *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin yetiştiği topraklardan alınan örneklerde 0.132 ppb Selenyum belirlendi (Tablo 4.15). Selenyum miktarındaki değişim çoktan aza doğru şu şekilde sıralanmaktadır:

*A. anthylloides* bitki örnekleri > *A. xylobasis* bitki örnekleri > *A. lycius* bitki örnekleri.

Tablo 4. 15 Astragalus türlerindeki selenyum içerikleri

	Konsantrasyon [ ppb ]	RSD
A. <i>anthylloides</i>	0,175	11,991
A. <i>lycius</i>	0,054	5,702
A. <i>xylobasis</i>	0,132	2,800
MilliQ (Deiyonize saf su)	0,021	40,406

Tablo 4.14 ve Tablo 4.15 incelendiğinde; **A. anthylloides** yetiştiği topraklarda bulunan selenyum miktarının % 47.55 bitki tarafından topraktan kaldırıldığı tespit edildi. **A. lycius** yetiştiği topraklarda bulunan selenyum miktarının % 5.78 bitki tarafından topraktan kaldırıldığı tespit edildi. **A. xylobasis** yetiştiği topraklarda bulunan selenyum miktarının % 18.48 bitki tarafından topraktan kaldırıldığı tespit edildi. Bu sonuçlara göre topraktan en fazla selenyum kaldıran tür ilk olarak **A. anthylloides** ve bu türü **A. lycius** türü takip etmektedir.

Tablo 4. 16 Selenyum analiz sonuçları ile antiproliferatif aktivite sonuçları

Bitki Adı	Ekstre adı	İnhibisyon (100 µg/mL konsantrasyonda)		Topraktaki Se miktarı (ppb)	Bitkideki Se miktarı (ppb)
		C6 hücresi	HeLa hücresi		
<i>A.anthylloides</i>	Hekzan	85.26	68.70	0.368	0.175
	CHCl <sub>3</sub>	86.34	67.73		
	EtOAc	81.12	59.12		
	n-BuOH	69.60	25.83		
	MeOH	31.16	5.07		
	5-FU	58.21	85.88		

Tablo 4.16 Devam

<i>A. lycius</i>	Hekzan	69.35	66.29	0.934	0.054
	CHCl <sub>3</sub>	70.85	72.28		
	EtOAc	85.85	84.42		
	n-BuOH	71.52	51.19		
	MeOH	8.5	-9.87		
	5-FU	58.21	85.88		
<i>A. xylobasis</i>	Hekzan	72.76	25.87	0.714	0.132
	CHCl <sub>3</sub>	91.09	26.08		
	EtOAc	82.87	38.41		
	n-BuOH	64.46	61.44		
	MeOH	20.95	4.66		
	5-FU	58.21	85.88		

Tablo 4.16 incelendiğinde üç endemik *Astragalus* türünün [*A. anthylloides* Lam., *A. lycius* Boiss, *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm] HeLa ve C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendiğinde tüm türlerde C6 hücresine karşı hücre seçici aktivite gözlemlendi. Buna ilaveten üç endemik *Astragalus* türünden elde edilen ekstraların (hekzan, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, n-BuOH ve MeOH ekstraları) C6 hücresine karşı özellikle CHCl<sub>3</sub> ve EtOAc ekstralarında standart olarak kullanılan 5-FU ile mukayese edildiğinde oldukça yüksek etkiye sahip oldukları gözlemlendi. C6 hücresi için üç endemik *Astragalus* türünün CHCl<sub>3</sub> ve EtOAc ekstralarının antiproliferatif aktivite sonuçları yüksekten düşüğe göre şöyle sıralanmaktadır:

**CHCl<sub>3</sub> ekstresi için:** *A. xylobasis* > *A. anthylloides* > *A. lycius*

**EtOAc ekstresi için:** *A. lycius* > *A. xylobasis* > *A. Anthylloides*

Üç endemik *Astragalus* bitkisinin yetiştiği topraklardan alınan örneklerde Selenyum miktarındaki değişim çoktan aza doğru şu şekilde sıralanmaktadır:

*A. lycius* toprak örnekleri > *A. xylobasis* toprak örnekleri > *A. anthylloides* toprak örnekleri (Tablo 4.14).

Üç endemik *Astragalus* türünden alınan örneklerde Selenyum miktarındaki değişim çoktan aza doğru şu şekilde sıralanmaktadır:

*A. anthylloides* bitki örnekleri > *A. xylobasis* bitki örnekleri > *A. lycius* bitki örnekleri (Tablo 4.15).

Bu veriler ışığında *A. anthylloides* türü için topraktan selenyum kaldırma miktarının ilk sırada olduğu ve antiproliferatif aktivitenin de yüksek olduğu göze çarpmaktadır. Fakat tüm türler incelendiğinde özellikle C6 hücrelerine karşı MeOH ekstraktları hariç dikkate değer antiproliferatif aktivite tespit edildi. Buna bağlı olarakda selenyumun topraktan kaldırılma miktarından çok topraktan kaldırılmasına bağlı olarak antiproliferatif aktivitenin artışını sağladığını yapılan testler sonucunda söylemek mümkündür. Ayrıca literatür incelendiğinde selenyumun antikanser aktivitesi olduğuna yönelik birçok çalışma bulunmaktadır (Westermarck et al. 2014; Misra et al. 2015; Cai et al. 2016).

#### 4.8 Sitotoksik Aktivite Sonuçları

*Astragalus anthylloides* (AsA), *Astragalus xylobasis* (AsX), *Astragalus lycius* (AsL) ekstraktlarında sitotoksik aktivitenin belirlenmesi amacıyla C6 hücreleri kullanıldı. Deney sırasında antiproliferatif aktivite testlerinde kullanılan en yüksek doz olan 100 µM konsantrasyonda çalışılmıştır. Pozitif kontrol olarak da 5-FU kullanıldı. Test sonuçları aşağıdaki Tablo 4.17’de verildi. Tablo 4.17 incelendiğinde 100 µg/mL konsantrasyonda 5-FU ile kıyaslandığında ekstraktların toksisite değerlerinin (%) daha düşük olduğu gözlemlendi.



Tablo 4. 17 AsA, AsX ve AsL ekstralarının C6 hücresine karşı sitotoksik aktivite sonuçları (100 µg/mL konsantrasyonda)

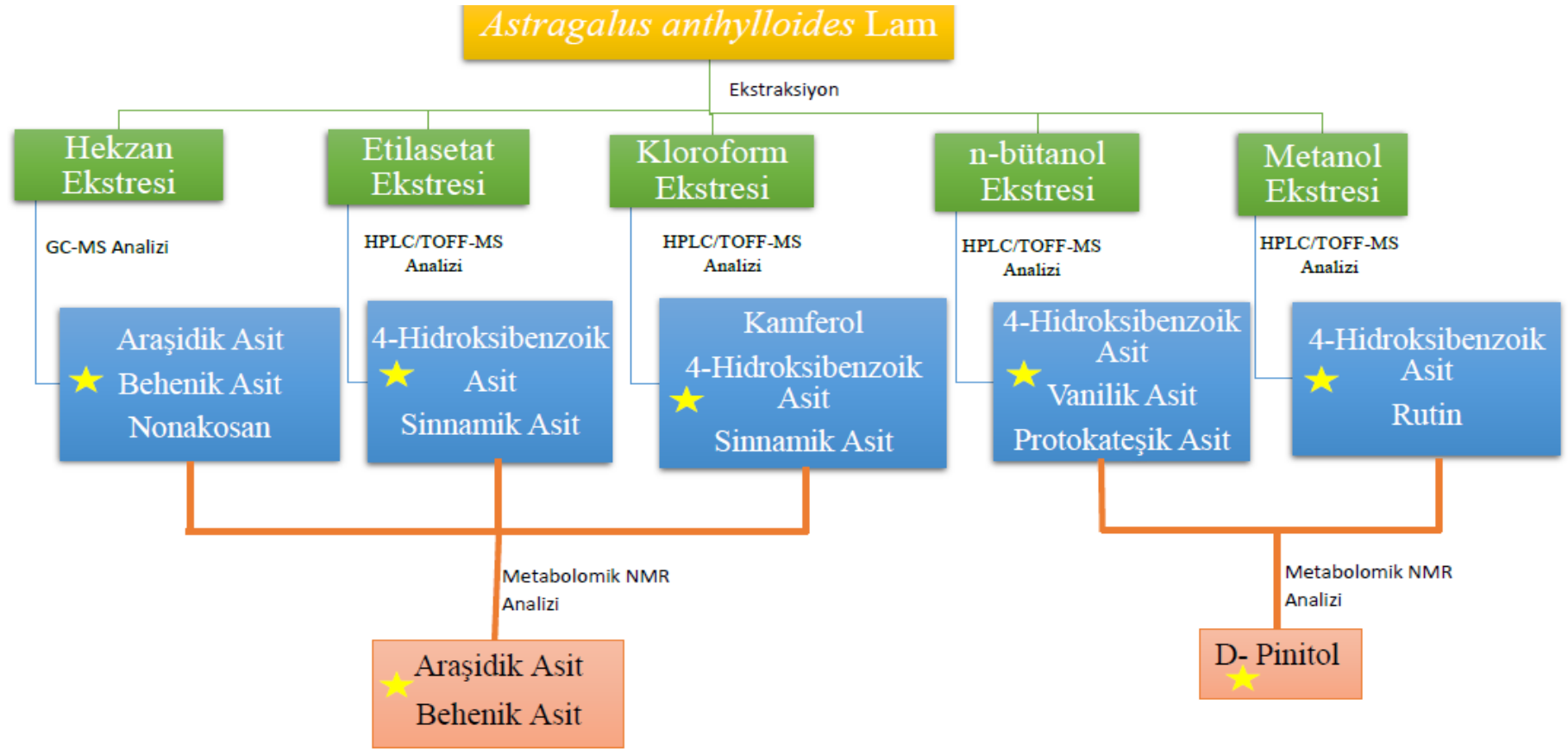
<b><i>Bitki Adı</i></b>	<b>Ekstre Adı</b>	<b>Toksisite (%)</b>
AsA	Hekzan	10
	CHCl <sub>3</sub>	15
	EtOAc	23
	n-BuOH	22
AsX	Hekzan	18
	CHCl <sub>3</sub>	27
	EtOAc	20
	n-BuOH	15
AsL	Hekzan	10
	CHCl <sub>3</sub>	15
	EtOAc	25
	n-BuOH	18
	5-FU	31

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez çalışması kapsamında, endemik *Astragalus anthylloides* Lam ( AsA) , *Astragalus lycius* Boiss. (AsL) , *Astragalus xylobasis* Bunge (AsX), türlerinin fitokimyasal analizi, antiproliferatif ve sitotoksik aktiviteleri incelendi. Ayrıca bu bitkilerin ve bitkilerin yetiştiği toprakların selenyum analizleri gerçekleştirildi.

Çalışmanın özet şeması Şekil 5.1, Şekil 5.2, Şekil 5.3'te verilmiştir.





**Antiproliferatif Aktivite**

**C6:** CHCl<sub>3</sub> ekstresi > Hekzan ekstresi > EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > 5-FU > MeOH

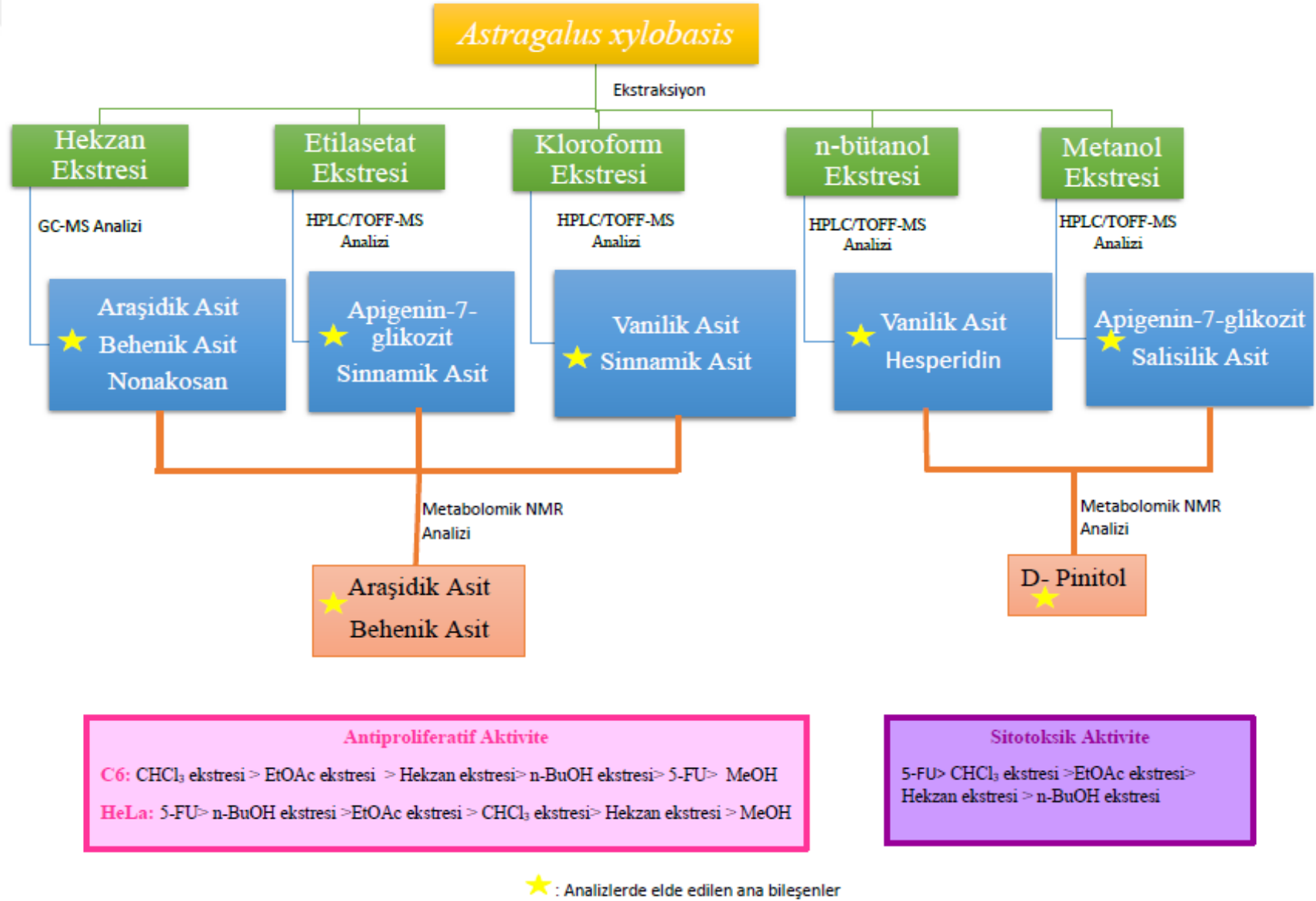
**HeLa:** 5-FU > Hekzan ekstresi > CHCl<sub>3</sub> ekstresi > EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > MeOH

**Sitotoksik Aktivite**

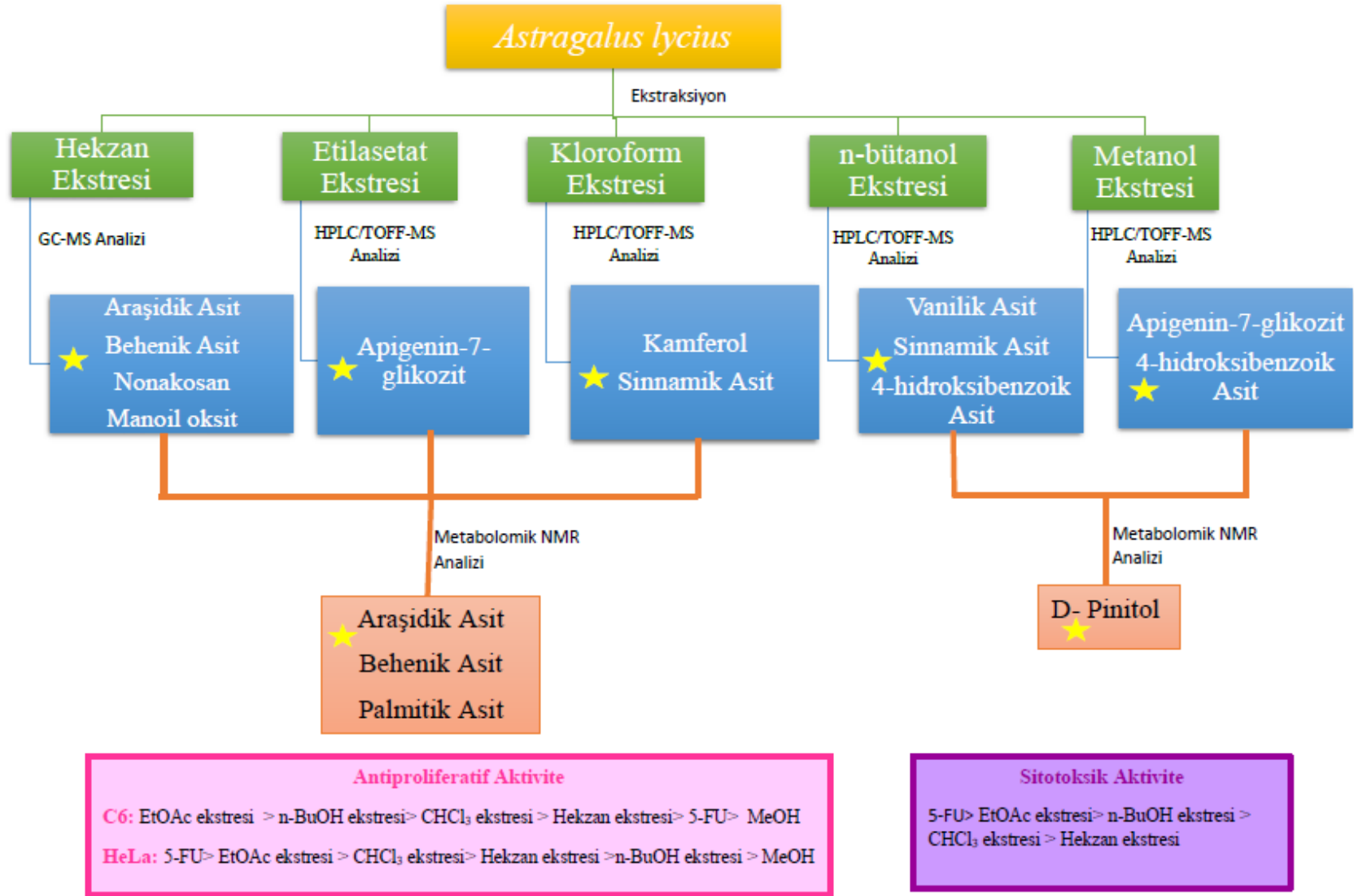
5-FU > EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > CHCl<sub>3</sub> ekstresi > Hekzan ekstresi

★ : Analizlerde elde edilen ana bileşenler

Şekil 5. 1 *Astragalus anthylloides* çalışma şeması



Şekil 5. 2 *Astragalus xylobasis* çalışma şeması



★ : Analizlerde elde edilen ana bileşenler

Şekil 5. 3 *Astragalus lycius* çalışma şeması

1.) *Astragalus* (AsA, AsX ve AsL) türleri sırasıyla hekzan, kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol çözücülerinden sırasıyla geçirildi.

AsA kök, gövde, çiçek ve toprak üstü kısımlarının; hekzan ekstralarında en yüksek verim 97.80 mg (% 0.33), kloroform ekstralarında en yüksek verim 116,80 mg (% 0,39) ve n-bütanol ekstralarında 64.10 mg (% 0,21) çiçek kısımlarından elde edilirken, etil asetat ekstralarında en yüksek verim 42,10 mg (% 0, 14) gövde kısmından elde edildi ve metanol ekstresinde en yüksek verim 2135,70 (% 7.12) toprak üstü kısmından elde edildi (Tablo 4.2). AsA bütün bitki kısımlarından en yüksek verim 1920,10 (% 3.84) metanol ekstresinden elde edildi.

AsL kök ve toprak üstü kısımlarının; hekzan ekstralarında en yüksek verim 107,70 mg (% 0.36), kloroform ekstralarında en yüksek verim 160,70 mg (% 0,54), etil asetat ekstralarında en yüksek verim 44,10 mg (% 0, 15), n-bütanol ekstralarında 88.10 mg (% 0,29) ve metanol ekstralarında en yüksek verim 1115,60 (% 3,72) toprak üstü kısmından elde edildi. AsL bütün bitki kısımlarından en yüksek verim 507,10 (% 1,01) Metanol ekstresinden elde edildi (Tablo 4.3).

AsX kök ve toprak üstü kısımlarının; hekzan ekstralarında en yüksek verim 42,90 mg (% 0,14), kloroform ekstralarında en yüksek verim 125,80 mg (% 0,42), etil asetat ekstralarında en yüksek verim 45,10mg (% 0, 15), n-bütanol ekstralarında 49,20 mg (% 0,16) ve metanol ekstralarında en yüksek verim 2518,90 (% 8.40) toprak üstü kısmından elde edildi. AsX bütün bitki kısımlarından en yüksek verim 1264,20 (% 2,53) metanol ekstresinden elde edildi (Tablo 4.4).

*Astragalus* (AsA, AsX ve AsL) türlerinin **metanol** ekstralarında elde edilen verimler diğer ekstralara göre daha yüksek olduğu gözlemlendi.

2.) *Astragalus* (AsA, AsX ve AsL) türlerinin GC-MS analizleri sonucunda ;

AsA hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, toplam 63 bileşen belirlendi. Bu bileşenlerden 11 tanesi doymuş yağ asidi, 1 tanesi mono doymamış yağ asidi, 2 tanesi

çoklu doymamış yağ asidi ve diğer bileşenlerdir (Tablo 4.5). *A. anthylloides* Lam. bitkisinin hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda ana bileşen olarak sırasıyla kök, gövde, çiçek, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarından **Araşidik asit** (%18.64, %32.64, %12.24, %43.35, %2.66 ), **Behenik asit** (%24.03, %23.55, % 8.11, %10.05, %1.23), **Nonakosan** (%10.48, %5.10, %33.03, %5.74, %19.8) olarak belirlendi (Tablo 4.5).

AsL hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, toplam 49 bileşen belirlendi. Bu bileşenlerden 15 tanesi doymuş yağ asidi, 2 tanesi mono doymamış yağ asidi, 2 tanesi çoklu doymamış yağ asidi ve diğer bileşenlerdir. *A. lycius* Boiss. bitkisinin kök kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak araşidik asit (% 13.30), behenik asit (% 13.59) ve nonakosan (% 24.64) belirlendi. Bu bitkinin toprak üstü kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, heptakosane (%7.57) ve nonakosan (% 34.40) ana bileşenler olarak tespit edildi. *A. lycius* Boiss. bitkisinin bütün bitki kısımlarında, manoyl oxide (% 8.78), heptakosane (% 10.12) ve nonakosan (% 20.14) ana bileşenler olarak tespit edildi (Tablo 4.6).

AsX bitkisinin kök, toprak üstü ve bütün bitki kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, toplam 38 bileşen belirlenmiştir. Bu bileşenlerden 13 tanesi doymuş yağ asidi, 2 tanesi mono doymamış yağ asidi, 1 tanesi çoklu doymamış yağ asidi ve diğer bileşenlerdir (Tablo 4.7). Bitkinin kök kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak araşidik asit (% 10.65), behenik asit (% 15.88) ve cerotik asit (% 11.42) belirlendi. Bu bitkinin toprak üstü kısımlarının hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, araşidik asit (% 17.01), behenik asit (% 11.23) ve nonakosan (% 15.72) ana bileşenler olarak tespit edildi. AsX bitkisinin bütün bitki kısımlarında, araşidik asit (% 20.81), behenik asit (% 19.69) ve 1-tetrakosanol (% 12.28) ana bileşenler olarak tespit edildi.

Bu veriler ışığında **araşidik asit**, **behenik asit** ve **nonakosan** bileşenleri türlerin içeriğinde barındırdığı ortak ana bileşenleridir.

3.) *Astragalus* (AsA, AsX ve AsL) türlerinin HPLC-TOF/MS analizinde 25 adet fenolik bileşene bakıldı.

*A. anthylloides* Lam. bitkisinin kloroform ekstresinde ana bileşen olarak **kamferol**, etil asetat ekstresinde ana bileşen olarak **4-Hidroksibenzoik asit**, n-bütanol ekstresinde ana bileşen olarak **4-Hidroksibenzoik asit ve sinnamik asit**, metanol ekstresinde ana bileşen olarak **rutin ve gentisic asit** gözlemlendi (Tablo 4.8, Tablo 4.9) .

*A. lycius* Boiss. bitkisinin kloroform ekstresinde ana bileşen olarak **kamferol ve sinnamik asit**, etil asetat ekstresinde ana bileşen olarak **Apigenin-7-glikozit**, n-bütanol ekstresinde ana bileşen olarak **4-Hidroksibenzoik asit, sinnamik asit ve vanilik asit**, metanol ekstresinde ana bileşen olarak **Apigenin-7-glikozit ve 4-Hidroksibenzoik asit** gözlemlendi (Tablo 4.10)

*A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm bitkisinin kloroform ve etil asetat ekstralarında ana bileşen olarak **sinnamik asit**, n-bütanol ekstresinde ana bileşen olarak **hesperidin ve vanilik asit**, metanol ekstresinde ana bileşen olarak **Apigenin-7-glikozit** elde edildi (Tablo 4.11).

*Astragalus* (AsA, AsX ve AsL) türlerinin kloroform ekstralarında **kamferol**, etil asetat ekstralarında **klorojenik asit**, n-bütanol ekstralarında **sinnamik asit**, metanol ekstralarında 4-hidroksibenzoik asit ve rutin fenolikleri ortak ana bileşen olarak gözlemlendi.

4.) AsA heksan, kloroform, etilasetat ekstralarının <sup>13</sup>C NMR ları incelendiğinde ana bileşen olarak behenik asit ve araşidik asit tespit edilmiştir, elde edilen karbon değerleri literatür ile uyum içindedir (URL 21). AsA -bütanol ve metanol ekstralarının <sup>13</sup>C NMR'ları incelendiğinde D-pinitol'e ait pikler Tablo 4.12'de verilmiştir. Bu karbon değerleri literatür ile uyum içindedir (Chaubal et al. 2005; Chen and Dai 2014; Eser et al. 2017). D-pinito'ün konfigürasyonu literatürdeki <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR dataları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir (Misra and Siddiqi 2004; Blanco et al. 2008).



AsL hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrlerinin  $^{13}\text{C}$  NMR'ları incelendiğinde ana bileşen olarak tespit edilen araşidik asit, behenik asit ve palmitik asit belirlenmiştir. Elde edilen karbon NMR değerleri literatür ile uyum içindedir (Marcel et al. 1997; URL 18). Bununla birlikte kloroform ekstresinin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumunda linolenik ve linoleik asit tespit edilmiştir.  $^{13}\text{C}$  NMR değerleri literatür ile uyum içindedir (URL 21; Marcel et al. 1997). AsL n-bütanol ve metanol ekstrlerinin  $^{13}\text{C}$  NMR ları incelendiğinde D-pinitol'e ait pikler Tablo 4.7'de verilmiştir. Bu karbon değerleri literatür ile uyum içindedir (Chaubal et al. 2005; Chen and Dai 2014; Eser et al. 2017). D-pinitol'ün konfigürasyonu literatürdeki  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR dataları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir (Misra and Siddiqi, 2004; Blanco et al. 2008).

AsX hekzan, kloroform ve etilasetat ekstrlerinin  $^{13}\text{C}$  NMR'ları incelendiğinde ana bileşen olarak araşidik asit ve behenik asit belirlenmiştir. AsX n-bütanol ve metanol ekstrlerinin  $^{13}\text{C}$  NMR'ları incelendiğinde D-pinitol'e ait pikler Tablo 4.7'de verilmiştir. Bu karbon değerleri literatür ile uyum içindedir (Chaubal et al. 2005; Chen and Dai 2014; Eser et al. 2017). D-pinitol'ün konfigürasyonu literatürdeki  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR dataları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir (Misra and Siddiqi 2004; Blanco et al. 2008).

**5.) *Astragalus* (AsD, AsK ve AsS) türlerinin hekzan,  $\text{CHCl}_3$ , EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstrlerinin ve standart olarak kullanılan 5-F'nun C6 ve HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstrlerin doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi.**

*A. anthylloides* Lam. ekstrlerine yapılan testler neticesinde tüm ekstrlerin doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.28). 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonda, tüm ekstrlerde (metanol ekstresi hariç) C6 hücresine karşı 5-FU'den daha yüksek aktivite gözlemlendi. 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonda aktivite sırası ile:  $\text{CHCl}_3$  ekstresi > Hekzan ekstresi > EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > 5-FU > MeOH ekstresi şeklindedir.

*A. anthylloides* Lam. türünden elde edilen tüm ekstrelerde HeLa hücrelerine karşı 5-FU'den daha düşük aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: 5-FU > Hekzan ekstresi > CHCl<sub>3</sub> ekstresi > EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > MeOH ekstresi şeklindedir (Şekil 4.29).

*A. lycius* Boiss. türünün EtOAc ekstresinde C6 hücrelerine karşı 5-FU'den tüm dozlarda daha yüksek aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda, tüm ekstrelerde (metanol ekstresi hariç) C6 hücrelerine karşı 5-FU'den daha yüksek aktivite gözlemlendi. Ayrıca CHCl<sub>3</sub> ve n-BuOH ekstreleri çalışılan en düşük iki doz hariç (5 ve 10 µg/mL) 5-FU'den daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > CHCl<sub>3</sub> ekstresi > Hekzan ekstresi > 5-FU > MeOH ekstresi şeklindedir (Şekil 4.30).

*A. lycius* Boiss. tüm ekstrelerde HeLa hücrelerine karşı 5-FU'den daha düşük aktivite gözlemlendi. Ek olarak, EtOAc ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda 5-FU ile hemen hemen aynı aktiviteyi gösterdiği gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: 5-FU ~ EtOAc ekstresi > CHCl<sub>3</sub> ekstresi > Hekzan ekstresi > n-BuOH ekstresi > MeOH ekstresi şeklindedir (Şekil 4.31).

*A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm türüne ait ekstrelerin tümünde doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.32). EtOAc ekstresinde C6 hücrelerine karşı 5-FU'den tüm dozlarda daha yüksek aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda, tüm ekstrelerde (metanol ekstresi hariç) C6 hücrelerine karşı 5-FU'den daha yüksek aktivite gözlemlendi. Ayrıca CHCl<sub>3</sub> ve ekstresi çalışılan en düşük iki doz hariç (5 ve 10 µg/mL) 5-FU'den daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: CHCl<sub>3</sub> ekstresi > EtOAc ekstresi > Hekzan ekstresi > n-BuOH ekstresi > 5-FU > MeOH ekstresi şeklindedir.

*A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm türüne ait ekstrelerin tümünde doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.33). Ayrıca, tüm ekstrelerde HeLa hücrelerine karşı 5-FU'den daha düşük aktivite gözlemlendi.

100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: 5-FU> n-BuOH ekstresi> EtOAc ekstresi> CHCl<sub>3</sub> ekstresi > Hekzan ekstresi> MeOH ekstresi şeklindedir.

Antikanser testler sonucunda AsA, AsL ve AsX bitkilerinden elde edilen ekstrelerin C6 hücresine karşı hücre seçici aktivite gösterdiği gözlemlendi.

6.) Üç endemik *Astragalus* bitkisinin yetiştiği topraklardan alınan örneklerde Selenyum miktarındaki değişim çoktan aza doğru şu şekilde sıralanmaktadır:

*A. lycius* toprak örnekleri> *A. xylobasis* toprak örnekleri > *A. anthylloides* toprak örnekleri (Tablo 4.14).

Üç endemik *Astragalus* türünden alınan örneklerde Selenyum miktarındaki değişim çoktan aza doğru şu şekilde sıralanmaktadır:

*A. anthylloides* bitki örnekleri> *A. xylobasis* bitki örnekleri> *A. lycius* bitki örnekleri (Tablo 4.15).

*A. anthylloides* Lam., *A. lycius* Boiss ve *A. xylobasis* Freyn & Bornm. var. *angustus* (Freyn & Sint.) Freyn & Bornm HeLa ve C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendiğinde tüm türlerde C6 hücresine karşı hücre seçici aktivite gözlemlendi. Bu üç endemik *Astragalus* türünden elde edilen ekstrelerin (hekzan, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, n-BuOH ve MeOH ekstreleri) C6 hücresine karşı özellikle CHCl<sub>3</sub> ve EtOAc ekstrelerinde standart olarak kullanılan 5-FU ile mukayese edildiğinde oldukça yüksek etkiye sahip oldukları gözlemlendi. C6 hücresi için üç endemik *Astragalus* türünün CHCl<sub>3</sub> ve EtOAc ekstrelerinin antiproliferatif aktivite sonuçları yüksekten düşüğe göre şöyle sıralanmaktadır:

**CHCl<sub>3</sub> ekstresi için:** *A. xylobasis* > *A. anthylloides*> *A. lycius*

**EtOAc ekstresi için:** *A. lycius*> *A. xylobasis*> *A. Anthylloides*

*A. anthylloides* türü için topraktan selenyum kaldırma miktarının ilk sırada olduğu ve antiproliferatif aktivitenin de yüksek olduğu göze çarpmaktadır. Fakat tüm türler incelendiğinde özellikle C6 hücrelerine karşı MeOH ekstraktları hariç dikkate değer antiproliferatif aktivite tespit edildi. Buna bağlı olarak selenyumun topraktan kaldırılma miktarından çok, topraktan kaldırılmasına bağlı olarak antiproliferatif aktivitenin artışı sağladığını yapılan testler sonucunda söylemek mümkündür. Ayrıca literatür incelendiğinde selenyumun antikanser aktivitesi olduğuna yönelik birçok çalışma bulunmaktadır (Westermarck et al. 2014; Misra et al. 2015; Cai et al. 2016).

7. AsA, AsX ve AsL ekstraktlarının sitotoksik aktiviteleri belirlendi (Tablo 4.17). Tablo 4.17 incelendiğinde 100 µM konsantrasyonda AsA ve AsL etil asetat ekstresi, AsX kloroform ekstresi maksimum toksisiteye sahiptir. Bu değerler 5-FU ile kıyaslandığında ekstraktların % sitotoksikite değerleri oldukça düşüktür.

Sonuç olarak; AsA , AsX ve AsL'nin n-bütanol ekstraktları C6 hücrelerine karşı 5FU'den daha yüksek antiproliferatif aktivite göstermiştir. AsX, AsA ve AsL n-bütanol ve metanol ekstraktlarının metabolomik NMR analizleri sonucunda ana bileşen olarak **D-pinitol** belirlendi. D-pinitol, besleyici uyarıcı, anti-inflamatuar, kardiyoprotektif, anti-hiperlipidemik ve kreatin tutma promosyon özellikleri de dahil olmak üzere çok fonksiyonlu özelliklere sahiptir (Numata et al. 1990). D-pinitol'ün anti-inflamatuar etkisi ile ilgili birkaç çalışmada daha mevcuttur (Lee et al. 2007a; Lee et al. 2007b). Aynı zamanda D- pinitol, antikanser aktivite (Sethi et al. 2008; Zhan and Lou 2007; Rengarajan et al. 2012; Lin et al. 2013), larvisidal aktiviteye (Chaubal et al. 2005) sahiptir. D-pinitol, akut toksisitesiz normal ve alloxana maruz kalmış albino farelerde glisemik kontrolü artırmak için insüline benzer bir etki gösterdiği tespit edilmiştir (Sharma et al. 2014; Poongothai and Sripathi 2013).

AsA'nın kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol ekstraktlarında **4- hidroksibenzoik asit** ana bileşen olarak belirlenmiştir. Bu ekstraktlar C6 hücrelerine karşı 5-FU den daha yüksek antiproliferatif aktivite göstermiştir. Yapılan literatür araştırmalarında, 4-hidroksibenzoik, protokateşoik ve vanillik asit gibi hidroksibenzoik asit türevlerinin yanı sıra p-kumarin ve kafeik asit gibi hidroksisinnamik asit formları, önemli anti

kanser aktivitesi olan bileşenler olduğu belirtilmiştir (Rocha et al. 2012; Tanaka et al. 2011).

AsA , AsX ve AsL'nin n-bütanol ekstralarında ve AsX'in kloroform ekstresinde C6 hücrelerine karşı 5-FU den daha yüksek antiproliferatif aktivite tespit edilmiştir. Bu ekstralarda **vanilik asit** ana bileşen olarak belirlenmiş olup literatürde vanilik asitin önemli antikanser aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Rocha et al. 2012; Tanaka et al. 2011).

AsX ve AsL'nin kloroform ve AsA ve AsX etil asetat ekstralarında **sinnamik asit** ana bileşen olarak belirlenmiştir. Bu ekstralarda C6 hücrelerine karşı 5-FU'den daha yüksek antiproliferatif aktivite tespit edilmiştir. Tarçının ana maddesi olan Sinamik asitin hücre farklılaşmasını indükleyebildiği ve tümör hücresi çoğalmasını inhibe edebildiği belirtilmiştir (Liu et al. 1995).

AsA kloroform ekstresinde ana bileşen olarak **kamferol** belirlenmiştir. Bu ekstrede C6 hücrelerine karşı 5-FU den daha yüksek antiproliferatif aktivite tespit edilmiştir. Kamferol, meyve ve sebzelerde bulunan polifenol bir antioksidandır. Pek çok incelemeler kamferolün kronik hastalık riskini azalttığı özellikle de kanseri engellediğini belirtmiştir (Chen and Chen 2013).

AsL ve AsX'in etil asetat ve metanol ekstralarında **apigenin-7-glikozit (A7G)** ana bileşen olarak belirlenmiştir. Etil asetat ekstralarının C6 hücrelerine karşı 5-FU'den daha yüksek antiproliferatif aktivite tespit edilmiştir. A7G antimutajenik, antiproliferatif, antialerjik etki gösterir ayrıca, enobiyotik metabolizan enzimleri inhibe etmektedir (Hanske et al. 2009).

## KAYNAKLAR

- Ateşşahin, A. 2001. Deneysel olarak selenyum zehirlenmesi oluşturan koyunlarda kan ve doku selenyum düzeylerinin belirlenmesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 17(1), 89-96.
- Balcı, M. 2007. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi. ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayını, 452s., Ankara.
- Bashyal, B. P., Wijeratne, E.M., Tillotson, J., Arnold, A. E., Chapmen, E., Gunatilaka, A. A. L. 2017. Chlorinated Dehydrocurvularins and Alterperyleneoxide A from *Alternaria* sp. AST0039, a Fungal Endophyte of *Astragalus lentiginosus*. *Journal of Natural Products*, 80(2), 427-433.
- Beck, M.A., Levande, O.A., Handy, J. 2003. "Selenium deficiency and viral infection", *Journal of Nutrition*, 133, 1463-7.
- Bedir, E., Çalış, İ., Aquino, R., Piacente, S., Pizza, C. 1999. Secondary Metabolites from the Roots of *Astragalus trojanus*, *J. Nat. Prod.* 62, 563-568 .
- Bensky, D. and Gamble, A. 1993. *Chinese Herbal Medicine: Materia Medica*, Revised Edition. Seattle, WA: Eastland Press.
- Birringer, M., Pilawa, S., Flohe, I. 2002. "Trends in selenium biochemistry", *Natural Product Report*, 19, 693-718.
- Blanco, N., Flores, Y., Almanza G.R., 2008. Secondary metabolites from *senna versicolor*. *Rev. Boliv. Quim.* 25, 36-42.
- Cai, X., Wang, C., Yu, W., Fan, W., Wang, S., Shen, N., Wu, P., Li, X., Wang, F. 2016. "Selenium Exposure and Cancer Risk: an Updated Meta-analysis and Meta-regression", *Scientific Reports*, 1-18 (DOI: 10.1038/srep19213).
- Cai, X.J., Block, E., Uden, P.C., Zhang, X., Quimby, B.D., Sullivan, J.J. 1995. "*Allium* chemistry: Identification of selenoamino acids in ordinary and selenium-enriched garlic, onion, and broccoli using gas chromatography with atomic emission detection", *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 43, 1754-1757.
- Chaubal, R., Pawar, P.V., Hebbalkar, G.D., Tungikar, V.B., Puranik, V.G., Deshpande, V.H., Deshpande, N.R. 2005. Larvicidal Activity of *Acacia nilotica* Extracts and isolation of D-pinitol- A Bioactive Carbohydrate. *Chemistry&Biodiversity*, 2, 684-688.

- Chen, A.Y., Chen, Y.C. 2013 A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food Chem*, 138(4), 2099-2107.
- Chen, J., Dai, Guang-Hui, 2014. Effect of D-pinitol isolated and identified from *Robinia pseudoacacia* against cucumber powdery mildew. *Scientia Horticulturae*, 176, 38-44.
- Chen, L.X., Liao, J.X., Guo, W.Q. 1995. Effects of Astragalus membranaceus on left Ventricular Function and Oxygen Free Radical in Acute Myocardial Infarction Patients and Mechanism of its Cardiogenic Action. *Chung Kuo, Chung Hsi, I Chieh Ho Tsa Chih*. 15(3), 141-3.
- Chen, X.J., Bian, Z.P., Lu, S., Xu, J.D., Gu, C.R., Yang, D., Zhang, J.N. 2006. Cardiac Protective Effect of Astragalus on Viral Myocarditis Mice: Comparison with Perindopril. *The American Journal of Chinese Medicine*, 34(3), 493-502.
- Cheng, J. 2015. A traditional chinese medicine for treatment of prostatitis.
- Clark, L.C., Combs, G.F., Jr, Turnbull, B.W., Slate, E.H., Chalker, D.K., Chow, J., Davis, L.S., Glover, R.A., Graham, G.F., Gross, F.G., Kronrad, A., Leshner, J.L. Jr, Park, H.K., Sanders, B.B., Jr, Smith, C.L., Taylor, J.R. 1996. "Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin a randomized controlled trial – a randomized controlled trial", *Journal of American Medicinal Assesment*, 276, 1957–1963.
- Demirhan Erdemir, A. ve Elçioğlu, Ö. 2013. Tıp yazmalarının koruyucusu ve faydalı bir drog: Kebikeç Bitkisi, *Lokman Hekim Journal* 8(2), 16.
- Derviş, E. 2011. Oral Antioksidanlar. *Dermatoz*, 2(1), 263-267.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., & Adigüzel, N. 2000. *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı. Ankara: Türkiye Tabiatını Koruma Derneği & Yüzüncü Yıl University.*
- Ertaş, N. 2013. Baklagil ve baklagil ürünlerinin gıda endüstrisinde kullanımı. *Ulusal Kop Bölgesel Kalkınma Sempozyumu.*
- Eser, F., Mutlu Altundag, E., Gedik, G., Demirtas, I., Onal, A., Selvi, B., 2017. Anti-inflammatory effect of D-pinitol isolated from the leaves of *Colutea cilicica* Boiss et Bal. on K562 cells. *Turkish Journal of Biochemistry*, in press.
- Faydaoğlu, E. Sürücüoğlu, M.S. 2011. Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman fakültesi Dergisi*, 11(2), 52-67.

- Finley, J.W., Davis, C.D. 2001. "Selenium (Se) from high-selenium *broccoli* is utilized differently than selenite, selenate, and selenomethionine, but is more effective in inhibiting colon carcinogenesis", *BioFactors*, 14, 191–196.
- Fleming, J., Ghose, A., Harrison, P.R. 2001. "Molecular mechanisms of cancer prevention by selenium compounds", *Nutrition and Cancer*, 40, 42–49.
- Foster, S., Chongxi, Y. 1992. *Herbal Emissaries. Bringing Chinese Herbs to the West*. Rochester, VT; Healing Arts Press, 356.
- Frederich, M. Jansen, C. Tullio, P. Tits, M. Demoulin, V. Angenot, L. 2009. Metabolomic Analysis of *Echinacea* spp. by <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry and Multivariate Data analysis Technique *Phytochemical Analysis*, 21, 61-65.
- Ganther, H.E. 1999. "Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase", *Carcinogenesis*, 20, 1657–1666.
- Hanske, L., Loh, G., Sczensny, S., Blaut, M., Braune, A., 2009. The Bioavailability of Apigenin-7-glucoside Is Influenced by Human Intestinal Microbiota in Rats<sup>1-3</sup>. *J.Nutr*, 139 (6), 1095-1102.
- Hong, Y.H. 1986. *Oriental Materia Medica: A Concise Guide*. Long Beach, CA: Oriental Healing Arts Institute.
- Ip C, Ganther H.E. 1992. "Relationship between the chemical form of selenium and anticarcinogenic activity", In: *Cancer Chemoprevention*, I. Wattenberg, M. Lipkin, C. W. Boon, G. J. Kellott & R. Boca, pp. 479-488, CRC Press.
- Ip C., Birringer, M., Block, E., Kotrebai, M., Tyson, J., Uden, P.C., Lisk, D. 2000. "Chemical speciation influences comparative activity of selenium-enriched garlic and yeast in mammary cancer prevention", *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 48, 2062–2070.
- Ip, C., Dong, Y., Ganther. H.E. 2002. "New concepts in selenium chemoprevention", *Cancer Metast Rev* 21, 281 – 289.
- Ip, C., Hayes, C., Budnick, R.M., Ganther, H.E. 1991. "Chemical form of selenium, critical metabolites, and cancer prevention", *Cancer Resources*, 51, 595–600.
- Jin, R, Wan, LL, Mitsuishi, T. Effects of shi-ka-ron and Chinese herbs in mice treated with anti-tumor agent mito mycin C (Chinese). *Chung-Kuo Chung Hsi i Chieh, Ho Tsa Chih*. 1995; 15 (2), 101-3.



- Kadıoğlu, B. Kadıoğlu, S. Turan, Y. 2008. Gevenlerin ( Astragalus sp.) Farklı Kullanım Alanları ve Önemi. Alınteri Zirai Bilimler Dergisi. 14 (1), 17-26.
- Karabey, F. Bedir, E. 2012. Astragalus schottianus Türü Üzerinde Fitokimyasal ve Tirozinaz İnhibisyon Çalışmalar. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir.
- Karasu, K. Öztürk, E. 2014. Tıbbi ve aromatik bitkilerin kanatlılarda antioksidan ve antimikrobiyal etkileri. Türk Tarım ve Dođa Bilimleri Dergisi, Özel Sayı, 2, 1766-1772.
- Kırbağ, S. Zengin, F. 2006. Elazığ Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 16 (2), 77-80.
- Ko, S. G. Cho, S. G. Choi, H. S. 2015. Pharmaceutical composition containing mixed herbal extract as active ingredient for preventing or treating of angioproliferative disorder Patent Numarası : KR 2017045089.
- Kryukov, G.V., Castellano, S., Novoselov, S.V., Lobanov, A.V., Zehtab, O., Guigo, R., Gladyshev, V.N. 2003.” Characterization of mammalian selenoproteomes”, Science 300s., 1439–43.
- Kürkçüoğlu, M. 2010. Bitki Kimyası ve Analiz Yöntemleri. Anadolu Üniversitesi yayını, 207s. , Eskişehir.
- Kwon, Y. K. Bong, Y. S. Lee, K. S. Hwang, G. S. 2014. In integrated analysis for determining the geographical origin of medicinal herbs using ICP-AES/ICP-MS and (1)H NMR analysis. *Food chemistry*, 161 ; 168-175.
- Lee, J.S., Jung, I.D., Jeong, Y.I., Lee, C.M., Shin, Y.K., Lee, S.Y., Suh, D.S., Yoon, M.S., Lee, K.S., Choi, Y.H., 2007a. D-Pinitol inhibits Th1 polarization via the suppression of dendritic cells. *International Immunopharmacology*, 7(6), 791-804.
- Lee, J.S., Lee, C.M., Jeong, Y.I., Jung, I.D., Kim, B.H., Seong, E.Y., Kim, J.I., Choi, I.W., Chung, H.Y., Park, Y.M., 2007. D-Pinitol regulates Th1/Th2 balance via suppressing Th2 immune response in ovalbumin-induced asthma. *Febs Letters*. 2007, 581(1), 57-64.
- Li, A.P. Li, Z.Y. S, H. F. Li, K. Qin, X. M. Du, G. H. 2015. Comparison of Two Different Astragali Radix by a 1H NMR-Based Metabolomic Approach. *Journal of Proteome Research*, 14 (2), 2005-2016.
- Li, H. Xi, X. 2013. Selenium-rich Astragalus health tea and tea bag thereof Patent Numarası : CN 103190494.

- Lin, T.H., Tan, T.W., Tsai, T.H., Chen, C.C., Hsieh, T.F., 2013. D-pinitol inhibits prostate cancer metastasis through inhibition of  $\alpha$  V $\beta$ 3 integrin by modulating FAK, c-Src and NF- $\kappa$ B pathways. *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 9790-9802.
- Lincoln M. M. 2003. Canadian Milkvech *Astragalus canadensis* L. Plant Guide. 1,2
- Liu, L., Hudgins, WR., Shack, S., Yin, MQ., Samid, D., 1995. Cinnamic acid: a natural product with potential use in cancer intervention. *Int J Cancer*, 62:345-350.
- Lu, J., Pei, H., Ip, C., Lisk, D.J., Ganther, H., Thompson, H.J. 1996. "Effect of an aqueous extract of selenium-enriched garlic on in vitro markers and in vivo efficacy in cancer prevention", *Carcinogenesis*, 17, 1903–1907.
- Lu, W. 2015. Feed additive formulation Patent Numarası : CN 106578362
- Ma, X.Q. Shi, Q. Duan, J.A. 2002. Chemical analysis of Radix astragali (Huangqi) in China: a comparison with its adulterants and seasonal variations. *J.Agric Food Chem.* 50, 4861-4866.
- Maassoumi A. A., 1998. *Astragalus* L., In the World, Check-list. Tehran : Jahad-e Sazandgi Research Institute of Forest and Rangeland
- Mamedova, R. P. Isaev, M. I. 2004, Triterpenoids from *Astragalus* Plants, *Chemistry of Natural Compounds*, 40 (4), 303-357.
- Marcel, S.F., Jie, L. K., Pasha, M.K., Alam, M.S., 1997. Synthesis and nuclear magnetic resonance properties of all geometrical isomers of conjugated linoleic acids. *Lipids* 32, 1041-1044.
- McKenzie, M.J., Hunter, D.A., Pathirana, R., Watson, L.M., Joyce, N.I., Matich, A.J., Rowan, D.D., Brummell, D.A. 2009. "Accumulation of an organic anticancer selenium compound in a transgenic Solanaceous species shows wider applicability of the selenocysteine methyltransferase transgene from selenium hyperaccumulators", *Transgenic Resources*, 18, 407–424.
- McKenzie, R.C., Rafferty, T.S., Arthur, J.R., Beckett, G.J. 2001. "Effects of selenium on immunity and ageing. In: Hatfield DL (ed) *Selenium: its molecular biology and role in human health*", Kluwer Academic Publishers, Boston, 258–72.
- Medina, D., Thompson, H., Ganther, H., Ip, C. 2001. "Se-Methylselenocysteine: a new compound for chemoprevention of breast cancer", *Nutrient Cancer*, 40, 12–17.
- Misra, L.N., Siddiqi, S.A., 2004. Dhaincha (*Sesbania bispinosa*) leaves: A good source of antidiabetic (+)-pinitol. *Curr. Sci. India* 87, 1507.

- Misra, S., Boylan, M., Selvam, A., Spallholz, J.E., Björnstedt, M., 2015. “Redox-Active Selenium Compounds—From Toxicity and Cell Death to Cancer Treatment”, *Nutrients*, 7, 3536-3556 (doi:10.3390/nu7053536).
- Moerman, D. 1998. *Native American ethnobotany*. Timber Press, Portland, Oregon.
- Nigam, S.N., McConnel, W.B. 1969. “Seleno amino compounds from *Astragalus bisulcatus* isolation and identification of c-L-glutamyl-Se-methyl-seleno-L-cysteine and Se-methylseleno-L-cysteine”, *Biochimica et Biophysica Acta*, 192, 185–190.
- Numata A., Takahashi C., Fujiki R., Kitano E., Kitajima A., Takemura T. Plant constituents biologically active to insects. VI. Antifeedants for larvae of the yellow butterfly, *Eurema hecabe mandarina*, in *Osmunda japonica*. *Chem. Pharm. Bull.* 1990; 38, 862–2865.
- Pan, J. Wang, Y. Deng, W. Dong, W. 2015. Treatment agent for coronary heart disease and its making method Patent Numarası : CN 106581552.
- Peng, B. 2016. Traditional chinese medicine formula for the treatment to convert hepatitis b dna virus to be negative Patent Numarası : CN 106581528.
- Poongothai, G., Sripathi, S.K., 2013. A review on insulinomimetic pinitol from plants. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(2), 992-1009.
- Rengarajan, T., Nandakumar, N., Balasubramanian, M.P., 2012. D-pinitol attenuates 7, 12 dimethylbenz [a] anthracene induced hazards through modulating protein bound carbohydrates, adenosine triphosphatases and lysosomal enzymes during experimental mammary carcinogenesis. *J. Exp. Ther. Oncol.*, 10, 39–49.
- Rocha, LD., Monteiro, MC., Anderson, JT., 2012. Anticancer properties of hydroxycinnamic acids-A Review. *Cancer and clinical oncology* 1: 1927–4866.17.
- Sharma, N., Verma, M.K., Gupta, D.K., Satti, N.K., Khajuria, R.K., 2014. Isolation and quantification of pinitol in *Argyrolobium roseum* plant, by <sup>1</sup>H nmr. *Journal of Saudi Chemical Society*. DOI:10.1016/j.jscs.2014.07.002.
- Sethi, G, Ahn, K.S., Sung, B., Aggarwal, B.B., 2008. Pinitol targets nuclear factor-kappaB activation pathway leading to inhibition of gene products associated with proliferation, apoptosis, invasion, and angiogenesis. *Mol. Cancer Ther.*, 7, 1604–1614.
- Sinclair, S. 1998. *Chine Herbs: A Clinical Review of Astragalus, Ligusticum, and Schizandrae*. *Alternative Medicine Review*. 3 (5), 338-344.

- Soriano-Garcia, M. 2004. "Organoselenium compounds as potential therapeutic and chemopreventive agents: a review", *Current Medicinal Chemistry*, 11, 1657–69.
- Şimşek, A. Sarı, F. Artık, N. 2004. Selenyumun İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5 (2), 245-251.
- Tanaka, T., Tanaka, T., Tanaka, M., 2011. Potential Cancer Chemopreventive Activity of Protocatechuic Acid. *J Exp Clin Med.*, 3: 27–33.
- Teyeb, H. Zanina, N. Neffati, M. Douki, W. Najjar, M.F. 2012. Cytotoxic and antibacterial activities of leaf extracts of *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae) growing wild in Tunisia. *Turk J Biol*, 36, 53-58.
- Tian, H. Deng, Y. R. Zhou, K. Cong, H. Y. 2016. Chemical constituents of *Astragalus membranaceus* var. *Mongholicus*. *Zhongguo Shiyuan Fangjixue Zazhi*, 22 (7), 70-73.
- Tin, M.Y. Cho, C. Chan, K. James, A.E. Ko, J.K.S. 2007. *Astragalus* saponins induce growth inhibition and apoptosis in human colon cancer cells and tumor xenograft. *The Author* 2016, 28 (6), 1347-1355.
- Trelease, S.F., DiSomma, A.A., Jacobs, A.L. 1960. "Seleno-amino acid found in *Astragalus bisulcatus*", *Science*, 132, 618.
- Tsvileva, O. Perfileva, A. 2017. Selenium Compounds Biotransformed by Mushrooms: Not Only Dietary Sources, But Also Toxicity Mediators. *Current Nutrition & Food Science* 13 (2), 82-96.
- Tulukcu, E. Sağdıç, O. 2011. Konya'da aktarlarda satılan tıbbi bitkiler ve kullanılan kısımlar, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 27 (4), 304-308.
- Vanisree, M., Lee, C.Y., Lo, S.F., Nalawade, S.M., Lin, C.Y. and Tsay, H.S. 2004. Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue culture. *Botanical Bulletin Academia Sinica*, 45, 1–22.
- Verpoorte, R. Choi, Y.H, Mustafa, R.N. Kim, H.K. 2008. Metabolomics: back to basics. *Phytochem Rev*, 7, 525-537.
- Verpoorte, R. Choi, Y.H. Kim, H.K. 2007. NMR-based metabolomics at work in phytochemistry. *Phytochem Rev* 6, 3-14.
- Wang, G. Ma, J. Ling. Z, 2012. Production method of natural se-rich *Astragalus sinicus* honey Patent Numarası : CN 102524626.

- Westermarck, T., Latvus, A., Atroshi, F., 2014. "The Pharmacology and Biochemistry of Selenium in Cancer", *Pharmacology and Nutritional Intervention in the Treatment of Disease*, 4, 295-311 (<http://dx.doi.org/10.5772/58425>).
- Whanger, P.D. 2002. "Selenocompound in plants and animals and their biological significance", *Journal of American College Nutrient*, 21, 223–232.
- Whanger, P.D. 2004. "Selenium and its relationship to cancer: an update", *British Journal of Nutrient* 91, 11–28.
- Wishart D.S. 2008. Quantitative metabolomics using NMR. *Trends in Analytical Chemistry*, 27 (3), 228-237.
- Xiang, Y. X. Xiao, L. Y. Zhang, J. Huang, Z. B. Hu, M. H. Ma, F. L. Li, H. F. 2016. Recent progress in protective effects and related mechanism of *Astragalus polysaccharide* against neurological diseases. *Zhongguo Yiyuan Yaoxue Zazhi* , 36 (8), 687-691.
- Xu, J. Fang, X. Zhang, X. 2002. Cultivating method for selenium-rich high-yield *Astragalus sinicus* and preparation method for selenium-rich tea from its stem leaves and flowers Patent Numarası : CN 1505921.
- Yeşilada, E. Bedir, E. Çalış, İ. Takaishi, Y. Ohmoto, Y. 2004. Effects of triterpene saponins from *Astragalus* Species on in vitro cytokine release, *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 71-77.
- Yoket, Ü. 2003. Eski Çağda Tıp. Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi, 12 (2), 76-78.
- Zhan, T., Lou, H., 2007. Synthesis of azole nucleoside analogues of D-pinitol as potential antitumor agents. *Carbohydr. Res.*, 342, 865–869.
- Zhao, K.S., Manoinin, C., Doria, G. 1990. Enhancement of the immune response in mice by *Astragalus membranaceus* extracts. *Immunopharmacology*, 20(3), 225-233.
- URL 1 : <http://biyologlar.com/ilac-hammaddesinde-kullanilan-bitkiler> (15.04.2017)
- URL 2 : <http://www.pharmetic.org/bilgi-bankasi/selenyum-faydalari.pdf> (12.04.2017)
- URL 3 : <http://www.pharmetic.org/2016/HayriyeBaskan/223-Astragalus.html> (12.04.2017)
- URL 4 : <https://tr.wikipedia.org/wiki/Baklagiller> (12.04.2017)
- URL 5 : <https://tr.wikipedia.org/wiki/Geven> (22.04.2017)
- URL 6 : <http://www.hastalikdanis.com/kitre-targant-astragalus-gummifer/> (22.04.2017)
- URL 7 : <http://yabanicicekler.com/flower/astragalus-anthylloides-291> (12.04.2017)

URL 8 : [http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax\\_id=2739](http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2739) (12.04.2017)

URL 9:

<http://www.turkiyebitkileri.com/index.php?dil=tr&id=2&familya=36&cins=194&tur=1490#.WO6OdYiLTIU> (Erişim tarihi: 12.04.2017)

URL 10 : [http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax\\_id=2798](http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2798) (12.04.2017)

URL 11 :

<http://www.turkiyebitkileri.com/index.php?dil=tr&id=2&familya=36&cins=194&tur=3879#.WQzv7eXyjIU> (12.04.2017)

URL 12 : [http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax\\_id=2804](http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2804) (22.04.2017)

URL 13 : <http://www.tipdisease.com/2015/04/astragalus-astragalus-membranaceus.html>  
(22.04.2017)

URL 14 : [http://www.biusante.parisdescartes.fr/sbf/diaporamas/tunisie2008/4%20-%202008-03-31/slides/20%20-%20Astragalus%20cruciatus%20L.%20\(Fabaceae\)%20\(fruit\).html](http://www.biusante.parisdescartes.fr/sbf/diaporamas/tunisie2008/4%20-%202008-03-31/slides/20%20-%20Astragalus%20cruciatus%20L.%20(Fabaceae)%20(fruit).html) (22.05.2017)

URL 15 :

[https://en.wikipedia.org/wiki/Astragalus\\_cicer#/media/File:Astragalus\\_cicer1.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Astragalus_cicer#/media/File:Astragalus_cicer1.jpg)  
(06.04.2017)

URL 16 :

[https://en.wikipedia.org/wiki/Astragalus\\_cicer#/media/File:Astragalus\\_cicer1.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Astragalus_cicer#/media/File:Astragalus_cicer1.jpg)  
(06.04.2017)

URL 17: <https://www.inaturalist.org/observations/1505539> (22.05.2017)

URL 18 : <http://gidaarge.akdeniz.edu.tr/cihazlar.i31.induktif-olarak-eslestirilmis-plazma-kutle-spektrometresi-ic> (06.04.2017)

URL 19 : <http://adana-flora.blogspot.com.tr/2006/02/adanann-trkiye-floras-karelaj.html>  
(22.05.2017)

URL 20 : <http://www.nmrdb.org/13c/index.shtml?v=v2.79.1> (06.04.2017)

URL 21 : [www.chemicalbook.com/SpectrumEN\\_463-40-1\\_13CNMR.htm](http://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_463-40-1_13CNMR.htm) (06.04.2017)

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Emiç UĞUR  
**Doğum Yeri** : Merkez/ ÇANKIRI  
**Doğum Tarihi** : 27/11/1992  
**Medeni Hali** : Evli  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**Adres** : Buğday Pazarı Mahallesi Hardal Sokak Aşıklar 5 Doğan  
Apartmanı No:8 Merkez/ÇANKIRI  
**Tel** : 05308624718  
**E-posta** : emicsry@gmail.com

### **Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)**

**Lise** : Gazi Anadolu Lisesi 2006-2010  
**Lisans** : Necmettin Erbakan Üniversitesi 2010-2014  
**Yüksek Lisans** : ÇKÜ Organik Kimya Anabilim Dalı 2014-2017

### **Çalıştığı Kurumlar ve Yıl**

Eğitim Danışmanı – Meram Belediyesi KONYA (2013 / 06.2013 )  
Fen ve Teknoloji Öğretmeni - Fatih Sultan Mehmet Ortaokulu KONYA (09.2013 / 05.2014)  
Fen ve Teknoloji Öğretmeni – Galaksi Etüt Eğitim Merkezi ÇANKIRI (08.2014 / 05.2015)  
Fen ve Teknoloji Öğretmeni – İsmet İnönü Ortaokulu ÇANKIRI ( 10.2014 /06.2015)  
Fen ve Teknoloji Öğretmeni – Akılküpü Etüt Eğitim Merkezi ÇANKIRI ( 06.2015 / 02.2016)  
Sınıf Öğretmeni – M.K.E. Tophane İlkokulu ÇANKIRI (03.2016/ 06.2016)  
Fen ve Teknoloji Öğretmeni – Mehmetçik Ortaokulu ÇANKIRI (09.2016 / 06.2017)

## Sertifikalar

**Nucleer Magnetic Resonance** (SEM – Haziran 2015)

**HPLC-TOFF** (SEM – Haziran 2015)

**GC-MS** (SEM – Haziran 2015)

**ICP-MS** (SEM – Haziran 2015)

**xCELLİgence** ( Elips– Haziran 2015)

## Uluslararası Kongreler

- 1- Ayse Sahin Yaglioglu, Murat Temirtürk, Erdem Yılmaz, Duygu Güneş, **Emiç Saray**, Melda Dölarslan, İbrahim Demirtaş “Phytochemical Analysis of Endemic *Astragalus anthylloides* Lam. and *Astragalus lycius* Boiss. and Their Anticancer Activities Against HeLa and C6 Cell Lines” IVEK 2<sup>RD</sup> International Convention Of Pharmaceuticals And Pharmacies, 27-29 November 2015, Haliç Congress Center, Istanbul/ Turkey.
- 2- Murat Temirtürk, Ayse Sahin Yaglioglu, Duygu Güneş, Erdem Yılmaz, **Emiç Saray**, Melda Dölarslan, İbrahim Demirtaş “The Phytochemical Analysis and Anticancer Activities of Endemic *Astragalus dipsaceus* subsp. *dipsaceus* and *Astragalus karamasicus* subsp. *karamasicus* (Boiss. & Bal.)” IVEK 2<sup>RD</sup> International Convention Of Pharmaceuticals And Pharmacies, 27-29 November 2015, Haliç Congress Center, Istanbul/ Turkey.
- 3- Duygu Güneş, Ayse Sahin Yaglioglu, Murat Temirtürk, **Emiç Saray**, Erdem Yılmaz, Melda Dölarslan, İbrahim Demirtaş “The Antiproliferative Activity and Phytochemical Analysis of Endemic *Astragalus leucothrix* Freyn & Bornm. from Çankırı” IVEK 2<sup>RD</sup> International Convention Of Pharmaceuticals And Pharmacies, 27-29 November 2015, Haliç Congress Center, Istanbul/ Turkey.
- 4- **Emiç Saray**, Ayse Sahin Yaglioglu, Murat Temirtürk, Erdem Yılmaz, Duygu Güneş, Melda Dölarslan, İbrahim Demirtaş “Lipophilic extracts from Endemic *Astragalus sigmoideus* and *Astragalus xylobasis* var. *angustus* and their anticancer activities against HeLa and C6 cancer cells” IVEK 2<sup>RD</sup> International Convention Of Pharmaceuticals And Pharmacies, 27-29 November 2015, Haliç Congress Center, Istanbul/ Turkey.
- 5- Ayse Sahin Yaglioglu, Muhammet Şamil Yağlıoğlu, Murat Temirtürk, Duygu Güneş, **Emiç Saray**, İbrahim Demirtaş “The diversity of chemical composition of the lipophilic extracts from Endemic *Abies cilicica* subsp. *isaurica* and *Abies nordmanniana* subsp. *equi-trojani*” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 6- Ayse Sahin Yaglioglu, Muhammet Şamil Yağlıoğlu, Murat Temirtürk, Duygu Güneş, **Emiç Saray**, İbrahim Demirtaş “Phytochemical Studies of the Hexane Extracts of *Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* and *Abies nordmanniana* subsp. *nordmanniana* needles” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.



- 7- Ayse Sahin Yaglioglu, İlknur Şahın, Murat Temirtürk, Duygu Güneş, **Emiç Saray** “The Phytochemical Analysis Endemic *Dianthus aeneus* Hausskn. & Bornm. Extracts and Their Anticancer Activities” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 8- Ayse Sahin Yaglioglu, İlknur Şahın, Murat Temirtürk, Duygu Güneş, **Emiç Saray** “Investigation of the secondary metabolites and anticancer activity of Endemic *Dianthus balansae* Boiss. Extracts Activities” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 9- Ayse Sahin Yaglioglu, İlknur Şahın, Murat Temirtürk, Duygu Güneş, **Emiç Saray** “Phytochemical Analysis of Endemic *Dianthus zederbaueri* Vierh. Extracts and Their Anticancer Activities against HeLa and C6 cells” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 10- Ayse Sahin Yaglioglu, **Emiç Saray**, Murat Temirtürk, Duygu Güneş, Ibrahim Demirtas “The HPLC/TOF-MS Analysis of Endemic *Astragalus sigmoideus* Bunge extracts” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 11- Ayse Sahin Yaglioglu, **Emiç Saray**, Murat Temirtürk, Duygu Güneş, Ibrahim Demirtas “Identification and characterisation of phenolic compounds extracted from Endemic *Astragalus xylobasis* Freyn et Bornm. var. *angustus* (Freyn et Sint.) Freyn et Bornm. ” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 12- Ayse Sahin Yaglioglu, Duygu Güneş, Murat Temirtürk, **Emiç Saray**, Ibrahim Demirtas “The Bioassay-Guided Isolation Of Secondary Metabolites of Endemic *Astragalus leucothrix* Freyn & Bornm.” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 13- Ayse Sahin Yaglioglu, Serhat Ursavaş, Emiç Saray, Muhammet Oren “The Secondary Metabolites of *Alleniella complanata* (Hedw.) S. Olsson, Enroth & D. Quandt extracts” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 14- Ayse Sahin Yaglioglu, Serhat Ursavas, Muhammet Oren, Elifay Sert, **Emiç Saray** “The Biological Activities of *Abietinella abietina* (Hedw.) M. Fleisch extracts” IVEK 3<sup>RD</sup> International Convention Of Pharmaceuticals And Pharmacies, 26-29 April 2017, WOW Istanbul Hotel & Convention Center, Istanbul/ Turkey.
- 15- Ayse Sahin Yaglioglu, Serhat Ursavas, Muhammet Oren, Elifay Sert, **Emiç Saray** “Anticancer Activities of *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook. & Taylor Extracts Against Rat Brain Tumour” IVEK 3<sup>RD</sup> International Convention Of Pharmaceuticals And Pharmacies, 26-29 April 2017, WOW Istanbul Hotel & Convention Center, Istanbul/ Turkey.