

**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI ENDEMİK *ASTRAGALUS* TÜRLERİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Murat TEMİRTÜRK

KİMYA ANABİLİM DALI

**ÇANKIRI
2017**

Her Hakkı Saklıdır.

TEZ ONAYI

Murat TEMİRTÜRK tarafından hazırlanan “**Bazı Endemik *Astragalus* Türlerinin Fitokimyasal Analizi Ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi**” 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 : Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ

Üye : Doç. Dr. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU

Üye : Yrd. Doç. Dr. İbrahim Halil GEÇİBESLER

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Doç. Dr. Tamer KEÇELİ

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI ENDEMİK *ASTRAGALUS* TÜRLERİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Murat TEMİRTÜRK

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU

Bu çalışmada Çankırı ili ve çevresinde yayılış gösteren endemik bazı *Astragalus* türlerinin fitokimyasal analizleri (fenolik bileşikleri ve sabit yağ bileşenleri) ve biyolojik aktiviteleri (antiproliferatif ve sitotoksik etkileri) araştırılmıştır. Bu amaçla öncelikle doğal ortamdan toplanan ve tür teşhisi yapılan bitki türleri kurutuldu. Kurutulan bitki örnekler, polaritelerine göre sırasıyla hekzan, kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol çözücülerden geçirilerek ekstraler elde edildi. Hekzan ekstralerinin GC-MS analizleri, diğer ekstrelerin HPLC-TOF/MS analizleri gerçekleştirildi. Elde edilen ekstrelerin C6 ve HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yüksek antiproliferatif aktivite gösteren ekstrelerin sitotoksik aktiviteleri incelendi.

2017, 64 Sayfa

ANAHTAR KELİMELELER: *Astragalus dipsaceus*, *A. karamasicus*, *A. sigmoideus*. Fenolik bileşik, Sabit yağ, Antiproliferatif aktivite, Sitotoksik aktivite, HeLa, C6

ABSTRACT

Master of Science Thesis

INVESTIGATION OF PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SOME ENDEMIC *ASTRAGALUS* SPECIES

Murat TEMİRTÜRK

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

Supervisors: Doç. Dr. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU

In this study, phytochemical analyzes (phenolic compounds and fatty acids) and biological activities (antiproliferative and cytotoxic effects) of endemic some *Astragalus* species that have spread Çankırı province and its surrounding area are investigated. For this purpose, firstly plant species collected from natural environment and subjected to species diagnosis were dried. Dried plant samples were passed through the solvents in hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol and methanol, respectively, according to their polarity, to give extracts. GC-MS analysis of the hexane extracts and HPLC-TOF / MS analyzes of other extracts were performed. Antiproliferative activities of obtained extracts against C6 and HeLa cells were examined. Cytotoxic activities of extracts with high antiproliferative activity were investigated.

2017, 64 Pages

Key Words: *Astragalus dipsaceus*, *A. karamasicus*, *A. sigmoideus*, Phenolic compounds, Fatty acids, Antiproliferative activity, Cytotoxic activity, HeLa, C6.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışmanın her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, yardımını esirgemeyen, destekleyen ve inanılmaz bir anlayış gösteren değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU' na, bölümümüzün imkânlarını 7/24 kullanılabilirliğini sağlayan değerli hocam sayın Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ'a, bitkilerin toplanması yardımlarından dolayı değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN'a, eleştirilerini, katkılarını ve desteklerini esirgemeyen Uzman Ali Rıza Tüfekçi, Uzman Fatih Gül ve Arş. Gör. Serkan KOLDAŞ hocalarıma, çalışma arkadaşlarım Erdem YILMAZ, Duygu GÜNEŞ ve Emiç SARAY'a, hiçbir zaman haklarını ödeyemeyeceğim, her zaman beni destekleyen aileme' e teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez 114Z198 nolu TÜBİTAK projesi ve FF090316L01 nolu Çankırı Karatekin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Murat TEMİRTÜRK
Çankırı, Mart 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 <i>Fabaceae (Leguminosae)</i> Familyasının Genel Özellikleri.....	3
2.2 <i>Astragalus L.</i> Cinsinin Genel Özellikleri	3
2.3 Tıbbi kullanımı	4
2.4 <i>Astragalus dipsaceus</i> Bunge. Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı.....	5
2.4.1 Sistematik hiyerarşi (URL 2)	6
2.4.2 Genel takson özellikleri (URL 2)	6
2.5 <i>Astragalus karamasicus</i> Boiss. & Bal. Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı	7
2.5.1 Sistematik hiyerarşi (URL 5)	9
2.5.2 Genel takson özellikleri (URL 5)	9
2.6 <i>Astragalus sigmoideus</i> Bunge Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı	11
2.6.1 Sistematik hiyerarşi (URL 6)	11
2.6.2 Genel takson özellikleri (URL 6)	11
2.7 Literatür Özeti.....	13
2.7.1 <i>Astragalus</i> türlerinin fenolik bileşenleri ve biyolojik aktivitesi.....	15
2.7.2 <i>Astragalus membranaceus</i> bitkisinin potansiyel klinik faydaları.....	17
2.7.2.1 Antikanser.....	18
2.7.2.2 Kardiyovasküler	18
2.7.2.3 Antioksidan.....	19
2.7.2.4 Antiviral	19
2.7.2.5 Böbrek ve elektrolit dengesi fonksiyonu	19
2.7.2.6 Gastrointestinal sistem	20
2.7.2.7 Endokrin sistem.....	20
2.7.2.8 Hematolojik	20
2.7.2.9 Bağışıklık sistemi.....	21
2.7.3 Toksik etkisi.....	21
3. MATERYAL METOT	22
3.1 Bitkilerin Toplanması, Kurutulması ve Tür Teşhisi.....	22
3.2 Kullanılan Kimyasallar	22
3.3 Kullanılan Cihazlar.....	23
3.4 Bitkinin Özütlenmesi (Ekstraksiyon) İşlemi.....	24
3.5 GC-MS Analizi programı	24
3.6. HPLC-TOF-MS Analiz.....	24
3.7. Antiproliferatif Aktivite Testlerinin Yapılması	29
3.7.1 Kanser hücre hatları ve hücre kültürü	29
3.7.2 <i>In Vitro</i> antiproliferatif aktivite testi	29
3.7.3 BrdU Cell ELİZA Hücre Proliferasyon Deneyi	30
3.7.4 IC ₅₀ konsantrasyonunun belirlenmesi.....	30
3.8 Sitotoksik Aktivite Testlerinin Yapılışı	30

4. BULGULAR	32
4.1 Elde edilen ekstreler ve ekstre verimleri (%)	32
4.2 Hekzan Ekstrelerinin GC-MS Analiz Sonuçları	34
4.3 Ekstrelerin HPLC-TOF-MS Analiz Sonuçları	38
4.4 Antiproliferatif Aktivite Sonuçları	40
4.4.1 C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları	41
4.4.2 HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları	43
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	48
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	61



SİMGELER DİZİNİ

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

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	<i>Astragalus dipsaceus</i> Bunge.....	5
Şekil 2.2.	<i>Astragalus dipsaceus</i> Bunge bitkisinin yayılış gösterdiği iller.....	7
Şekil 2.3.	<i>Astragalus dipsaceus</i> Bunge bitkisinin yayılış gösterdiği kareler.....	7
Şekil 2.4.	<i>Astragalus karamasicus</i> Boiss. & Bal.....	8
Şekil 2.5.	<i>Astragalus karamasicus</i> Boiss. & Bal.....	9
Şekil 2.6.	<i>Astragalus karamasicus</i> bitkisinin yayılış gösterdiği iller.....	10
Şekil 2.7.	<i>Astragalus karamasicus</i> bitkisinin yayılış gösterdiği kareler...	10
Şekil 2.8.	<i>Astragalus sigmoideus</i> bitkisinin yayılış gösterdiği iller.....	12
Şekil 2.9.	<i>Astragalus sigmoideus</i> Bunge bitkisinin yayılış gösterdiği kareler.....	12
Şekil 2.10.	<i>A. membranaceus</i>	14
Şekil 2.11.	<i>Astragalus membranaceus</i> bitkisinde belirlenen bazı fenolik bileşikler.....	16
Şekil 2.12.	<i>Astragalus trigonus</i> dan flavonoidler.....	17
Şekil 2.13.	<i>Astragalus trigonus</i> 'dan izole edilen diğer bileşikler.....	17
Şekil 2.14.	3-nitropropionic asit.....	18
Şekil 3.1.	Çalışma şeması.....	31
Şekil 4.1.	<i>Astragalus dipsaceus</i> Bunge (AsD), <i>Astragalus karamasicus</i> Boiss. & Bal. (AsK) ve <i>Astragalus sigmoideus</i> Bunge (AsS) elde edilen hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonuçları.....	37
Şekil 4.2.	<i>A. dipsaceus</i> Bunge, <i>A. karamasicus</i> Boiss. & Bal. ve <i>A. sigmoideus</i> Bunge bitkilerinin kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol ekstralarının ana fenolik bileşenleri.....	40
Şekil 4.3.	<i>A. dipsaceus</i> Bunge bitki ekstralarının C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.).....	41
Şekil 4.4.	<i>A. karamasicus</i> Boiss. & Bal., bitki ekstralarının C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.).....	42
Şekil 4.5.	<i>A. sigmoideus</i> Bunge bitki ekstralarının C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.).....	43
Şekil 4.6.	<i>A. dipsaceus</i> Bunge bitki ekstralarının HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.).....	44
Şekil 4.7.	<i>A. karamasicus</i> Boiss. & Bal. bitki ekstralarının HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.).....	45
Şekil 4.8.	<i>A. sigmoideus</i> Bunge bitki ekstralarının HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.).....	46

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1.	<i>A. corniculatus</i> ve <i>A. ponticus</i> un LC/MS/MS ile fenolik bileşenlerinin belirlenmesi.....	15
Tablo 3.1.	Analizi Gerçekleştirilen Fenolik Bileşenler.....	25
Tablo 4.1.	Bitkilerin herbaryum numaraları.....	32
Tablo 4.2.	<i>Astragalus. dipsaceus</i> Bunge (AsD), <i>Astragalus karamasicus</i> Boiss. & Bal. (AsK) ve <i>Astragalus sigmoideus</i> Bunge (AsS) bitkilerinden elde edilen ekstre miktarları ve verimleri (%).....	33
Tablo 4.3.	<i>Astragalus dipsaceus</i> Bunge (AsD), <i>Astragalus karamasicus</i> Boiss. & Bal. (AsK) ve <i>Astragalus sigmoideus</i> Bunge (AsS) elde edilen hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonuçları.....	35
Tablo 4.4.	<i>Astragalus. dipsaceus</i> Bunge (AsD), <i>Astragalus karamasicus</i> Boiss. & Bal. (AsK) ve <i>Astragalus sigmoideus</i> Bunge (AsS) bitkilerinin kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları (10^3 X mg fenolik/100g kuru bitki).....	39
Tablo 4.5.	Endemik üç türünün HeLa ve C6 kanser hücrelerine karşı olan IC_{50} ve IC_{75} değerleri.....	47
Tablo 5.1.	AsD, AsK ve AsS ekstralarının C6 hücrelerine karşı sitotoksik aktivite sonuçları (100 μ g/mL konsantrasyonda).....	52

1. GİRİŞ

Bitkiler içerisinde uçucu yağlar, sabit yağlar, fenolik bileşikler, flavonoidler, steroidler ve diğer etken maddeleri barındırırlar. Bu sayede hastalıkları tedavi etme ve sağlıklı yaşam için milattan önceki yıllardan teknolojinin ve sentetik ilaç üretiminin arttığı 21. yüzyıl bilişim çağına dek kullanılmaya devam etmektedir.

21. yüzyılın ilk çeyreğinde kanser birçok toplumda kalp ve damar hastalıklarından sonra en fazla ölüme yol açan hastalık grubudur. Hastalıklarında giderek azalma eğilimi gösteren ölüm oranlarına karşılık kanser ölümleri hemen tüm toplumlarda artmaya devam etmektedir (Çelenligil-Nazliel ve ark., 2003). Kanser ile mücadele için bilim birçok tedavi yöntemini birbirleriyle bağlantılı olarak kullanmaktadır. Alternatif tıp kanser ile savaşta kullanılması gereken bir tedavi yöntemidir. Batı ülkelerinde, son yıllarda kanser hastaları arasında tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımındaki artış (Cui et al., 2001) gözlenmekte olup, bitkilerin kanser ve kanser benzeri hastalıkların tedavisine yönelik çalışmalar üzerine en eski kayıt yaklaşık milattan önce 1550 yılına ait Ebers papirüs'tür. Bu eski Mısırlı grup tarafından yapılan çalışmada, kırktan fazla bitkinin tümör, siğil ve kötü huylu bazı hastalıkların tedavisi için elverişli olduğunu belirtmektedir.

Bitkilerin bünyesinde bulunan birçok etken madde tespit edilmiştir. Fakat dünyada 390.900 bitki çeşiti bulunmaktadır. Günümüzde ve gelecekte bitkilerden birçok yeni etken madde tespit edilecektir. Avrupa'nın tamamında 10.180.000 km²'lik alanda 12.000 bitki türü bulunmaktadır. Bunların 2750 tanesi endemiktir. Türkiye'de 814.578 km²'lik alanda yaklaşık 12.000 bitki türü yetişir, Bu bitki türlerinin 3.778'i Türkiye'ye endemiktir (Ekim ve ark., 2000). Bu özelliği ile Türkiye, tüm Avrupa'dakinden daha fazla endemik bitki türüne sahiptir. Bunun sebepleri arasında Türkiye'nin Asya ve Avrupa arasındaki konumu, dağlık yapısı, üç iklimi birden barındırması ve sulak bir yerde bulunması sayılabilir.

Türkiye'de yaklaşık 2500 tane *Astragalus* türü vardır. Çoğu bitkide olduğu gibi, birçok *Astragalus* L. türünün de gen merkezi durumunda olan Anadolu'da, endemizm oranı yüksektir. *Astragalus* L. cinsinin ülkemizde 62 seksiyona ait 456 türü yayılış gösterir. Bunlardan yaklaşık 210'u endemik olup, endemizm oranı % 47'dir (Dural ve ark., 2007).

Birçok *Astragalus* türünde yapılan araştırmalar neticesinde; dalak ve kalp hastalıklarının tedavisinde, geleneksel olarak yorgunluk tedavisinde, iştah azalmasında, genel halsizlik (özellikle yaşlılarda), viral enfeksiyonlara duyarlılık, sigara bırakmada, yaraların tedavisinde, ateş, terleme, rahim sarkması, rahim kanaması, ödem (nefrit), uyuşma, kas ağrısı, diyabet rahim, yumurtalık ve kolon kanseri tedavilerinde kullanıldığı sonucuna varılmıştır (Foster, 1998).

2. GENEL BİLGİLER

2.1 *Fabaceae (Leguminosae)* Familyasının Genel Özellikleri

Fabaceae (Leguminosae) familyası, çiçekli bitkilerin en büyük familyalarından biri olup 350 cins ve yaklaşık 10.000'den fazla tür içermektedir. Ülkemizde 61 cins ve 900'den fazla türü bulunur.

Otlar, çalılar ve ağaçların bulunduğu bir familyadır. Yapraklar almaşık, genellikle stipullu, bipinnat, basit pinnat, digitat (elsi), üç yapraklı veya basit yapraklıdır. Çiçekler aktinomorfik veya zigomorfik, hipogin veya bazen perigin, genellikle hermafrodit. Çiçek durumu başak, şemsiye veya tekdir. Sepaller 4-5 çift olan sepallerin dışındaki sepal daima öndedir. Petaller 1-5, tomurcukta çenetsi veya imbrikat, serbest veya nadiren bir kısmı bitişiktir. Stamenler 4- çok sayıda, genellikle 10 tane olup hepsi tüp şeklinde bitişik (monodelfus) veya üstteki stamen serbest olup diadelphus, ya da bütün stamenler serbesttir. Ovaryum üst durumlu ve tek karpelli olup plasantalanma marjinaldir (karpelin kenarına bağlanma). Meyve tipi bakla olup, ventral olarak karpelin birleşme yeri boyunca açılır, dorsal olarak da sırt kısmından açılır. Bazı taksonlarda meyve açılmaz. Bazı taksonlar da meyve birer tohumlu kısımlar halinde (lomentum) enine kırılır. Tohum 1- çok sayıdadır.

2.2 *Astragalus L.* Cinsinin Genel Özellikleri

Yıllık, çok yıllık, otsular veya dikensiz ya da dikenli çalılar. Yapraklar paripinnat veya imparipinnat, nadiren 1-3- yapraklıdır; yaprakçıklar basit veya ikiye çatallanmış-tüylüdür; stipullar (kulakçıklar) bariz bir şekilde yeşil veya glumaya benzer. Çiçek durumu sapsız veya başak ya da rasem saplı, ya da çiçekler sapsız, üstteki yaprak koltuğunda sık bileşik çiçek durumu oluşturur, nadiren çiçekler tek. Kaliks tüpsüden çan şekline doğru, ya da basit- ikiye çatallı yoğun tüylüdür, eşit veya eşit olmayan 5 dişlidir. Korolla 3-50mm, genellikle beyaz, pembe, mor veya sarı renktedir, kanatlar ve körelmiş

karına genellikle bayrakçıktan kısadır. Stamenler iki küme halinde veya biri serbest diğerleri birleşiktir. Meyve çeşitli şekillerde, boyuna perdeli bakladır.

Astragalus L., kuzey yarıkürede yayılış gösterir ve 2500 türü bulunur. Ülkemizde 391 türü bulunur. Ancak daha sonra bulunan yeni tür ve kayıtlarla birlikte bu sayı 455 ulaşmıştır. Bu türlerden yaklaşık 222 türü endemik olup yalnız ülkemizde doğal olarak yetişmektedir. Genellikle yüksek dağ katlarında ve steplerde yayılış gösterirler. Çalimsı formları küçük yastıkçıklar şeklindedir.

2.3 Tıbbi kullanımı

Astragalus bitkisi bağışıklık sistemini güçlendirip gribe karşı antikor üretimini ve bunların hastalıklarla savaş kabiliyetini artırmakla etkilidir. Sadece soğuk algınlığı ve gribe karşı dayanıklılığı artırmakla kalmayıp aynı zamanda hastalığın süresini de kısaltır. Ayrıca enfeksiyon, çeşitli alerjiler, astım, kronik yorgunluk, kemoterapi ile ilişkili olarak iştah kaybı ve yorgunluk, anemi, kalp rahatsızlıkları, böbrek rahatsızlıkları, mide ülserleri, hepatit, genel hazım sorunları, yaralar ve ebru sanatında kullanılır. Birçok geven türü halk arasında karaciğer koruyucu, antioksidan, immünostimülan ve antiviral özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır. Bu farmakolojik aktivitenin üç grup kimyasal maddeden kaynaklandığı saptanmıştır. Bunlar: poliholozitler, saponinler ve fenoliklerdir (Rios ve Waterman, 1997).

Vücutta bir dizi bağışıklık işlevini destekleyen Aatragli Polysaccharoses bileşeni içeren geven bitkisi hakkında yapılan araştırmalarda;

- Soğuk algınlığı vakalarının şiddetini ve süresini azaltabildiği,
- Kalbin kan pompalama hacminde iyileştirmeler sağlayabildiği,
- Karaciğerde hücre hasarına karşı koruma sağlayabildiği,
- Kalp ve beyin dokularına oksijen taşınmasına yardımcı olduğu ve vücudun şevk ve direncini geliştirdiği,
- Fareler üzerindeki araştırmalarda geven özü kullanılan farelerde idrar torbası kanserinin daha az görüldüğü
- Akciğer kanseri hastalarında tümör ilerleyişini durdurduğuna işaret edilmektedir (Ünal ve ark., 2014).

2.4 *Astragalus dipsaceus* Bunge. Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı

Çok yıllık uzun odunsu gövdeli bitkilerdir, yapraklar 10-30 cm; yaprakçıklar 15-25mm, dar dikdörtgenimsi-mızraksı, sivri uçlu, üsttekiler çıplak, alttakiler seyrek olarak basit-uzun-yumuşak kıllı, 20-25 çift; kulakçıklar 10-25, mızraksı, uzun-yumuşak kıllı. Çiçek kurulu hemen hemen sapsız ya da çiçek durumu sapları yaklaşık 5mm, çapı yaklaşık 5cm, hemen hemen küremsi, yaklaşık 40 sapsız çiçeklidir. Brakteler 10-13mm, şeritsi, seyrek olarak uzun-yumuşak kıllıdır. Brakteol yok. Kaliks 14-16mm, tüpsü-çanımsı, uzun-yumuşak tüylü; dişler 5-7mm, şeritsidir. Korolla rengi bilinmiyor olup; bayrakçık 20-22mm dir. Bakla meyve genç iken kalpsi, yassılaştırmış, yatık-yumuşak kıllı, tepesi küçük sert uçludur. Çiçeklenme haziran ayındadır, yüksek bölgelerde bulunur. 600-1320m'ler arasında yayılış gösterir. Endemik, İran-Turan elementidir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. *Astragalus dipsaceus* Bunge (URL 1)

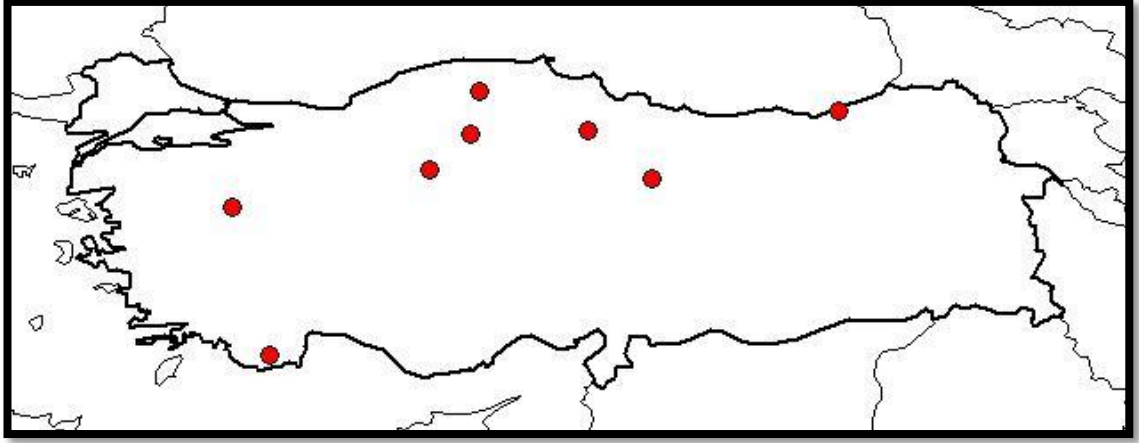
2.4.1 Sistematik hiyerarşi (URL 2)

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

2.4.2 Genel takson özellikleri (URL 2)

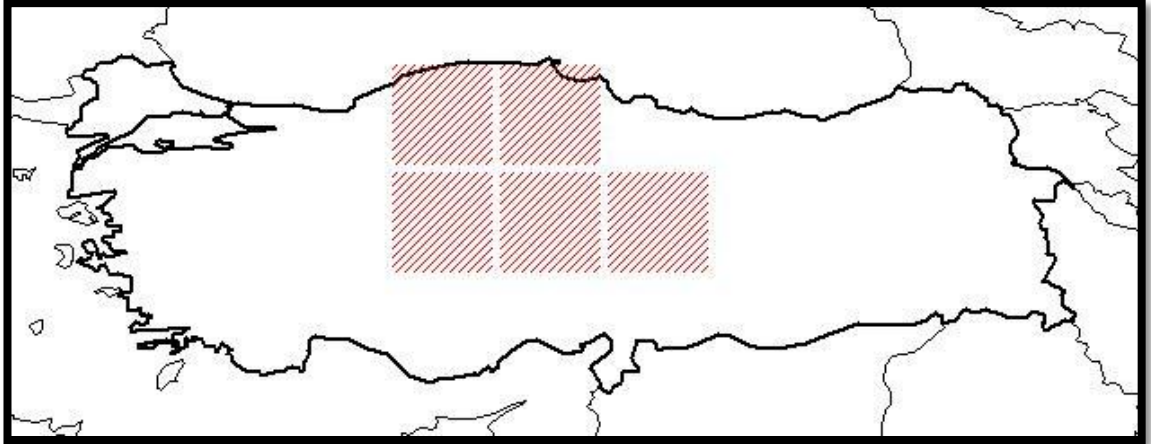
Ömür	: Çok yıllık
Yapı	: Otsu
Çiçeklenme	: 6. ay
Habitat	: Yaylalar
Yükseklik	: 600-1320m
Endemik	: Endemik
Element	: İran-Turan
Türkiye dağılımı	: Kuzey, ve Orta Anadolu
Genel Dağılımı	: Türkiye

Astragalus dipsaceus Bunge bitkisinin yayılış gösterdiği iller (Çankırı, Kastamonu, Amasya, Ankara, Çorum, Sivas, Tokat, Yozgat) (URL 2, Şekil 2.2)



Şekil 2.2. *Astragalus dipsaceus* Bunge bitkisinin yayılış gösterdiği iller (URL 2)

Astragalus dipsaceus Bunge bitkisinin yayılış gösterdiği kareler: : A4, A5, B4, B5, B6 dır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. *Astragalus dipsaceus* Bunge bitkisinin yayılış gösterdiği kareler (URL 2)

2.5 *Astragalus karamasicus* Boiss. & Bal. Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı

Yükselici, dik, çok yıllık, 10-20 cm boyunda gövdeli bitkilerdir, dalları odunlaşmıştır; gövdeler 2-10 cm. yapralar 2-3cm; yaprakçıklar 3-8mm, dar eliptik, ikiye çatallı, tabnda şişkince ince ve seyrek-ipeksi tüylüdür, 7-10 çift; kulakçıklar yaklaşık 3mm, üçgenimsi. Çiçek kurulu 2-2,5x1,5-2 cm, yoğun, küremsi-yumurtamsı, başaklar 10-15 çiçeklidir, meyve zamanında hafif uzar. Brakteler yaklaşık 2 mm, mızraksı. Kaliks 6-8 mm çanımsı, siyah ve beyaz hemen hemen yayılıcı basit yumuşak tüylü; dişler 3-4 mm, biz

şeklindedir. Korolla pembe veya mor renktedir; bayrakçık 12-14mm, çıplaktır. Bakla meyve 6-8x2,5 mm, dikdörtgenimsi, dik-yatık yayılcı beyaz basit yumuşak tüylü; gaga yaklaşık 3 mm dir. Çiçeklenme Haziran-Temmuz ayları arasındadır, step, çorak-boş alanlarda bulunur. 450-2060 m'ler arasında yayılış gösterir. Endemik, İran-Turan elementidir (Şekil 2.4 ve Şekil 2.5).



Şekil 2.4. *Astragalus karamasicus* Boiss. & Bal. (URL 3)



Şekil 2.5. *Astragalus karamasicus* Boiss. & Bal. (URL 4)

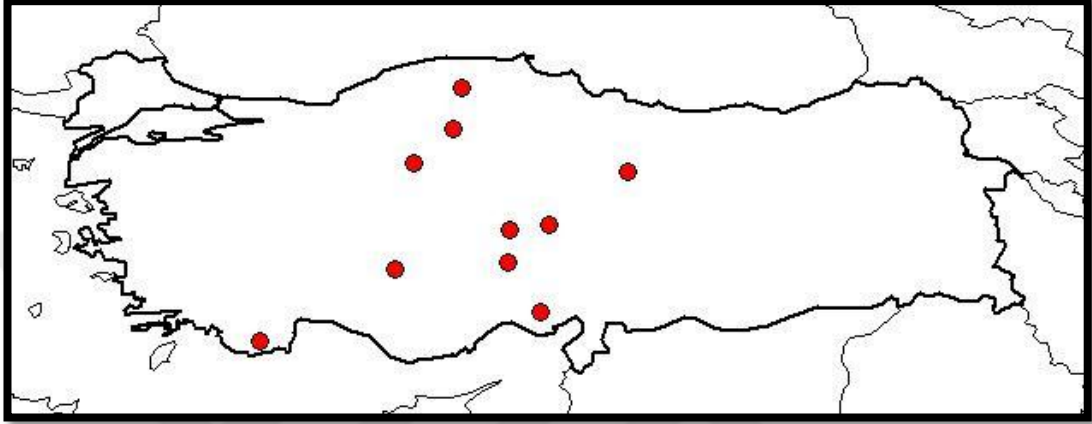
2.5.1 Sistematik hiyerarşi (URL 5)

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

2.5.2 Genel takson özellikleri (URL 5)

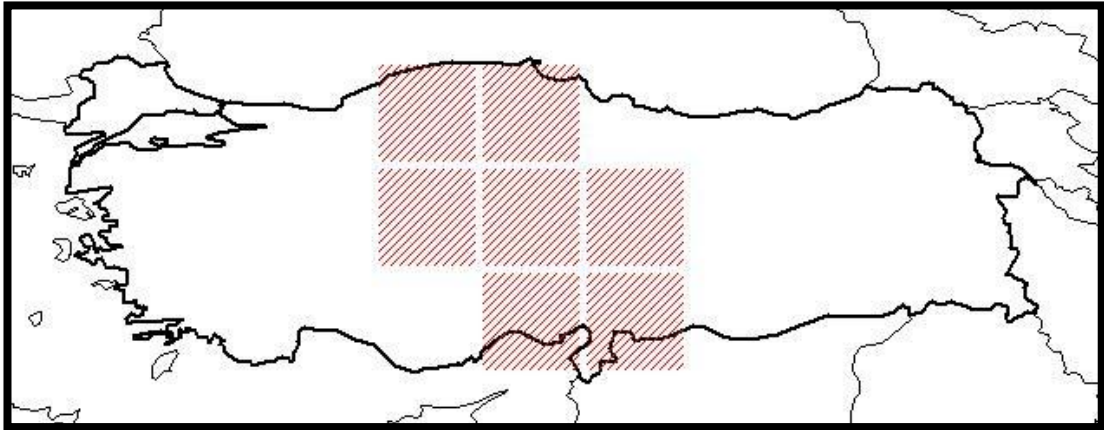
Ömür	: Çok yıllık
Yapı	: Otsu
Çiçeklenme	: 6-7. aylar
Habitat	: Bozkır, çorak yerler

Yükseklik : 450-2060m
Endemik : Endemik
Element : İran-Turan
Türkiye dağılımı : Orta, Kuzey, Güney ve Doğu Anadolu
Genel Dağılımı : Türkiye



Şekil 2.6. *Astragalus karamasicus* bitkisinin yayılış gösterdiği iller

Astragalus karamasicus bitkisinin yayılış gösterdiği iller: Adana, Çankırı, Kastamonu, Ankara, Kayseri, Konya, Nevşehir, Niğde, Sivas, Yozgat dır (URL 5).



Şekil 2.7. *Astragalus karamasicus* bitkisinin yayılış gösterdiği kareler (URL 5)

Astragalus karamasicus bitkisinin yayılış gösterdiği kareler: A4, A5, B4, B5, B6, C5, C6 dır.

2.6 *Astragalus sigmoideus* Bunge Taksonunun Genel Özellikleri ve Yayılışı

Bodur, yapraksız gövdeli, tabanı odunlaşmış çok yıllık bitkilerdir, yapraklar 5-10 cm; yaprakçıklar 8-15 mm, eliptik, genç iken en azından ikiye çatallı-ipeksi tüylü, 5-7 çift; kulakçıklar yaklaşık 4 mm, mızraksıdır. Çiçek sapları 6-12 cm dir. Çiçek kurulu gevşek silindirik, 20-30 çiçekli rasem; çiçekler kısa saplıdır. Brakteler yaklaşık 1,5mm, şeritsi-mızraksıdır. Kaliks 7-8mm, tüpsü, beyaz yatık ikiye çatallı- tabanda şişkince ince ve hafif tüylü; dişler yaklaşık 1,5mm, şeritsidir. Korolla pembemsi-kırmızımsı renktedir; bayrakçık 15-17mm, üstte daralmıştır. Bakla meyve yaklaşık 11x4 mm, armut şeklinde, S harfi şeklinde- saplı, pürüzlü, az çok çıplaklaşan, dik veya sarkık; gaga yaklaşık 1mm, asimetriktir. Çiçeklenme Mayıs-Haziran ayları arasındadır, dik kayalıklar, kumtaşı yamaçlar ve tarlalarda bulunur. 400-1200m'ler arasında yayılış gösterir. Endemiktir.

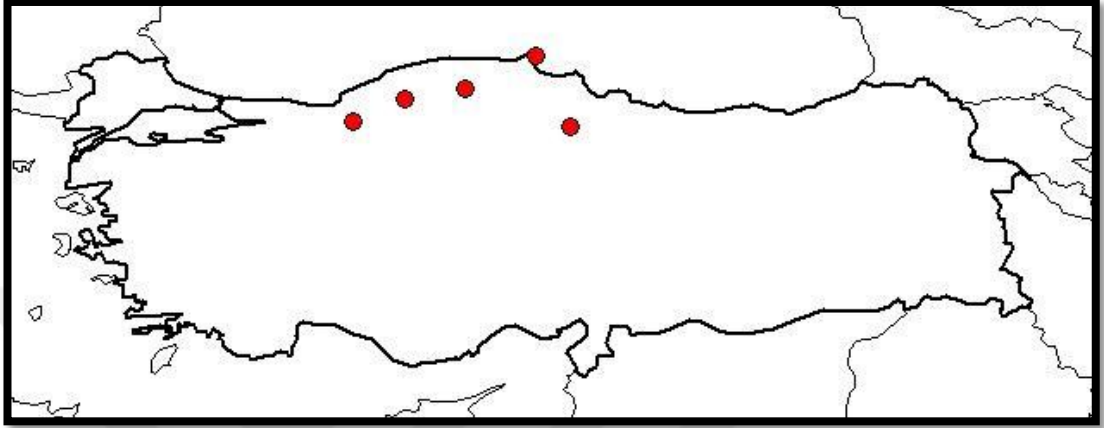
2.6.1 Sistematik hiyerarşi (URL 6)

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

2.6.2 Genel takson özellikleri (URL 6)

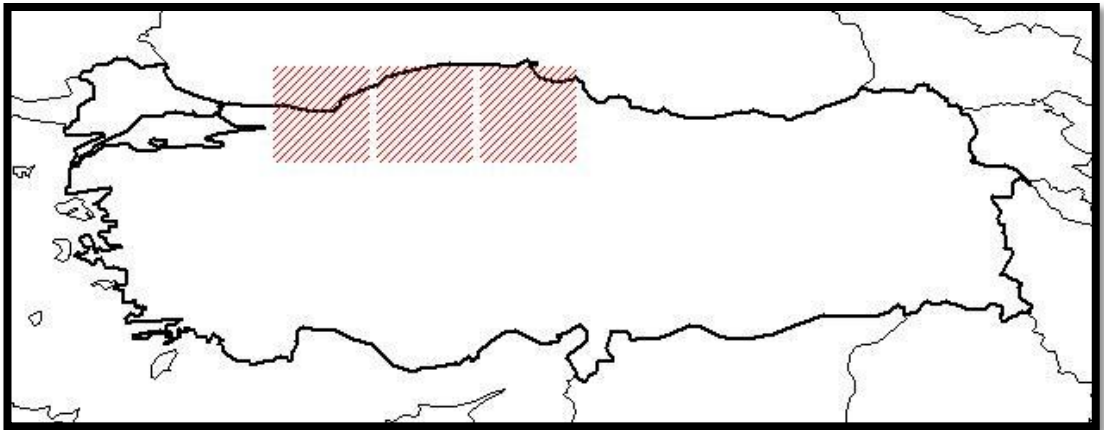
Ömür	: Çok yıllık
Yapı	: Otsu
Çiçeklenme	: 5-6. aylar
Habitat	: Uçurumlar, kumtaşı yamaçları, tarlalar
Yükseklik	: 400-1200 m

Endemik : Endemik
Element : Bilinmiyor
Türkiye dağılımı : Kuzey Anadolu
Genel Dağılımı : Türkiye



Şekil 2.8. *Astragalus sigmoideus* bitkisinin yayılış gösterdiği iller (URL 6).

Astragalus sigmoideus bitkisinin yayılış gösterdiği iller: Bolu, Karabük, Kastamonu, Amasya ve Sinop'dur (URL 6).



Şekil 2.9. *Astragalus sigmoideus* Bunge bitkisinin yayılış gösterdiği kareler (URL 6).

Astragalus sigmoideus Bunge bitkisinin yayılış gösterdiği kareler: A3, A4 A5 dir (URL 6).

2.7 Literatür Özeti

Astragalus kökü Geleneksel Çin Tıbbında (TCM) kullanılır ve Huang Qi olarak da bilinir.

- Bu bitki akciğer, dalak ve kalp hastalıklarının tedavisinde
- Geleneksel olarak yorgunluk tedavisinde
- İştah azalmasında
- Genel halsizlik (özellikle yaşlılarda),
- Viral enfeksiyonlara duyarlılık,
- Sigara bırakma da
- Yaraların tedavisinde
- Ateş,
- Terleme,
- Rahim sarkması, rahim kanaması,
- Ödem (nefrit), uyuşma,
- Kas ağrısı, diyabet
- Rahim, yumurtalık ve kolon kanseri tedavisinde kullanılmaktadır (Foster, 1998).

Astragalus geleneksel çin tıbbında tonik olarak bir bileşendir ve genellikle ginseng, melek otu, meyan kökü ve diğer bitkiler ile kombine edilmektedir.

Astragalus'un sakızımsı bitki özü eski çağlardan beri koyultma maddesi ve emülsiyon yapıcı olarak kullanılmaktadır. Bu reçineler dondurma koyultma maddesi olarak bugün kullanılmaya devam etmektedir (Kemper and Small 1999). Bazı herbalistler ishal tedavisinde kullanımlarını tavsiye ederken ve diğerleri müshil olarak kullanılabileceklerini belirtmişlerdir. Batılı herbalistler 1800 yıllarda *A. membranaceous* köklerini tonik ve diüretik olarak kullanmaya başlamışlardır (Bone, 1993).



Şekil 2.10. *A. membranaceus* (URL 7)

Modern herbalistler birincil bir bağışıklık-uyarıcısı olarak *Astragalus* u benimsemişler ve viral enfeksiyonlar, astım, alerji, soğuk algınlığına tedavisi için önermişlerdir.

Ayrıca herbalistler bu bitkiyi AIDS den kronik yorgunluk sendromuna, Hepatit den myastenia gravise (kas zayıflığı ve yorgunluk ile bulgu veren bir hastalıktır) ve kanser tedavisine kadar bir bitkisel ilaç olarak önermişlerdir (Bone 1993, Kemper ve Small 1999).

1980'lerin başında, «*USA Today*» tanımında *Astragalus* türleri popülerlik kazandı. Popüler gazete ve dergilerde manşetler atıldı.

"Çin Bitkileri kanserle savaşabilir"

"Sır bitkiler kansere karşı savaşta yardımcı"

"Çinlilerin antik bitkisel toniklerden kanser tedavileri« (Kemper and Small 1999, Polumbaum and Xiong 2008).

2.7.1 *Astragalus* türlerinin fenolik bileşenleri ve biyolojik aktivitesi

Astragalus gombiformis Pomel (Fabaceae) bitkisinin toprak üstü kısımlarının MeOH ekstresinin LC–ESI-MS eşliğinde yedi fenolik bileşen (7-methylquercetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- β -D-galactopyranoside (2) and 7-methylquercetin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)-[6-*O*-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)- β -D-galactopyranoside] (7) belirlemişler ve yapılarını NMR ve ESI-MS kullanarak aydınlatmışlardır (McNicholl et al., 2013). Bazı *Astragalus* türlerinin saponin, fenolik içerik ve biyolojik aktivitesi ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (Naghiloo et al., 2012).

Astragalus hamosus bitkisinin kimyasal analizi sonucunda peregrinoside I, azukisaponin V (Verotta 2002) ve rhamnocitrin-3-*O*-glucoside (Verotta et al., 2002) bileşikleri belirlenmiştir. Aynı bitkiden bir başka çalışma da rutin, astragalın ve isoquercitrin bileşenleri HPLC ile belirlenmiştir (Ionkova, 1995).

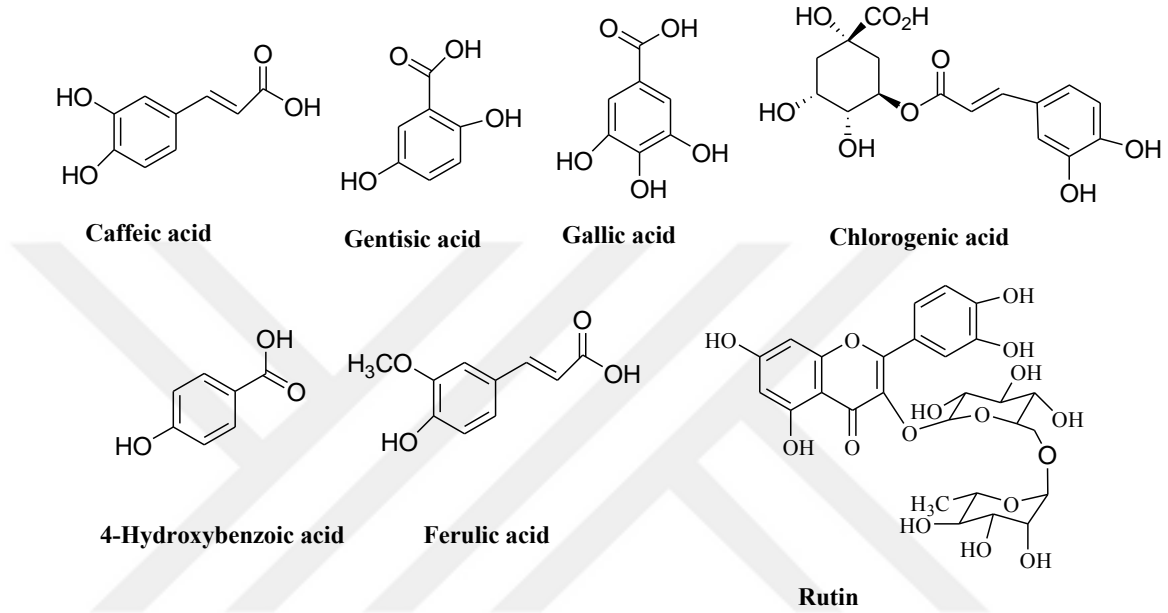
A. corniculatus ve *A. Ponticus* türlerinin LC/MS/MS analizi sonucunda aşağıda tabloda belirtilen fenolikler belirlenmiştir (Simeonova et al., 2013).

Tablo 2.1. *A. corniculatus* ve *A. ponticus* un LC/MS/MS ile fenolik bileşenlerinin belirlenmesi

Bileşik	Karakteristik ürün iyonu (m/z)	Bitki
Eriodyctiol-7-<i>O</i>-rutinoside	287,151	<i>A. ponticus</i> ve <i>A. corniculatus</i>
Isorhamnetin-3-<i>O</i>-rutinoside	315,151	<i>A. ponticus</i>
Isorhamnetin-3-<i>O</i>-glucoside	315,151	<i>A. ponticus</i>
Quercetin-3-<i>O</i>-rhamnoside (quercitrin)	301	<i>A. corniculatus</i>
Phloridzin	273	<i>A. ponticus</i> ve <i>A. corniculatus</i>
Vitexin	341, 311, 269	<i>A. ponticus</i>
Homoeriodictiol	151	<i>A. corniculatus</i>
Kaempferol	151	<i>A. ponticus</i>
Isorhamnetin	300, 151	<i>A. ponticus</i>

Astragalus membranaceus bitkisinin HPLC analizi sonucunda, fenolik asitler (gallic acid, protocatechuic acid, gentisic acid, chlorogenic acid, 4-hydroxybenzoic acid, β -

resorcylic acid, vanillic acid, caffeic acid, syringic acid, ρ -coumaric acid, ferulic acid, veratric acid, m-coumaric acid o-coumaric acid and t-cinnamic acid ve flavonoidler (+)catechin, rutin, naringin, hesperedin, myricetin, quercetin, naringenin, kaempferol, hesperetin, formononetin ve biochanin A tespit edilmiştir [(Kim et al., 2012); Şekil 2.11)].

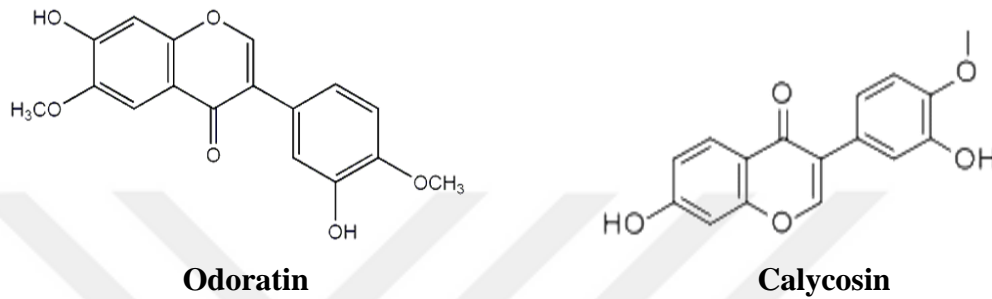


Şekil 2.11. *Astragalus membranaceus* bitkisinde belirlenen bazı fenolik bileşikler

Astragalus gombiformis Pomel (Fabaceae) bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanol ektresinin LC-ESI-MS (High-performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry) analizi sonucunda yedi fenolik bileşen belirlemişler (Kaempferol 3-O- α -l-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[6-O-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)- β -D-galactopyranoside, 7-Methylquercetin-3-O- α -l-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside, 7-Methylkaempferol 3-O- α -l-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside, 7-Methylkaempferol-3-O- α -l-rhamnopyranosil-(1 \rightarrow 2)-[6-O-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)- β -d-galactopyranoside], 7-Methylquercetin 3-O- β -D-galactopyranoside, Kaempferol, 7-Methylquercetin-3-O-pentose-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside, 7-Methylquercetin-3-O-pentose-(1 \rightarrow 2)-[6-O-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)- β -d-galactopyranoside) ve bunlardan 7-Methylquercetin-3-O- α -l-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside ve 7-Methylquercetin-3-O- α -l-

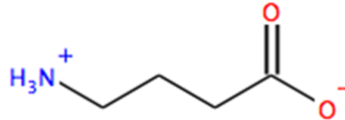
rhamnopyranosyl-(1→2)-[6-O-(3-hydroxy-3-methylglutaryl) -β-D-galactopyranoside bileşenlerinin yapısı NMR ve ESI-MS deneyleri ile belirlenmiştir (McNicholl et al., 2013)

Astragalus trigonus bitkisinin köklerinden Flavonoidler (afromormosin, odoratin ve calycosin) izole edilmiştir.



Şekil 2.12. *Astragalus trigonus* dan flavonoidler

Astragalus trigonus dan izole edilen diğer bileşikler indolizidine alkaloidler, alifatik nitro bileşikleri, selenyum biyogenik aminler (g-aminobutirik asit, GABA) dir (Shaker et al., 2001).



Şekil 2.13. *Astragalus trigonus* 'dan izole edilen diğer bileşikler

2.7.2 *Astragalus membranaceous* bitkisinin potansiyel klinik faydaları

Astragalus membranaceous veya *Astragalus* L. kökü olarak bilinir. Vücudun direncini artırıp hastalıklara karşı tıpta en çok kullanılan *Astragalus* L. çeşitidir.

2.7.2.1 Antikanser

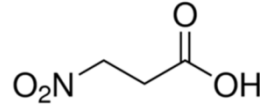
Çin'de, *Astragalus* türü içeren bitkisel karışım (Fu-Zheng) olduğunu kanser hastalarının kemoterapi tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Sun et al., 1982).

Farelerde böbrek hücreli karsinom ve mesane hücreli tümörler tarafından bozulmuş makrofaj fonksiyonunun *Astragalus* ekstreleri ile tedavisi sonucunda tekrar düzenlendiği belirtilmiştir (Rittenhouse et al., 1991). Farelerde, sitotoksik etki için gerekli olan dozu azaltması amacıyla *Astragalus* ekstrelerinin kullanımı, interlökin-2'nin anti-tümör etkileri artmıştır (Rittenhouse et al., 1991).

2.7.2.2 Kardiyovasküler

Çin'de *Astragalus* L. ihtiva eden bir bitkisel karışım (Sanhuang karışımı), koroner arter hastalığını tedavi etmek için kullanılmaktadır (Huang, 1998).

Aort damarlarında *Astragalus*'dan izole edilen 3-nitropropionic asit damar genişletici etkileri ve hipotansif özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (Castillo et al., 1992).



Şekil 2.14. 3-nitropropionic asit

Astragalus köklerinin alkollü ve sulu ekstreleri (g-aminobütirik asit olarak tanımlanan, GABA) anestezi uygulanan sıçanlarda hafif hipotansif etki göstermiştir (Hikino et al., 1976). Akut iskemik göğüs ağrısı çeken 92 hastanın *Astragalus* özü (doz belirtilmemiş) tedavi edilmesi sonucu önemli ölçüde göğüs ağrısı ile EKG 24 anormalliklerinin düzeldiği görülmüştür (Li et al., 1995).

2.7.2.3 Antioksidan

Astragalus'un köklerinden elde edilen alkollü ekstresinden izole edilen afromosin, calycosin ve odoratin flavonoidleri antioksidan aktivite göstermişlerdir (Wang et al., 1995; Shirataki et al., 1997).

Astragalus ekstreleri lipid peroksidasyonu karşı sıçan kalp mitokondrileri korumaktadır (Lo et al., 1994).

Kırk üç akut miyokard infarktüsülü hastada yapılan bir çalışmada, hastalar dört hafta süreyle *Astragalus* ekstresiyle tedavi edilmiştir. Tedavi sonucunda, hastaların kırmızı kan hücresindeki serbest radikaller ve plazma lipid peroksidasyonu azaltılmış ve süperoksit dismutaz seviyeleri artmıştır (Chen et al., 1995).

2.7.2.4 Antiviral

Hücre kültürü çalışmalarında, *Astragalus* ekstrelerinin HIV enfeksiyonuna antiviral aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir (Yao et al., 1992; Xu et al., 1996).

Japon Ensefaliti (JE) virüsünün neden olduğu, sivrisinek ısırıklarıyla yayılan, beyin hasarı ve ölüme sonuçlanabilen akut beyin iltihabıdır. Japon ensefalit virüsü ile enfekte olan fareler, birincil makrofajların uyarılması yoluyla *Astragalus* ekstreleri ile muamele edilmiş ve bir koruma sağlanmıştır (Kajimura et al., 1996).

2.7.2.5 Böbrek ve elektrolit dengesi fonksiyonu

Gliserol kaynaklı böbrek yetmezliği teşhisi konulan tavşanların *Astragalus* ile muamelesi sonucu böbrek fonksiyonları ve morfolojisini korunduğu görülmüştür (Hu et al., 1996).

Gentamisine maruz bırakılan kobaylara, *Astragalus* içeren bitkisel karışımın verilmesi sonucunda böbrek toksisite karşı korumalı olduğu görülmüştür (Xuan et al., 1995).

2.7.2.6 Gastrointestinal sistem

Birkaç Çinli grubun yapmış oldukları çalışmalarda, fareler güçlü hepatotoksin verilmiş ve *Astragalus* kökü özleri ile tedavi edilmişlerdir. *Astragalus* kökü özleri ile tedavi edilen hayvanlar, tek başına toksin verilen kontrol hayvanlarına göre daha az karaciğer hasarına ve daha iyi bir karaciğer fonksiyonu sahip oldukları gözlenmiştir (Wang and Han 1991; Zhang et al., 1991).

Nefrotik sendromlu bir fare modelinde, *Astragalus* ile muamelesi sonucunda albuminin karaciğerdeki sentezini geliştirmesi ile ilişki bulunmuştur (Li et al., 1995).

Kırk yetişkin Kronik Hepatit C li insanda yapılan bir çalışmada, bir *Astragalus* türü içeren bitkisel karışım ile tedavi edilen hastalarda, altı ay sonunda karaciğer enzimlerinde anlamlı düzelmeler tespit etmişlerdir. Yan etkileri olarak ishal ve şiddetli çarpıntı gözlenmiştir (Hanje et al., 2006).

2.7.2.7 Endokrin sistem

Diyabetik sıçanların, *Astragalus* ile tedavisi sonucunda serum glukoz seviyelerinde düşüş gözlemiştir (El-Mawla, 2010).

2.7.2.8 Hematolojik

In vitro insan endotel hücrelerinin astragaloside IV (*Astragalus*'dan izole edilen) ile muamelesi sonucunda damar içi pıhtılaşmanın oluşumunun engellediği tespit edilmiştir (Zhang et al., 1997).

2.7.2.9 Başışıklık sistemi

İnsan mononükleer hücrelerinde, *Astragalus* ekstreleri tümör nekroz faktörü (TNF) alfa ve TNF-beta39 salgılanmasını geliştirmiştir (Zhao and Kong 1993).

Benzer bir çalışmada, *Astragalus* ekstreleri timidin ve PHA ile uyarılan lenfosit çoğalmasının kendiliğinden birleşimini önemli ölçüde arttırmıştır (Sun et al., 1982).

Lökopeni hastası yüz on beş yetişkine, sekiz hafta süreyle yüksek doz *Astragalus* (*Astragalus* 5 veya 15 gram, günde iki kez) ile tedavi edilmesi sonucunda beyaz kan hücreleri sayısında doza bağımlı olarak önemli bir artış gözlenmiştir (Weng, 1995).

2.7.3 Toksik etkisi

Bitki selenyumlu topraklarda yetiştiği zaman selenyumu aminoasit şeklinde büyük miktarda bünyesinde biriktirir (Maddox, 2001).

Birçok hayvan içerisinde bulundurduğu dimetil ve selenyum bileşiklerinin kokusundan dolayı yemez. Ancak koyun sığır gibi hayvanların beslendiği ve zehirlendiği görülmüştür. 500-1000 gram arası *Astragalus bisulcatus* bitkisini yiyen bir koyun yarım saat içinde ölebilir (Maddox 2001; Gupta 2012).

Wyoming de 1907,1908 yıllarında 15000 koyun alkali hastalığı ile öldüğü görüldü. Yapılan araştırmalarda koyunların *Astragalus bisulcatus* bitkisini yedikleri ortaya çıktı ve büyük miktarda selenyum sindirmişlerdi (Maddox 2001).

Domuzlar selenyum açısından zengin türler olan *A. bisulcatus* ile beslenmişlerdir. Yapılan incelemeler sonucunda ekstre ile beslenen domuzlarda, yetmiş beş günün sonunda kilo kaybı, şiddetli nörolojik toksisite (felç dahil) görülmüştür (Panter et al., 1996).

3. MATERYAL METOT

3.1 Bitkilerin Toplanması, Kurutulması ve Tür Teşhisi

Çankırı İli Yapraklı ormanları 2014 yılı vejetasyon dönemi içerisinde Haziran ayından başlayarak Eylül ayı sonuna kadar bitki örnekleme yapıldı. Alandan toplanan bitki örneklerinin sağlam, yapraklarının tam, çiçeklerinin açmış ve zarar görmemiş, meyvelerinin ve tohumlarının olgunlaşmış olmasına dikkat edildi. Her bir bitki gazete kâğıdı içerisine yerleştirildikten sonra üstüne bir kurutma kâğıdı konulacak şekilde yapıldı. Bu işlem bitkiler kuruyana kadar devam edildi. Bitki örnekleri tamamen kuruduktan sonra teşhisi yapılmak üzere karton mukavvalar arasına alındı. Bitkilerin teşhisleri, Davis'in (1965:1985-1988) editörlüğünde yayınlanmış olan 'Flora of Turkey and The East Aegean Islands I-X' eserinden ve Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu'nda (ANK) bulunan örneklerden yararlanılarak yapıldı. Ayrıca bitkilerin herbaryum numaraları Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu'ndan alındı.

3.2 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 Kolorometrik Kit, Trypan Blue antiproliferatif aktivite testlerinde kullanıldı.

3.3 Kullanılan Cihazlar

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-Flight

İnkübatör CO₂ Water-Jacketed (Nuaire 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

3.4 Bitkinin Özütleme (Ekstraksiyon) İşlemi

Kurutulan üç *Astragalus* türü sıvı azot ile basınç uygulanarak parçalandı. 50'şer gram tartıldı. Tartılan kuru bütün bitki kısımları maserasyon yöntemi sırasıyla hekzan, kloroform (CHCl₃), Etilasetat (EtOAc), n-bütanol (n-BuOH) ve metanol (MeOH) çözücülerinde oda sıcaklığında iki şer gün süreyle ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. Daha sonra çözücüler döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve hekzan, CHCl₃, EtOAc, n-BuOH ve MeOH ekstresi elde edildi.

3.5 GC-MS Analizi programı

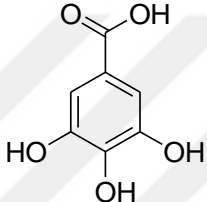
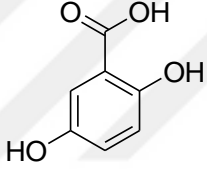
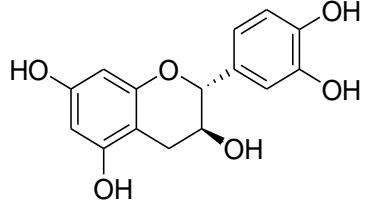
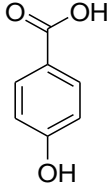
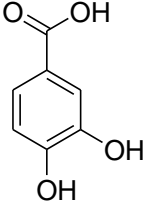
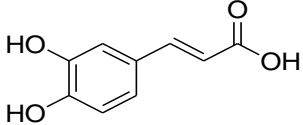
Hekzan ekstresi Perkin Elmer Clarus 500 model gaz kromatografisi kullanıldı. Cihazda otosampler, HP-5MS kapiler kolon (350 °C: 30 m x 250 µm x 0.25 µm), 70 eV iyonlaştırma voltajı ve FID detektörü kullanıldı. Fırın sıcaklığı şu şekilde: 100 °C de 2 dakika. ve 100-240 °C arası 5 °C/dak. de 5 dakika, ve 250-280 °C arası 5 °C/dak. de 15 dakika tutuldu. Şırınga hacmi 10 µL, enjeksiyon hacmi 1 µL ve ekstraktlar splitsiz cihaza enjekte edildi. MS Source (230-250 °C) ve MS Quad (150-200 °C) olarak ayarlandı. Taşıyıcı gaz olarak Helyum kullanıldı ve akış oranı 1 mL/dak. olarak ayarlandı.

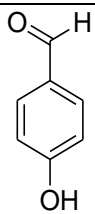
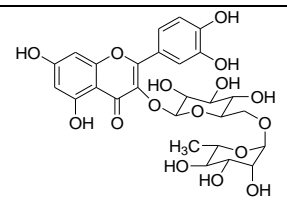
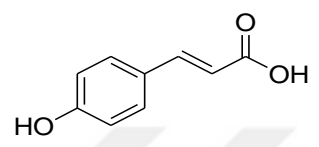
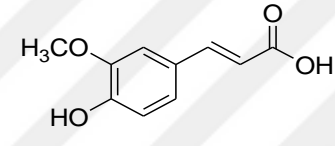
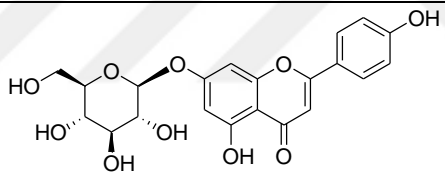
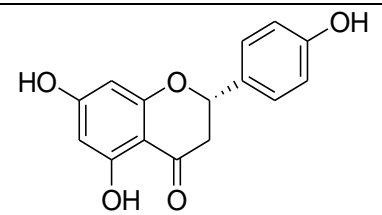
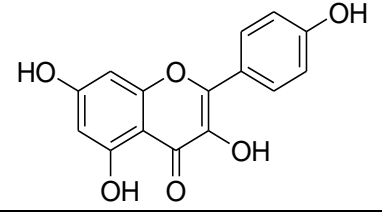
3.6 HPLC-TOF/MS Analiz

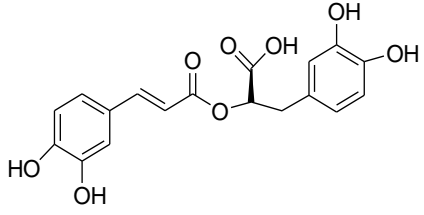
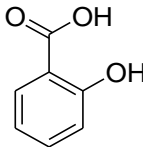
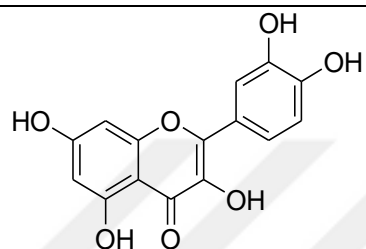
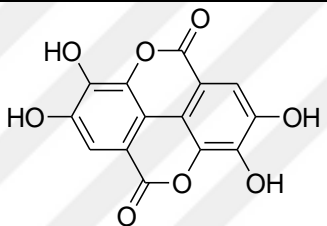
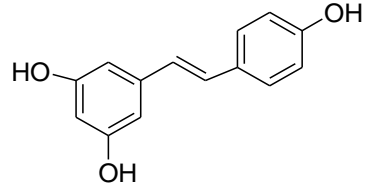
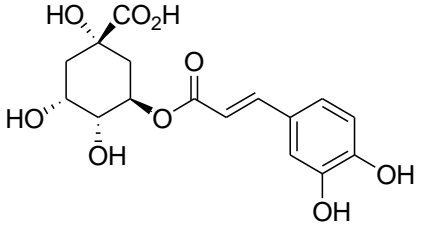
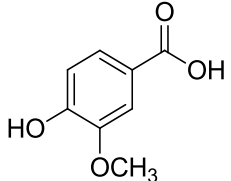
Bitki ekstrelerinin fenolik içeriği, Agilent Poroshell 120 EC-C18 (2.7 mm, 4,0 x 50 mm) kolon, 6210 (TOF) LC/MS dedektör ile birlikte Agilent Technologies 1260 Infinity HPLC Sistemi kullanılarak belirlendi. Mobil faz A ve B, sırasıyla, ultra saf su çözeltisi ile % 0,1 formik asit ve asetronitril'dir. Akış hızı 0,4 ml/dk., kolon sıcaklığı 35°C ve enjeksiyon hacmi 5 µL 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 L/dk ve nebulizör 45 (psi) olarak belirlendi.

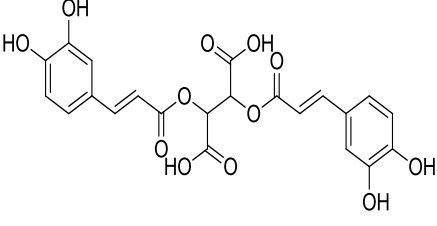
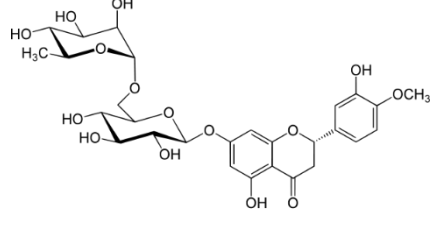
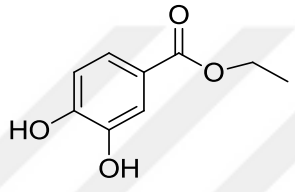
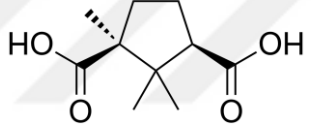
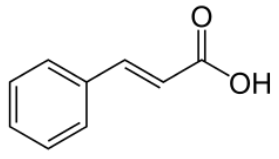
Yirmi beş fenolik bileşenin (klorojenik asit, 4-hidroksibenzaldehit, hesperidin, apigenin-7-glikozit, rosmarinik asit, protokateşik asit etil esteri, kateşin, gallik asit, vanilik asit, gentisik asit, kaftarik asit, 4-hidroksibenzoik asit, kersetin, kafeik asit, rutin, p-kumarik asit, kamferol, ferulik 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		$C_7H_6O_5$	169,0142	169,0112
2	Gentisik Asit		$C_7H_6O_4$	153,0193	153,0163
3	Kateşin		$C_{15}H_{14}O_6$	289,0718	289,0675
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
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
19	Klorojenik asit		$C_{16}H_{18}O_9$	353,0878	353,0826
20	Vanilik Asit		$C_8H_8O_4$	167,0349	167,0467

21	Sisorik Asit		$C_{22}H_{18}O_{12}$	473,0725	473,0676
22	Hesperidin		$C_{28}H_{34}O_{15}$	609,1824	609,1761
23	Protokatesik Asit Etil Esteri		$C_9H_{10}O_4$	181,0506	181,0479
24	Kaftarik asit		$C_{10}H_{16}O_4$	199,0975	199,0977
25	Sinnamik asit		$C_9H_8O_2$	147,0451	147,0552

3.7. Antiproliferative Aktivite Testlerinin Yapılması

3.7.1 Kanser hücre hatları ve hücre kültürü

Bu çalışmada HeLa ve C6 kanser hücre hatları kullanıldı. Hücreler % 10 FBS ve % 2 PenStrep (Penisilin-Streptomisin) solusyonu içeren DMEM (Sigma, Germany)+ (Fetal Bovine Serum) besi yerinde kültüre edildi. Hücreler, steril T75 hücre kültür flasklarında 37 °C de % 5 CO₂ ortamında 4-5 gün inkübe edilip konfluent hale geldiğinde, flasklardaki besi yeri 10 mL Tripsin-EDTA solusyonu ile değiştirildi, 5 dakika inkübe edildi. Inkübasyon sonrasında flask hafifçe çalkalanarak hücrelerin yüzeyden ayrılması sağlandı. Oluşan hücre süspansiyonu 50 ml steril falkon tüplere aktararak, hücreler üzerine 10 mL taze besi yeri eklenecek ve hücreler 1500xg de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısım aspire edildikten sonra, hücre pelleti 2ml taze besi yeri ile süspansiyon haline getirildi. Hücre sayımı için süspansiyonundan alınan 10 µl hücre 10 µl tripan mavisi solusyonu ile karıştırıldı. Bu karışımın 10 µL si Thoma lamına pipetlenerek hücreler mikroskop altında sayılarak hücre konsantrasyonu belirlendi. (Hücre sayısı = 5 kuyucuktan sayılan toplam hücre sayısı x seyreltme faktörü x 25.000). Sayım işlemiden sonra yeni bir steril 15 ml lik Falcon tüp içinde çalışılacak hücre stok süspansiyonu hazırlandı. Eğer hücreler sadece split edilecekse ana hücre stoğu dan 1×10^6 hücre/ml olacak şekilde dilue edilerek, 1 ml hücre içinde 25 ml taze medyum bulunan kültür flasklarına pipetlenerek 37 °C de % 5 CO₂ ortamında 4-5 gün inkübe edildi.

3.7.2 *In Vitro* antiproliferatif aktivite testi

Hazırlanan hücre stoğundan 100 µL hücre süspansiyonu 96 kuyucuklu plakaların kuyucuklarına triplike olacak şekilde pipetlendi. Negatif kontrol için besi yeri, pozitif kontrol için uygun bir antikanser bileşik (5-Florourasil) (Sigma F6627) test maddesi ile aynı konsantrasyonlarda), çözücü kontrolü için maddelerin çözüldüğü çözücü ve test edilecek maddeler istenen konsantrasyonlara (IC₅₀ 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 CO₂ ortamında 24 saat inkübe edildi.

3.7.3 BrdU Cell ELİZA 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 boşaltılacak ve 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 yıkıldı. 100 µL substrat solüsyonu eklendi. 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Daha sonra reaksiyon 25 µL 1M H₂SO₄ eklenerek durduruldu. Plakalar uygun bir mikropilaya okuyucu kullanılarak 450 ve 650 nm dalga boyunda okutuldu. Absorbans değerleri elde edildi.

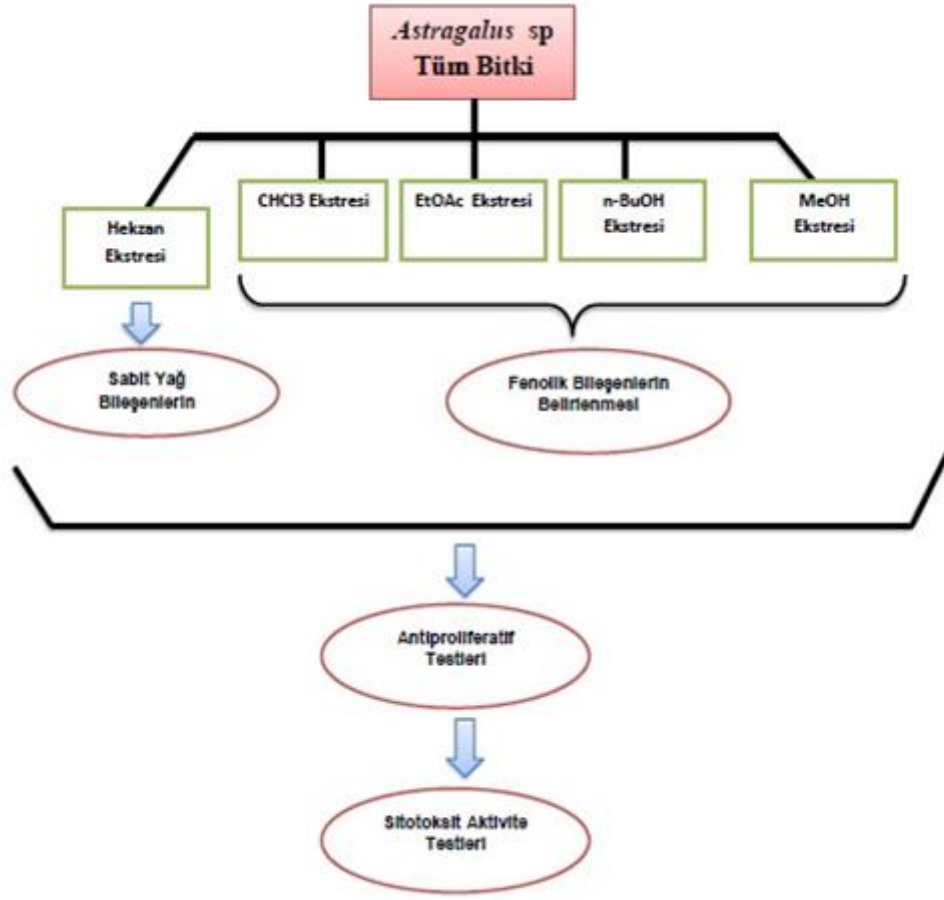
3.7.4 IC₅₀ konsantrasyonunun belirlenmesi

Test edilen her maddenin IC₅₀ konsantrasyonunu (% 50 sinin proliferasyonunun inhibe ettiği konsantrasyon) belirlenmesi için Excel, SigmaPlot veya ED50V10.XLS programı kullanılarak hesaplandı.

3.8 Sitotoksik Aktivite Testlerinin Yapılışı

Test maddelerinin sitotoksik aktivitesinin belirlenmesi için, hücreler test maddesinin IC₅₀ konsantrasyonunun altında ve üstünde seçilecek konsantrasyonlarda LDH Cell Cytotoxicity Assay (Roche 04 744 926 001, Germany) kullanarak üretici firmanın prosedürüne göre belirlendi ve % sitotoksosite hesaplandı.

Projenin özet şeması Şekil 3.1 de verilmiştir



Şekil 3.1. Çalışma şeması

4. BULGULAR

4.1. Bitkilerin tür teşhisi ve Herbaryum numaralarının alınması

Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN tarafından yapıldı. Bitkilerin teşhisleri, Davis'in (1965:1985-1988) editörlüğünde yayınlanmış olan 'Flora of Turkey and The East Aegean Islands I-X' eserinden ve Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu'nda (ANK) bulunan örneklerden yararlanılarak yapıldı. Ayrıca bitkilerin herbaryum numaraları Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu'ndan alındı (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Bitkilerin herbaryum numaraları

Bitki Adı	Herbaryum Numarası
<i>Astragalus dipsaceus</i> Bunge	ANK 60524
<i>Astragalus karamasicus</i> Boiss. & Bal.	ANK 60525
<i>Astragalus sigmoideus</i> Bunge	ANK 60528

4.1 Elde edilen ekstreler ve ekstre verimleri (%)

Astragalus dipsaceus Bunge (AsD), *Astragalus karamasicus* Boiss. & Bal. (AsK) ve *Astragalus sigmoideus* Bunge (AsS) bitkilerinin bütün bitki kısımlarından elde edilen ekstre miktarları ve verimleri (%) Tablo 4.2. verildi.

Tablo 4.2. *Astragalus. dipsaceus* Bunge (AsD), *Astragalus karamasicus* Boiss. & Bal. (AsK) ve *Astragalus sigmoideus* Bunge (AsS) bitkilerinden elde edilen ekstre miktarları ve verimleri (%).

Çözücü	Kısım	Bitki miktarı (g)	Çözücü (mL)	Ekstre (mg)	Verim (%)
Hekzan	AsD	50	750	190,90	0,38
	AsK	50	750	0,21	0,41
	AsS	100	1100	403,40	0,40
Kloroform	AsD	50	750	184,00	0,37
	AsK	50	750	0,22	0,44
	AsS	100	1100	1044,20	1,04
Etil asetat	AsD	50	750	44,50	0,09
	AsK	50	750	0,14	0,27
	AsS	100	1100	1391,00	1,39
n-Bütanol	AsD	50	750	77,00	0,15
	AsK	50	750	0,05	0,10
	AsS	100	1100	472,70	0,47
Metanol	AsD	50	750	1446,20	2,89
	AsK	50	750	1,39	2,79
	AsS	100	1100	6355,50	6,36

A. dipsaceus Bunge bitkisinin bütün bitki kısımlarının hekzan ekstresi 190,90 mg (% 0.38), kloroform ekstresi 184 mg (% 0,37), etil asetat ekstresi 44,50 mg (% 0,09), n-bütanol ekstresi 77 mg (% 0,15) ve metanol ekstresi 1446,20 mg (% 2,89) elde edildi. Elde edilen en yüksek verimin (% 2,89) metanol ekstresinde olduğu tespit edildi (Tablo 4.2).

A. karamasicus Boiss. & Bal bütün bitki kısımlarının hekzan ekstresi 0,21 mg (% 0,41), kloroform ekstresi 0,22 mg (% 0,44), etil asetat ekstresi 0,14 mg (% 0,27), n-bütanol ekstresi 0,05 mg (% 0,10) ve metanol ekstresi 1,39 mg (% 2,79) elde edildi. Elde edilen en yüksek verimin (% 2,79) metanol ekstresinde olduğu tespit edildi (Tablo 4.2).

A. sigmoideus Bunge bütün bitki kısımlarının hekzan ekstresi 403,40 mg (% 0,40), kloroform ekstresi 1044,20 mg (% 1,04), etil asetat ekstresi 1391 mg (% 1,39), n-bütanol ekstresi 472,70 mg (% 0,47) ve metanol ekstresi 6355,50 mg (% 6,36) elde edildi. Elde edilen en yüksek verimin (% 6,36) metanol ekstresinde olduğu tespit edildi (Tablo 4.2).

4.2 Hekzan Ekstrelerinin GC-MS Analiz Sonuçları

A. dipsaceus Bunge bitkisinin hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonucunda, toplam 36 bileşen belirlendi. Bu bileşenlerden 14 tanesi doymuş yağ asidi, 2 tanesi çoklu doymamış yağ asidi ve 20 tanesi diğer bileşenlerdir (Tablo 4.3, Şekil 4.1). *A. dipsaceus* Bunge bitkisinin hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak Nonakosan (% 25.13), Araşidik asit (% 11.24), Behenik asit (% 9.04), Palmitik asit (% 8.99) ve Heptakosan (% 7.79) olarak belirlendi.

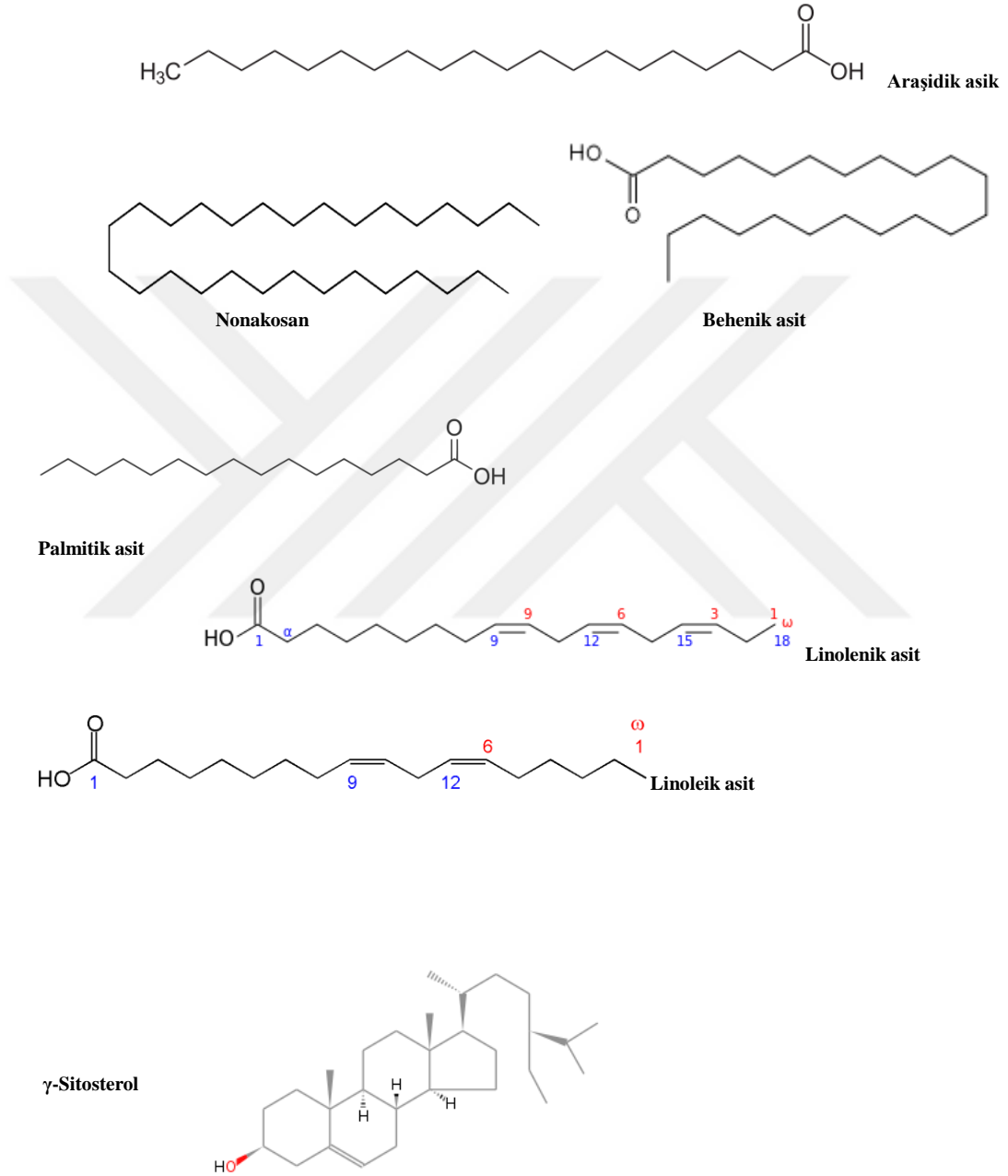
A. karamasicus Boiss. & Bal. bitkisinin hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonucunda, toplam 19 bileşen belirlendi. Bu bileşenlerden 9 tanesi doymuş yağ asidi, 2 tanesi mono doymamış yağ asidi ve 8 tanesi diğer bileşenlerdir (Tablo 4.3, Şekil 4.1). *A. karamasicus* Boiss. & Bal. bitkisinin hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak Araşidik asit (% 16.32), Nonakosan (% 12.72), 1-Heksakosanol (% 12,15), Behenik asit (% 11.74), Oktakosan (% 9,56), Palmitik asit (% 8.37) olarak belirlendi.

A. sigmoideus Bunge bitkisinin hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonucunda, toplam 19 bileşen belirlendi. Bu bileşenlerden 6 tanesi doymuş yağ asidi, 2 tanesi çoklu doymamış yağ asidi ve 11 tanesi diğer bileşenlerdir (Tablo 4.3, Şekil 4.1). *A. sigmoideus* Bunge bitkisinin hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak γ - sitosterol (% 16.38), Nonakosan (% 14.03), Linolenik asit (% 12.48), Heptakosan (% 9.40), Linoleik asit (% 9.16) ve Behenik asit (% 8.90) ana bileşenler olarak tespit edildi.

Tablo 4.3. *Astragalus dipsaceus* Bunge (AsD), *Astragalus karamasicus* Boiss. & Bal. (AsK) ve *Astragalus sigmoideus* Bunge (AsS) elde edilen hekzan ekstrelerinin GC-MS analiz sonuçları

No	RT	İzomer	Bileşik Adı	%Miktar		
				AsD	AsK	AsS
Doymuş Yağ Asitleri						
1	19.831	C ₁₂ :0	Laurik asit	0,24		
2	22.892	C ₁₄ :0	Miristik asit	1,82	2,04	
3	24.901	C ₁₅ :0	Pentadesilik asit	0,39		
4	27.716	C ₁₆ :0	Palmitik asit	8,99	8,37	3,52
5	30.903	C ₁₇ :0	Margarik asit	0,18		
6	32.591	C ₁₈ :0	Stearik asit	4,38	2,88	1,34
7	33.712	C ₁₉ :0	Nonadesilik asit	0,17		
8	34.925	C ₂₀ :0	Araşidik asit	11,24	16,32	5,76
9	36.013	C ₂₁ :0	Heneikosilik asit	0,71	1,02	0,39
10	37.403	C ₂₂ :0	Behenik asit	9,04	11,74	8,90
11	38.805	C ₂₃ :0	Trisiklik asit	0,37		
12	40.682	C ₂₄ :0	Lignoserik asit	1,78	3,22	2,75
13	42.811	C ₂₅ :0	Pentakosilik asit	0,27		
14	45.643	C ₂₆ :0	Serotik asit	1,51	1,26	
15	53.413	C ₂₈ :0	Montanik asit		3,50	
Ara Toplam				41,09	50,35	22,66
Mono Doymamış Yağ Asitleri						
16	24.575	C ₁₅ :1	Pentadekenoik asit		0,81	
17	32.254	C ₁₈ :1	Oleik asit		0,89	
Ara Toplam					1,70	
Çoklu Doymamış Yağ Asitleri						
18	32.185	C ₁₈ :2	Linoleik asit	1,00		9,16
19	32.351	C ₁₈ :3	Linolenik asit	2,67		12,48
Ara Toplam				3,67		21,64
Diğer Bileşenler						
20	19.748		2,4-Di-tert-bütilfenol			0,81
21	20.801		1-Heksadeken			0,37
22	20.895		Heksadekan	0,19		
23	21.050		Karyofilen oksit	0,33		
24	22.440		Heptadekan	0,16		
25	24.223		15-heptadekenal			0,45

26	24.317		Oktadekan	0,19		
27	25.450		Heksahidrofarnesil aseton	1,48	2,03	
28	32.016		1-Heksadekanol			1,15
29	32.451		3,7,11,15-Tetrametil-2-heksadeken-1-ol			1,37
30	32.488		Fitol	4,07	1,53	
31	34.416		1-Oktadekanol	0,65	1,63	
32	34.502		Trikosan	0,64		
33	35.624		Tetrakosan	0,16		
34	36.857		Behenik alkol			1,93
35	36.871		1-Dokosanol		3,67	
36	36.917		Pentakosan	5,31		
37	37.192		Labd-8 (20) -en-15,18-dioik asit, dimetil ester	0,40		
38	38.284		Heksakosan	0,38		
39	38.885		Tetrakosanal	0,23		
40	40.127		Oktakosan		9,56	
41	40.132		Heptakosan	7,79		9,40
42	42.015		Oktakosan	0,62		
43	43.011		Oktadekanal	0,89		
44	44.905		Nonakosan	25,13	12,72	14,03
45	51.908		Hentriakontan			4,65
46	52.012		1-Heksakosanol		12,15	
47	52.046		Heksatriakontan	2,92		
48	52.192		Oktakosanol			5,16
49	52.200		1-Heksakozanol	0,87	4,66	
50	64.237		γ-Sitosterol	2,83		16,38
Ara Toplam				55,24	47,95	55,7
Genel Toplam				100,00	100,00	100,00



Şekil 4.1. *Astragalus dipsaceus* Bunge (AsD), *Astragalus karamasicus* Boiss. & Bal. (AsK) ve *Astragalus sigmoideus* Bunge (AsS) elde edilen hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonuçları

4.3 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, gentsik 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. Ekstrelerden elde edilen fenolik bileşenler ve miktarları Tablo 4.4 de verildi.

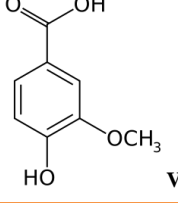
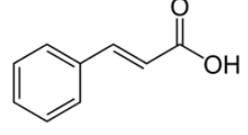
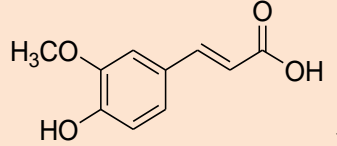
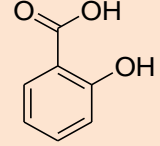
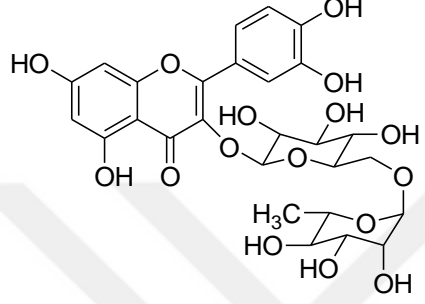
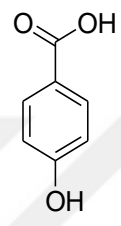
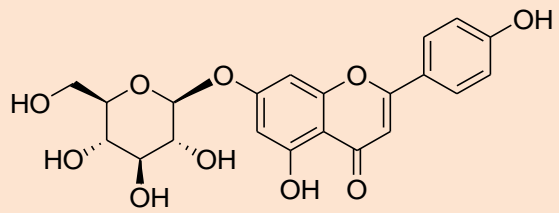
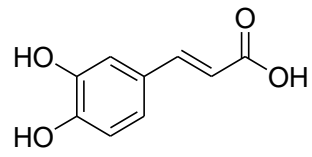
Astragalus dipsaceus Bunge bitkisinin kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları Tablo 4.4 da verildi. *Astragalus dipsaceus* Bunge bitkisinin **kloroform ekstresinde** ana bileşen olarak **ferulik asit, etil asetat ekstresinde** ana bileşen olarak **vanilik asit, n-bütanol ve metanol ekstralarında** ana bileşen olarak **rutin** gözlemlendi (Tablo 4.4, Şekil 4.2).

Astragalus karamasicus Boiss. & Bal. bitkisinin kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları Tablo 4.4'de verildi. *Astragalus karamasicus* Boiss. & Bal. bitkisinin **kloroform ve n-bütanol ekstralarında** ana bileşen olarak **sinnamik asit, etil asetat ekstresinde** ana bileşen olarak **vanilik asit**, metanol ekstralarında ana bileşen olarak **4-hidroksibenzoik asit** gözlemlendi (Tablo 4.4, Şekil 4.2).

Astragalus sigmoideus Bunge bitkisinin kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol ekstralarının HPLC-TOF/MS analiz sonuçları Tablo 4.4 da verildi. *Astragalus sigmoideus* Bunge bitkisinin **kloroform ve etil asetat ekstralarında** ana bileşen olarak **4-hidroksibenzoik asit, n-bütanol ve metanol ekstralarında** ana bileşen olarak **rutin** gözlemlendi (Tablo 4.4, Şekil 4.2).

Tablo 4.4. *Astragalus dipsaceus* Bunge (AsD), *Astragalus karamasicus* Boiss. & Bal. (AsK) ve *Astragalus sigmoideus* Bunge (AsS) bitkilerinin kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol ekstralarının HPLC-TOF-MS analiz sonuçları (**10³ mg fenolik/kg kuru bitki**)

	KLOROFORM			ETİL ASETAT			n-BÜTANOL			METANOL		
	AsD	AsK	AsS	AsD	AsK	AsS	AsD	AsK	AsS	AsD	AsK	AsS
Klorojenik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	38,05	-	-	712,25
4-Hidroksibenzaldehit	-	53,07	-	42,00	26,82	-	-	-	3041,97	-	-	-
Hesperidin	-	-	-	-	-	-	-	-	88,14	-	-	-
Apigenin-7-glikozit	-	-	-	-	8252,73	-	-	-	61,85	-	-	-
Rosmarinik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	18,92	-	-	-
Protokateşik asit etil esteri	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kateşin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gallik asit	-	-	-	-	-	329,67	-	-	423,72	296,74	675,25	1890,93
Vanilik asit	-	-	-	475,55	10836,59	-	-	69,04	18,72	-	-	-
Gentisik asit	-	-	22,53	-	105,91	1765,74	17,44	52,12	2229,66	65,69	3176,99	5961,84
Kaftarik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-Hidroksibenzoik asit	-	-	904,92	145,66	547,48	2069,58	19,08	196,06	1233,37	561,33	8639,93	3230,29
Kersetin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	344,43	536,56	-
Kafeik asit	-	-	-	-	-	371,11	-	-	1258,47	-	2,48	-
Rutin	-	-	117,80	47,67	-	-	2227,80	-	14782,82	12359,55	118,11	21914,38
p-Kumarik asit	-	-	-	39,33	16,02	550,67	-	11,88	1335,74	-	-	-
Kamferol	-	255,15	-	8,12	1270,49	-	-	-	40,97	-	-	-
Ferulik asit	117,47	142,79	394,48	85,18	390,41	790,43	58,77	78,27	792,30	786,87	-	4030,52
Protokateşik asit	-	-	-	84,28	244,23	-	-	-	76,53	-	-	-
Naringenin	-	102,28	-	15,06	-	-	-	-	168,89	-	-	-
Salisilik asit	-	-	-	9,48	189,09	-	-	27,86	455,10	-	4934,48	-
Sisorik asit	-	-	136,84	-	-	-	-	-	-	-	605,90	-
Ellagik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	20,96	-	-	-
Resveratrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sinnamik asit	-	1705,10	-	375,73	1019,59	-	584,29	364,10	38,05	-	-	712,25

 <p>Vanilik asit</p>	 <p>Sinnamik asit</p>
 <p>Ferulik Asit</p>	 <p>Salisilik asit</p>
 <p>Rutin</p>	 <p>4-hidroksibenzoik Asit</p>
 <p>Apigenin-7-glikozit</p>	
 <p>Kafeik Asit</p>	

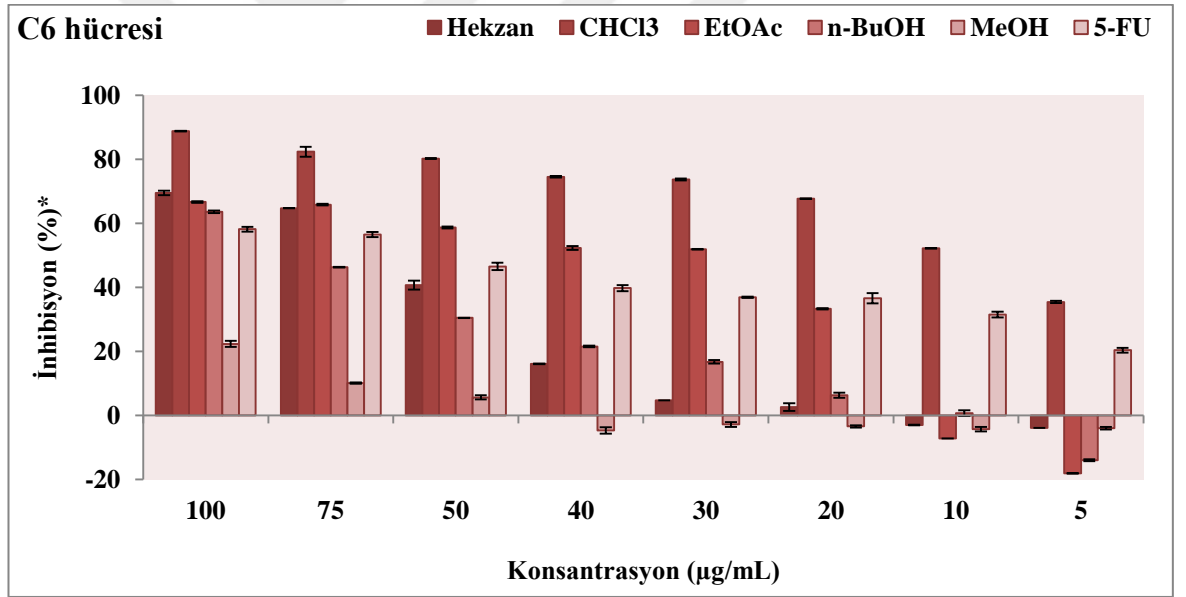
Şekil 4.2. *A. dipsaceus* Bunge, *A. karamasicus* Boiss. & Bal. ve *A. sigmoideus* Bunge bitkilerinin kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol ekstralarının ana fenolik bileşenleri

4.4 Antiproliferatif Aktivite Sonuçları

Endemik üç *Astragalus* türünden elde edilen Hekzan, CHCl₃, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstraları ve standart olarak kullanılan 5-FU nun C6 ve HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstraların C6 ve HeLa hücrelerine karşı IC₅₀ ve IC₇₅ değerleri Tablo 4.5’de verildi.

4.4.1 C6 hücresine Karşı Antiproliferatif Aktivite Sonuçları

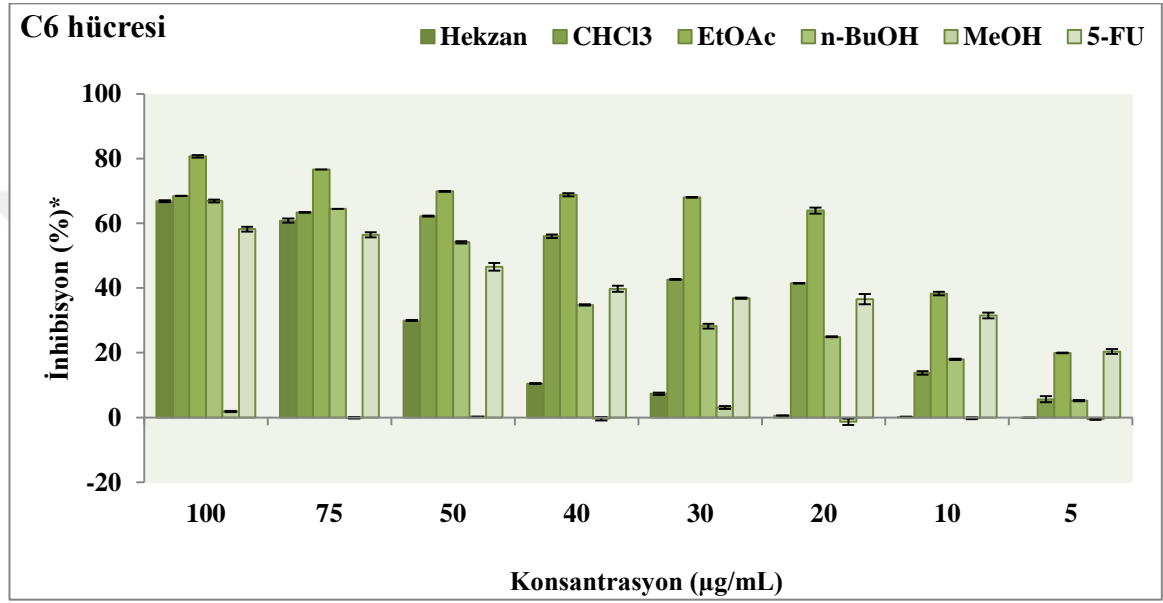
Endemik *A. dipsaceus* Bunge türünden elde edilen hekzan, CHCl₃, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstralarının ve standart olarak kullanılan 5-FU nun C6 hücresine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstraların doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.3). CHCl₃ ekstresinin de 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. 100 µg/mL konsantrasyon da aktivite sırası ile: CHCl₃ ekstresi > Hekzan ekstresi > EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > 5-FU > MeOH ekstresi şeklindedir.



Şekil 4.3. *A. dipsaceus* Bunge bitki ekstralarının C6 hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

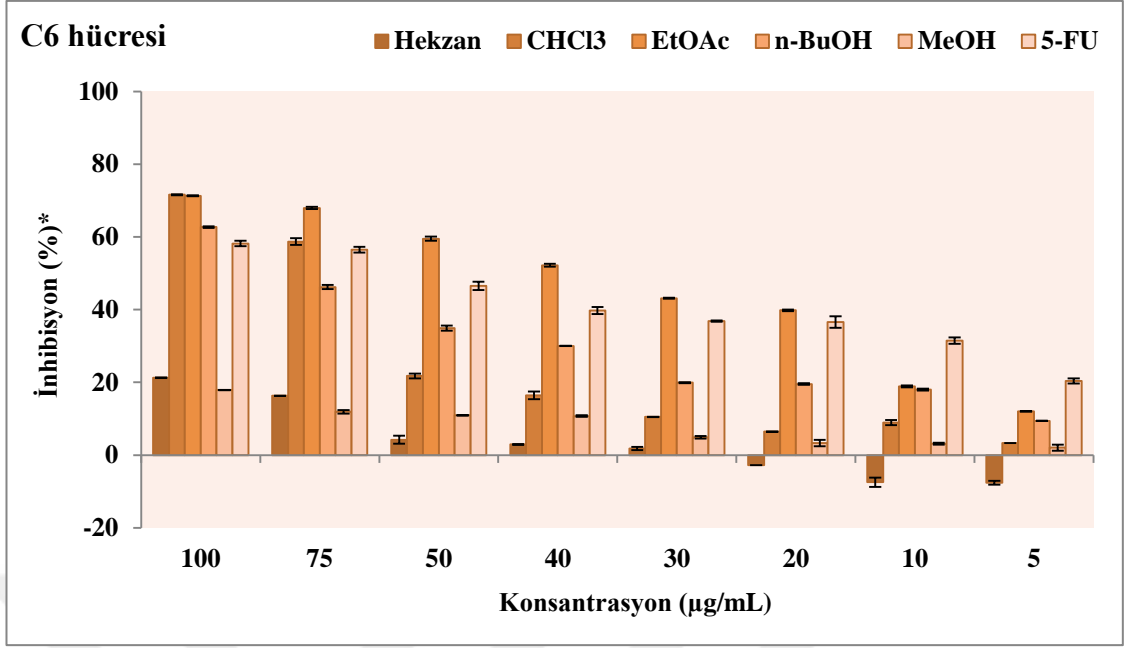
Endemik *A. karamasicus* Boiss. & Bal., türünden elde edilen hekzan, CHCl₃, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstralarının ve standart olarak kullanılan 5-FU nun C6 hücresine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstraların doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.4). EtOAc ekstresinde C6 hücresine karşı 5-FU den tüm dozlarda (5 µg/mL konsantrasyon hariç) daha yüksek

aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda, tüm ekstrelerde (metanol ekstresi hariç) C6 hüresine karşı 5-FU den daha yüksek aktivite gözlemlendi. Ayrıca Hekzan ekstresi çalışılan en düşük iki doz hariç (5 ve 10 µg/mL) 5-FU den daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyon da aktivite sırası ile: EtOAc ekstresi > CHCl₃ ekstresi > n-BuOH ekstresi ~ Hekzan ekstresi > 5-FU > MeOH ekstresi şeklindedir.



Şekil 4.4. *A. karamasicus* Boiss. & Bal., bitki ekstralarının C6 hüresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

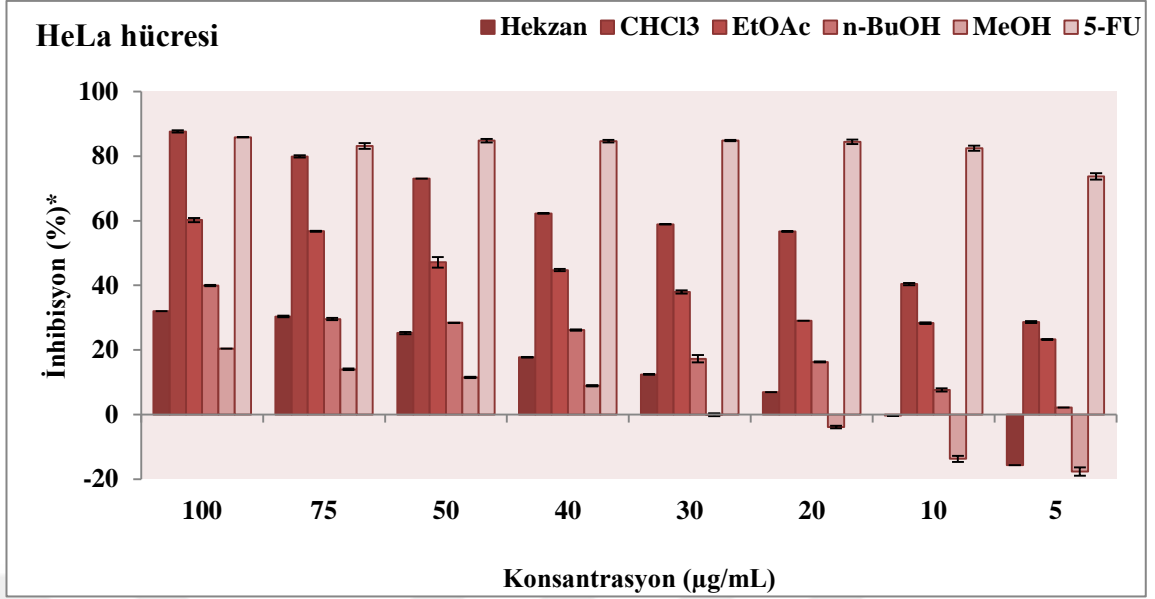
Endemik *A. sigmoideus* Bunge türünden elde edilen hekzan, CHCl₃, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstraları ile standart olarak kullanılan 5-FU nun C6 hüresine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstraların doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi (Şekil 4.5). EtOAc ekstresin de C6 hüresine karşı 5-FU den 20-100 µg/mL dozlarda daha yüksek aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda, tüm ekstrelerde (metanol ve hekzan ekstraları hariç) C6 hüresine karşı 5-FU den daha yüksek aktivite gözlemlendi. Ayrıca CHCl₃ ve ekstresi çalışılan en yüksek iki dozda (75 ve 100 µg/mL) 5-FU den daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: CHCl₃ ekstresi ~ EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > 5-FU > Hekzan ekstresi > MeOH ekstresi şeklindedir.



Şekil 4.5. *A. sigmoideus* Bunge bitki ekstralarının C6 hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

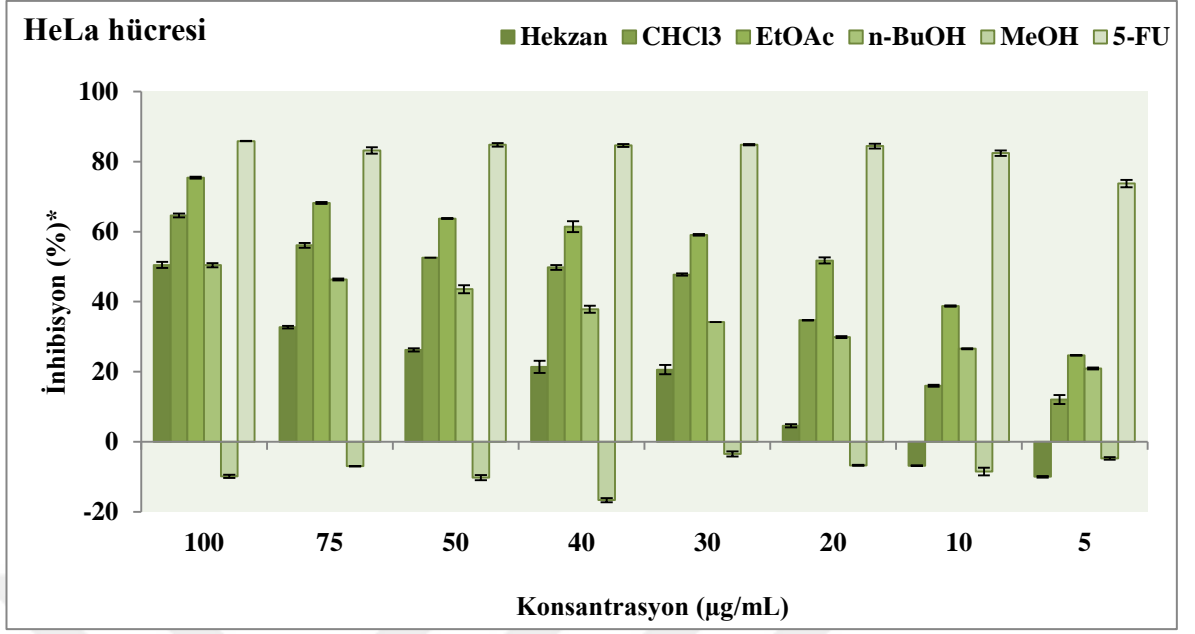
4.4.2 HeLa hücresine Karşı Antiproliferatif Aktivite Sonuçları

Endemik *A. dipsaceus* Bunge türünden elde edilen hekzan, CHCl₃, 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 4.6). CHCl₃ ekstresinde 100 µg/mL konsantrasyonda 5-FU dan daha yüksek aktivite gözlemlendi. Ayrıca, CHCl₃ ekstresi hariç diğer tüm ekstralarda HeLa hücresine karşı 5-FU den daha düşük aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyon da aktivite sırası ile: CHCl₃ ekstresi > 5-FU > EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > Hekzan ekstresi > MeOH ekstresi şeklindedir.



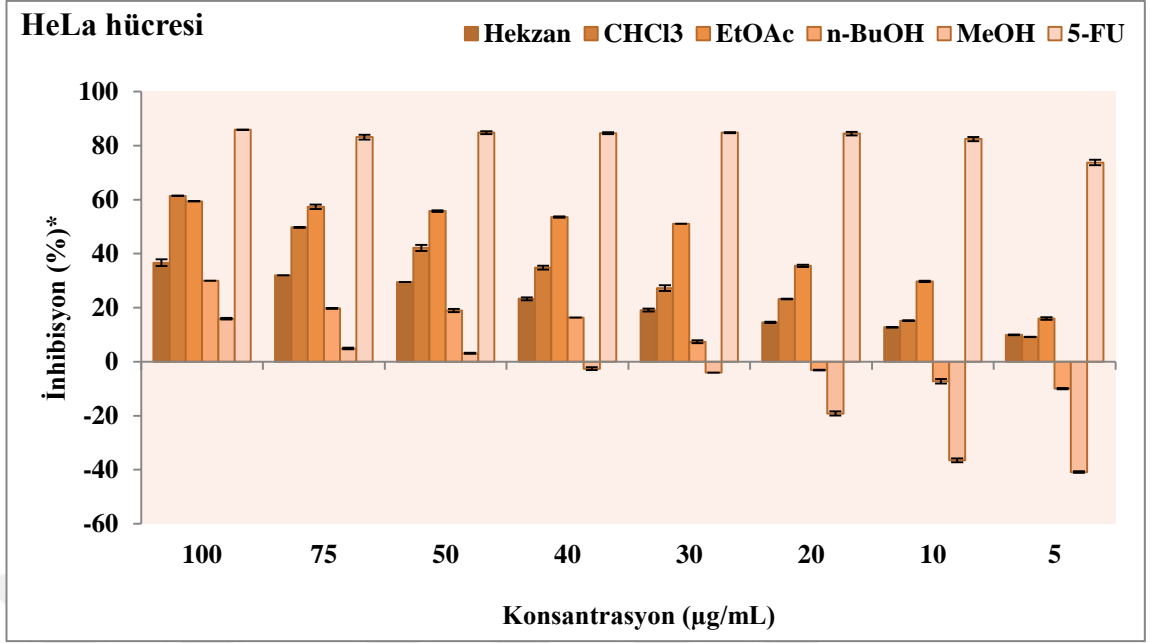
Şekil 4.6. *A. dipsaceus* Bunge bitki ekstralarının HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

Endemik *A. karamasicus* Boiss. & Bal. türünden elde edilen hekzan, CHCl₃, 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 4.7). Ayrıca, tüm ekstralar da HeLa hücresine karşı 5-FU den daha düşük aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyon da aktivite sırası ile: 5-FU> EtOAc ekstresi> CHCl₃ ekstresi > Hekzan ekstresi~ n-BuOH ekstresi> MeOH ekstresi şeklindedir.



Şekil 4.7. *A. karamasicus* Boiss. & Bal. bitki ekstralarının HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

Endemik *A. sigmoideus* Bunge türünden elde edilen hekzan, CHCl₃, 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 4.8). Ayrıca, tüm ekstralar da HeLa hücresine karşı 5-FU den daha düşük aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: 5-FU> CHCl₃ ekstresi> EtOAc ekstresi> Hekzan ekstresi> n-BuOH ekstresi> MeOH ekstresi şeklindedir.



Şekil 4.8. *A. sigmoideus* Bunge bitki ekstralarının HeLa hücresine karşı antiproliferatif aktivite sonuçları (* testler üç tekrarlı ve iki kez tekrarlanmıştır.)

Tablo 4.5. Endemik üç türünün HeLa ve C6 kanser hücrelerine karşı olan IC₅₀ ve IC₇₅ değerleri

Bitki Adı	Ekstre Adı	HeLa		C6	
		IC ₅₀	IC ₇₅	IC ₅₀	IC ₇₅
<i>A. dipsaceus</i>	Hekzan	46.61	64.38	53.35	72.80
	CHCl ₃	10.79	49.76	<5	35.08
	EtOAc	14.43	51.78	35.61	55.96
	n-BuOH	38.53	66.39	54.92	75.94
	MeOH	61.30	74.49	73.01	93.14
<i>A. karamasicus</i>	Hekzan	54.34	75.40	55.25	75.80
	CHCl ₃	23.01	54.42	25.04	52.85
	EtOAc	1.40	43.91	0.81	40.74
	n-BuOH	4.44	46.62	35.72	61.25
	MeOH	>100	>100	>100	>100
<i>A. sigmoideus</i>	Hekzan	27.71	59.40	31.72	61.32
	CHCl ₃	37.18	66.09	13.93	48.48
	EtOAc	3.48	40.67	33.18	>100
	n-BuOH	55.56	73.53	42.99	70.33
	MeOH	73.25	80.37	30.46	58.00

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez çalışması kapsamında, Endemik Bazı *Astragalus* Türlerinin (*A. dipsaceus* BUNGE, *A. karamasicus* BOİSS. & BAL., *A. sigmoideus* BUNGE) fitokimyasal analizi, antiproliferatif ve sitotoksik aktiviteleri incelendi. *Astragalus* türleri soğuk algınlığı, grip, enfeksiyon, çeşitli alerjiler, astım, kronik yorgunluk, kemoterapi ile ilişkili olarak iştah kaybı ve yorgunluk, anemi, kalp rahatsızlıkları, böbrek rahatsızlıkları, mide ülserleri, hepatit, genel hazım sorunları ve yaraların tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca halk arasında karaciğer koruyucu, antioksidan, immünostimülan ve antiviral özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır. Bu farmakolojik aktivitenin üç grup kimyasal maddeden kaynaklandığı saptanmıştır. Bunlar: poliholozitler, saponinler ve fenoliklerdir (Rios and Waterman 1997). Bu nedenle *Astragalus* türlerinin fitokimyasal analizleri ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi önem arz etmektedir.

1. *Astragalus* (AsD, Ask ve AsS) türleri sırasıyla hekzan, kloroform, etil asetat, n-bütanol ve metanol çözücülerinden sırasıyla geçirildi. Metanol ekstrelerinden elde edilen verimler diğer ekstrelere göre daha yüksek olduğu gözlemlendi.

AsD hekzan ekstresi 190,90 mg (% 0,38), kloroform ekstresi 184 mg (% 0,37), etil asetat ekstresi 44,50 mg (% 0,09), n-bütanol ekstresi 77 mg (% 0,15) ve **metanol ekstresi 1446,20 mg (% 2,89)** elde edildi. (Tablo 4.2).

AsK hekzan ekstresi 0,21 mg (% 0,41), kloroform ekstresi 0,22 mg (% 0,44), etil asetat ekstresi 0,14 mg (% 0,27), n-bütanol ekstresi 0,05 mg (% 0,10) ve **metanol ekstresi 1,39 mg (% 2,79)** elde edildi. (Tablo 4.2).

AsS hekzan ekstresi 403,40 mg (% 0,40), kloroform ekstresi 1044,20 mg (% 1,04), etil asetat ekstresi 1391 mg (% 1,39), n-bütanol ekstresi 472,70 mg (% 0,47) ve **metanol ekstresi 6355,50 mg (% 6,36)** elde edildi. Elde edilen en yüksek verimin (% 6,36) metanol ekstresinde olduğu tespit edildi (Tablo 4.2).

2. *Astragalus* (AsD, Ask ve AsS) türlerinin GC-MS analizleri doğrultusunda Palmitik asit (AsK hariç), Araşidik asit (AsK hariç), Behenik asit ve Nonakosan bileşenleri türlerin içeriğinde barındırdığı ortak ana bileşenleridir.

AsD heksan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, toplam 36 bileşen belirlendi. Bu bileşenlerden 14 tanesi doymuş yağ asidi, 2 tanesi çoklu doymamış yağ asidi ve 20 tanesi diğer bileşenlerdir (Tablo 4.3, Şekil 4.1). *A. dipsaceus* Bunge bitkisinin heksan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak **Nonakosan** (% 25.13), **Araşidik asit** (% 11.24), **Behenik asit** (% 9.04), **Palmitik asit** (% 8.99) ve Heptacosane (%7.79) olarak belirlendi.

AsK heksan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, toplam 19 bileşen belirlendi. Bu bileşenlerden 9 tanesi doymuş yağ asidi, 2 tanesi mono doymamış yağ asidi ve 8 tanesi diğer bileşenlerdir (Tablo 4.3, Şekil 4.1). *A. karamasicus* Boiss. & Bal. bitkisinin heksan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak **Araşidik asit** (% 16.32), **Nonakosan** (%12.72), 1-Hekzakosanol (%12,15), **Behenik asit** (%11.74), Oktakosan (%9,56), **Palmitik asit** (% 8.37) olarak belirlendi.

AsK heksan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, toplam 19 bileşen belirlendi. Bu bileşenlerden 6 tanesi doymuş yağ asidi, 2 tanesi çoklu doymamış yağ asidi ve 11 tanesi diğer bileşenlerdir (Tablo 4.3, Şekil 4.1).

A. sigmoideus Bunge bitkisinin heksan ekstralarının GC-MS analiz sonucunda, ana bileşen olarak γ - sitosterol (% 16.38), **Nonakosan** (%14.03), Linolenik asit (% 12.48), Heptakosan (% 9.40), Linoleik asit (% 9.16) ve **Behenik asit** (%8.90) ana bileşenler olarak tespit edildi.

3. *Astragalus* (AsD, Ask ve AsS) türlerinin HPLC-TOF/MS analizinde 25 adet fenolik bileşene bakıldı (Tablo 3.1). Türlerin kloroform ekstralarının de ferulik asit, etil asetat ekstralarında 4-hidroksibenzoik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit, n-bütanol ekstralarında gentsik asit, 4-hidroksibenzoik asit, sinnamik asit ve ferulik asit, metanol

ekstrelerinde gallik asit, gentisik asit, 4-hidroksibenzoik asit ve rutin fenolikleri ortak ana bileşen olarak gözlemlendi.

AsD **kloroform ekstresinde** ana bileşen olarak **ferulik asit, etil asetat ekstresinde** ana bileşen olarak **vanilik asit, n-bütanol ve metanol ekstrelerinde** ana bileşen olarak **rutin** gözlemlendi (Tablo 4.4, Şekil 4.2).

AsK **kloroform ve n-bütanol ekstrelerinde** ana bileşen olarak **sinnamik asit, etil asetat ekstresinde** ana bileşen olarak **vanilik asit, metanol ekstrelerinde** ana bileşen olarak **4-hidroksibenzoik asit** gözlemlendi (Tablo 4.4, Şekil 4.2).

AsS **kloroform ve etil asetat ekstrelerinde** ana bileşen olarak **4-hidroksibenzoik asit, n-bütanol ve metanol ekstrelerinde** ana bileşen olarak **rutin** gözlemlendi (Tablo 4.4, Şekil 4.2).

4. *Astragalus* (AsD, AsK ve AsS) türlerinin Hekzan, CHCl₃, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstrelerinin ve standart olarak kullanılan 5-FU nun C6 hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi (Tablo 4.5). Yapılan testler neticesinde tüm ekstrelerin doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi.

AsD hekzan, CHCl₃ ekstresinin de 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**. 100 µg/mL konsantrasyon da aktivite sırası ile: **CHCl₃ ekstresi > Hekzan ekstresi > EtOAc ekstresi > n-BuOH ekstresi > 5-FU > MeOH ekstresi** şeklindedir (Şekil 4.3).

AsK EtOAc ekstresinde C6 hücrelerine karşı 5-FU den tüm dozlarda (5 µg/mL konsantrasyon hariç) daha yüksek aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda, tüm ekstrelerde (metanol ekstresi hariç) **C6 hücrelerine karşı 5-FU' den daha yüksek aktivite gözlemlendi**. Ayrıca Hekzan 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: **EtOAc ekstresi**> **CHCl₃ ekstresi** > **n-BuOH ekstresi** ~ **Hekzan ekstresi** > **5-FU**> **MeOH ekstresi** şeklindedir (Şekil 4.4).

AsS EtOAc ekstresinde C6 hücresine karşı 5-FU den 20-100 µg/mL dozlarda daha yüksek aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda, tüm ekstrelerde (metanol ve hekzan ekstreleri hariç) **C6 hücresine karşı** 5-FU den daha yüksek aktivite gözlemlendi. Ayrıca CHCl₃ ve ekstresi çalışılan en yüksek iki dozda (75 ve 100 µg/mL) 5-FU den daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: **CHCl₃ ekstresi**~ **EtOAc ekstresi**> **n-BuOH ekstresi**> **5-FU**> **Hekzan ekstresi**> **MeOH ekstresi** şeklindedir (Şekil 4.5).

5. *Astragalus* (AsD, AsK ve AsS) türlerinin Hekzan, CHCl₃, EtOAc, n-Bütanol ve MeOH ekstrelerinin ve standart olarak kullanılan 5-FU'nun HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktiviteleri incelendi. Yapılan testler neticesinde tüm ekstrelerin doz artışına bağlı olarak aktivitelerinde artış gözlemlendi.

AsD CHCl₃ ekstresinde 100 µg/mL konsantrasyonda 5-FU'dan daha yüksek aktivite gözlemlendi. Ayrıca, CHCl₃ ekstresi hariç diğer tüm ekstrelerde **HeLa hücresine karşı** 5-FU den daha düşük aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: **CHCl₃ ekstresi**> **5-FU**> **EtOAc ekstresi**> **n-BuOH ekstresi**> **Hekzan ekstresi**> **MeOH ekstresi** şeklindedir (Şekil 4.6).

AsK tüm ekstrelerde **HeLa hücresine karşı** 5-FU den daha düşük aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyon da aktivite sırası ile: **5-FU**> **EtOAc ekstresi**> **CHCl₃ ekstresi** > **Hekzan ekstresi**~ **n-BuOH ekstresi**> **MeOH ekstresi** şeklindedir (Şekil 4.7).

AsS tüm ekstrelerde **HeLa hücresine karşı** 5-FU den daha düşük aktivite gözlemlendi. 100 µg/mL konsantrasyonda aktivite sırası ile: **5-FU**> **CHCl₃ ekstresi**> **EtOAc ekstresi**> **Hekzan ekstresi**> **n-BuOH ekstresi**> **MeOH ekstresi** şeklindedir (Şekil 4.8).

6. AsD, AsK ve AsS ekstrelerinden en yüksek aktivite gösteren ekstrelerin C6 hücresine karşı sitotoksik aktiviteleri belirlendi (Tablo 5.1). AsK EtOAc ekstresi hariç diğer tüm ekstreler 5-FU'dan daha düşük toksisiteye sahip oldukları gözlemlendi.

Tablo 5.1. AsD, AsK ve AsS ekstrelerinin C6 hücresine karşı sitotoksik aktivite sonuçları (100 µg/mL konsantrasyonda)

Bitki Adı	Ekstre Adı	% Toksikite
AsD	Hekzan	23
	CHCl ₃	27
	EtOAc	20
	n-BuOH	27
AsK	Hekzan	15
	CHCl ₃	3
	EtOAc	35
	n-BuOH	5
AsS	Hekzan	29
	CHCl ₃	31
	EtOAc	22
	n-BuOH	28
	5-FU	31

Sonuç olarak AsD, AsK ve AsS ekstrelerinin hücre seçici olarak C6 hücresine antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Aynı zamanda MeOH ekstreleri hariç tüm ekstrelerin 5-FU ile kıyaslandığında daha düşük toksisiteye sahip olduğu gözlemlendi.

AsD ve AsK hekzan ekstrelerinde palmitik asit ana bileşenlerden biri olarak tespit edildi. Aynı zamanda, AsD ve AsK hekzan ekstrelerinde C6 hücresine karşı 5-FU'dan oldukça yüksek antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Nagata et al., 2015 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, palmitik asitin, U266 hücre yaşayabilirliğini, 50 ile 1000 µM arasındaki dozlarda doza bağımlı olarak azalttığını tespit etmişlerdir. Apoptotik hücrelerin yüzdesinin, palmitik asit uygulanmasından 24 saat sonra arttığını gözlemlenmiştir. Bunun aksine, palmitik asitin normal periferik kandaki mononükleer

hücrelerin canlılığı üzerinde herhangi bir etkisi olmadığını belirlemişlerdir (Nagata et al., 2015).

Meyve çekirdeğinden (Ayoub et al., 2016), yer fıstığı derisinden (de Camargo et al., 2015) ve üzüm ekstresinden (de Camargo et al., 2014) elde edilen fenolik bileşenler DNA hasarına neden olan hem peroksil hem de hidroksil radikalini engelleme yeteğine sahiptirler. Fenolik bileşikler kullanarak DNA hasarının engellenmesi, kanser başlangıcına karşı olası bir önleyici mekanizmadır (de Camargo et al., 2014).

AsD **kloroform ekstresinde** ana bileşen olarak **ferulik asit** bulunmaktadır. Aynı zamanda, AsD kloroform ekstresi C6 hücresine karşı 5-FU dan oldukça yüksek antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Yapılan araştırmalara göre, ferulik asit ve p-kumarik asit, birçok doğal bitkide mevcut olduğu belirtilmektedir (Pan and Ho, 2008). Bu iki bileşenin zengin antioksidan aktivitesi ve tümör hücresi çoğalmasının bastırılması yoluyla tümör büyümesini engellediği rapor edilmiştir (Bufalo et al., 2013).

AsD ve AsS **n-bütanol ve metanol ekstrelerinde** ana bileşen olarak **rutin** belirlendi. AsD ve AsS **metanol ekstrelerinde** hem C6 hemde HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite belirlenemedi. Chen et al., 2016 yapmış oldukları bir çalışmada rutin HepG2, MCF-7 ve Caco-2 hücrelerine karşı 1000 µg/mL konsantrasyonda hiçbir antiproliferatif etkiye sahip olmadığını tespit etmişlerdir (Chen et al., 2016).

AsD ve AsK **etil asetat ekstrelerinde** ana bileşen olarak **vanilik asit** tespit edildi. Her iki ekstreninde C6 hücresine karşı 5-FU dan daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Yapılan bir patent incelemesinde, vanilik asidin iyi huylu prostatik hiperplaziyi etkili bir şekilde önleme, iyileştirme ve tedavi etme yeteneği araştırılmıştır. Vanilik asidin, prostat doku büyüklüğünü ve ağırlığını azalttığı tespit edilmiştir (Eom et al., 2017). Bir başka çalışmada vanilik asit içeriği ile meme ve prostat kanseri hücre yaşayabilirliğinin inhibisyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Spilioti et al., 2014). Bu, gözlenen antikanser aktivitenin ana bileşen olan vanilik asitten olabileceğini düşündürmektedir. Vanilik asit daha önce *in vitro* etkili bir anti kanser ajanı olduğu gösterilmiştir (Kumar et al., 2013).

AsK **kloroform ve n-bütanol ekstrelerinde** ana bileşen olarak **sinnamik asit** tespit edildi. Ayrıca kloroform ve n-bütanol ekstrelerinin C6 hücrelerine karşı 5-FU dan daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Sinnamik asit (beta-fenilakrilik asit olarak da bilinir) geleneksel Çin tıbbı tarçının ana maddesidir. 1995'in başlarında, Liu et al., sinnamik asitin tümör hücresi çoğalmasını inhibe edebildiği ve hücre farklılaşmasını indükleyebildiğini keşfetmişlerdir (Liu et al., 1995). Qi et al., 2016 yılında yapılan bir çalışma da, CNE2 NPC (nazofarenks karsinomu) hücrelerinin sinnamik asit ile muamele edilmesinin, hücre çoğalması oranını belirgin bir şekilde düşürdüğünü ve nükleer sitoplazmik oranı önemli derecede değiştirdiğini bulmuşlardır. Ayrıca, sinnamik asit tedavisi normal hücre morfolojisini kısmen restore edildiğini ve benign bir fenotipe doğru hücre farklılaşmasına yol açtığını tespit etmişlerdir. Akış sitometrik analizi 24 saat boyunca sinnamik asit ile CNE2 hücrelerinin tedavisinden sonra belirgin apoptozu ortaya çıkarmıştır. Sinnamik asit tedavisinden sonra erken apoptotik hücrelerin sayısı da artmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, sinnamik asit 'nin proliferasyonu engellediğini ve CNE2 hücrelerinin apoptozunu indüklediğini göstermektedir (Qi et al., 2016).

AsK **metanol ekstrelerinde** ve AsS **kloroform ve etil asetat ekstrelerinde** ana bileşen olarak **4-hidroksibenzoik asit** belirlendi. AsK metanol ekstresinde C6 ve HeLa hücrelerine karşı hiçbir aktivite gözlenmemiştir. AsS **kloroform ve etil asetat ekstrelerinde** ise C6 hücrelerine karşı 5-FU dan daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. 2011 ve 2012 yılında yapılan çalışmalarda, **p-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).

Sonuç olarak, endemik *A. dipsaceus* Bunge, *A. karamasicus* Boiss. & Bal., *A. sigmoideus* Bunge türlerinin C6 ve HeLa hücrelerine doza bağlı olarak antiproliferatif aktivitelerinde artış gözlenmiştir. Ayrıca C6 hücrelerine karşı *Astragalus* ekstrelerinde hücre seçici antiproliferatif aktivite tespit edilmiştir. Elde edilen antiproliferatif aktivite sonuçları fitokimyasal analiz sonuçları ile desteklenmiştir. Bununla birlikte, ekstrelerin düşük toksisite değerlerine sahip olduğu gözlenmiştir. Bu bağlamda, bu tez çalışması

tezde adı geçen *Astragalus* türlerinin daha ileri fitokimyasal analizleri için öncü bir çalışma niteliği taşımaktadır.



KAYNAKLAR

- Ayoub, M., de Camargo, A. C., Shahidi, F., 2016. Antioxidants and bioactivities of free, esterified and insoluble-bound phenolics from berry seed meals. *Food Chemistry*, 197, 221–232.
- Bone, K. 1993. Chronic fatigue syndrome and its herbal treatment. *British Journal of Phytotherapy*, 3(2), 55-59.
- Bufalo, M. C., Ferreira, I., Costa, G., Francisco, V., Liberal, J., Cruz, M. T., Lopes, M. C., Batista, M. T., Sforcin, J. M., 2013. Propolis and its constituent caffeic acid suppress LPS-stimulated pro-inflammatory response by blocking NF-kappaB and MAPK activation in macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 149, 84–92.
- Castillo, C., Valencia, I., Reyes, G., & Hong, E. 1992. [An analysis of the antihypertensive properties of 3-nitropropionic acid, a compound from plants in the genus *Astragalus*]. *Archivos del Instituto de Cardiologia de Mexico*, 63(1), 11-16.
- Çelenligil-Nazliel, H., Palali, A., Ayhan, A., & Ruacan, S. 2003. Analysis of in situ proliferative activity in oral gingival epithelium in patients with xerostomia. *Journal of periodontology*, 74(2), 247-254.
- Chen, C., Zhang, Y., Gao, Y., Xu, Q., Ju, X., Wang, L., 2016. Identification and anti-tumour activities of phenolic compounds isolated from defatted adlay (*Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf) seed meal. *Journal of Functional Foods*, 26, 394–405.
- Chen, L., Liao, J., & Guo, W. 1995. [Effects of *Astragalus membranaceus* on left ventricular function and oxygen free radical in acute myocardial infarction patients and mechanism of its cardiogenic action]. *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi= Chinese journal of integrated traditional and Western medicine/Zhongguo Zhong xi yi jie he xue hui, Zhongguo Zhong yi yan jiu yuan zhu ban*, 15(3), 141-143.
- Cui, X., Zarate, X., Tomfohr, J., Sankey, O., Primak, A., Moore, A. L., Lindsay, S. 2001. Making electrical contacts to molecular monolayers. *Nanotechnology*, 13(1), 5.
- de Camargo, A. C., Regitano-d'Arce, M. A. B., Biasoto, A. C. T., Shahidi, F., 2014. Low molecular weight phenolics of grape juice and winemaking byproducts: Antioxidant activities and inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein cholesterol and DNA strand breakage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(50), 12159–12171.
- de Camargo, A. C., Regitano-d'Arce, M. A. B., Gallo, C. R., Shahidi, F., 2015. Gamma-irradiation induced changes in microbiological status, phenolic profile and antioxidant activity of peanut skin. *Journal of Functional Foods*, 12, 129–143.
- Dural, H., Tugay, O., Ertuğrul, K., Uysal, T., & Demirelma, H. (2007). *Astragalus turkmenensis* (Fabaceae), a new species from Turkey. Paper presented at the *Annales Botanici Fennici*.
- 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*.
- El-Mawla, A.A., 2010. Production of cycloartane triterpene glycosides in shoot cultures of *Astragalus sieberi* DC. *Natural product research*, 24(5), 416-422.

- Eom, JY., Park, JB., Jung, YU., 2017. Composition for preventing and treating benign prostatic hyperplasia comprising vanillic acid as active ingredient. Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo 20pp. Patent KR 2015-107905.
- Foster, S. 1998. Astragalus: A superior herb. *Herbs for Health*, 40-41.
- Gupta, R. C. 2012. *Veterinary toxicology: basic and clinical principles*: Academic press.
- Hanje, A. J., Fortune, B., Song, M., Hill, D., & McClain, C. 2006. The use of selected nutrition supplements and complementary and alternative medicine in liver disease. *Nutrition in clinical practice*, 21(3), 255-272.
- Hikino, H., Funayama, S., & Endo, K. 1976. Hypotensive principle of Astragalus and Hedysarum roots. *Planta Medica (Germany, FR)*.
- Hu, L., Yu, T., & Jia, Z. 1996. [Experimental study of the protective effects of astragalus and salvia miltiorrhiza bunge on glycerol induced acute renal failure in rabbits]. *Zhonghua wai ke za zhi [Chinese journal of surgery]*, 34(5), 311-314.
- Huang, K. C. 1998. *The pharmacology of Chinese herbs*: CRC press.
- Ionkova, I. 1995. Astragalus species (Milk Vetch): in Vitro culture and the production of saponins, astragaline, and other biologically active compounds *Medicinal and Aromatic Plants VIII* (pp. 97-138): Springer.
- Kajimura, K., Takagi, Y., Ueba, N., Yamasaki, K., Sakagami, Y., Yokoyama, H., & Yoneda, K. 1996. Protective effect of astragali radix by oral administration against Japanese encephalitis virus infection in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 19(9), 1166-1169.
- Kemper, K. J., Small, R. 1999. Astragalus (Astragalus membranaceus). *Longwood Herbal Task Force*, 3, 1-18.
- Kim, S., Konar, A., Hwang, W.-S., Lee, J. H., Lee, J., Yang, J., . . . Choi, J.-Y. 2012. High-mobility and low-power thin-film transistors based on multilayer MoS₂ crystals. *Nature communications*, 3, 1011.
- Kumar, PPBS., Ammani, K., Mahammad, A., Gosala, J., 2013. Vanillic acid induces oxidative stress and apoptosis in non-small lung cancer cell line. *International Journal of Recent Scientific Research*, 4: 1077–1083.
- Li, L., Wang, H., & Zhu, S. 1995. [Hepatic albumin's mRNA in nephrotic syndrome rats treated with Chinese herbs]. *Zhonghua yi xue za zhi*, 75(5), 276-279, 319.
- Li, S., Yuan, R., & Gao, H. 1995. [Clinical observation on the treatment of ischemic heart disease with Astragalus membranaceus]. *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi= Chinese journal of integrated traditional and Western medicine/Zhongguo Zhong xi yi jie he xue hui, Zhongguo Zhong xi yan jiu yuan zhu ban*, 15(2), 77-80.
- 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.
- Lo, Y.-C., Che-Ming, T., Chieh-Fu, C., Chien-Chih, C., & Chuang-Ye, H. 1994. Magnolol and honokiol isolated from *Magnolia officinalis* protect rat heart mitochondria against lipid peroxidation. *Biochemical pharmacology*, 47(3), 549-553.
- Maddox, M. 2001. *For God and country: religious dynamics in Australian federal politics*: Department of the Parliamentary Library Canberra.
- McNicholl, A. G., Marin, A. C., Molina-Infante, J., Castro, M., Barrio, J., Ducons, J., . . . Bory, F. 2013. Randomised clinical trial comparing sequential and concomitant

- therapies for *Helicobacter pylori* eradication in routine clinical practice. *Gut*, gutjnl-2013-304820.
- Nagata, Y., Ishizaki, I., Waki, M., Ide, Y., Hossen, MA., Ohnishi, K., Miyayama, T., Setou, M., 2015. Palmitic acid, verified by lipid profiling using secondary ion massspectrometry, demonstrates anti-multiple myeloma activity. *Leukemia Research*, 39:638–645.
- Naghiloo, S., Movafeghi, A., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Asnaashari, S., & Dadpour, M. R. 2012. Ontogenetic variation of volatiles and antioxidant activity in leaves of *astragaluscompactus lam.*(Fabaceae). *EXCLI J*, 11, 436-443.
- Pan, MH., Ho, CT., 2008. Chemopreventive effects of natural dietary compounds on cancer development. *Chemical Society Reviews*, 37, 2558–2574.
- Panter, K., Hartley, W., James, L., Mayland, H., Stegelmeier, B., & Kechele, P. 1996. Comparative toxicity of selenium from seleno-DL-methionine, sodium selenate, and *Astragalus bisulcatus* in pigs. *Toxicological Sciences*, 32(2), 217-223.
- Polumbaum, J., Xiong, L. 2008. *China ink: The changing face of Chinese journalism*: Rowman & Littlefield.
- Qi, G., Chen, J., Shi, C., Wang, Y., Mi, S., Shao, W., Yu, X., Ma, Y., Ling, J., Huang, J., 2016. Cinnamic Acid (CINN) Induces Apoptosis and Proliferation in Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells. *Cell Physiol Biochem*, 40:589-596.
- Rios, J., Waterman, P. 1997. A review of the pharmacology and toxicology of *Astragalus*. *Phytotherapy Research*, 11(6), 411-418.
- Rittenhouse, J. R., Lui, P. D., & Lau, B. 1991. Chinese medicinal herbs reverse macrophage suppression induced by urological tumors. *The Journal of urology*, 146(2), 486-490.
- Rocha, LD., Monteiro, MC., Anderson, JT., 2012. Anticancer properties of hydroxycinnamic acids-A Review. *Cancer and clinical oncology* 1: 1927–4866.17.
- Shaker, K. H., Bernhardt, M., Elgamal, M. H. A., & Seifert, K. 2001. Triterpenoid saponins from *Astragalus trigonus*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 56(9-10), 699-702.
- Shirataki, Y., Takao, M., Yoshida, S., Toda, S. 1997. Antioxidative components isolated from the roots of *Astragalus membranaceus* Bunge (*Astragali Radix*). *Phytotherapy Research*, 11(8), 603-605.
- Simeonova, R., Vitcheva, V., Kondeva-Burdina, M., Krasteva, I., Manov, V., & Mitcheva, M. 2013. Hepatoprotective and antioxidant effects of saponarin, isolated from *Gypsophila trichotoma wend.* on paracetamol-induced liver damage in rats. *BioMed research international*, 2013.
- Spilioti, E., Jaakkola, M., Tolonen, T., Lipponen, M., Virtanen, V., Chinou, I., Kassi, E., Karabournioti, S., Moutsatsou, P., 2014. Phenolic Acid Composition, Antiatherogenic and Anticancer Potential of Honeys Derived from Various Regions in Greece. *Plos One*, 9:4, 1-10.
- Sun, Y., Hersh, E., Lee, S., McLaughlin, M., Loo, T., & Mavligit, G. 1982. Preliminary observations on the effects of the Chinese medicinal herbs *Astragalus membranaceus* and *Ligustrum lucidum* on lymphocyte blastogenic responses. *Journal of biological response modifiers*, 2(3), 227-237.
- Tanaka, T., Tanaka, T., Tanaka, M., 2011. Potential Cancer Chemopreventive Activity of Protocatechuic Acid. *J Exp Clin Med.*, 3: 27–33.

- Ünal, A., Kadioğlu, İ., Yanar, Y. 2014. Trabzon İli ve İlçelerindeki Mera Alanlarındaki Önemli Yabancı Ot Türleri ile Bunların Dağılımları ve Yoğunluklarının Belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2014(1).
- URL-1. <http://www.treknature.com/gallery/photo285228.htm> (Erişim tarihi: 28.02.2017)
- URL-2. http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2756 (Erişim tarihi: 28.02.2017)
- URL-3.
<http://www.turkiyebitkileri.com/index.php?dil=tr&id=2&familya=36&cins=194&tur=1430#image-23409> (Erişim tarihi: 28.02.2017)
- URL-4.
<http://www.turkiyebitkileri.com/index.php?dil=tr&id=2&familya=36&cins=194&tur=1430#image-23560> (Erişim tarihi: 28.02.2017)
- URL-5. http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2797 (Erişim tarihi:28.02.2017)
- URL-6. (http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2878) (Erişim tarihi:28.02.2017)
- URL-7.
(https://www.google.com.tr/search?q=A.+membranaceous&espv=2&biw=1440&bih=770&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiX66zAvLLSAhWEGCwKHdS YAJUQ_AUIBigB#imgcr=9XQxfBsEZBG6HM:) (Erişim tarihi:28.02.2017)
- Verotta, L. 2002. Are acylphloroglucinols lead structures for the treatment of degenerative diseases? *Phytochemistry Reviews*, 1(3), 389-407.
- Verotta, L., Guerrini, M., El-Sebakhy, N. A., Assad, A. M., Toaima, S. M., Radwan, M. M., Pezzuto, J. M. 2002. Cycloartane and oleanane saponins from Egyptian *Astragalus* spp. as modulators of lymphocyte proliferation. *Planta medica*, 68(11), 986-994.
- Wang, D., Shen, W., Tian, Y., Dong, Z., Liu, G., Sun, Z., Yang, S. 1995. Protective effect of total flavonoids of radix astragali on mammalian cell damage caused by hydroxyl radical. *China journal of Chinese materia medica*, 20(4), 240-242.
- Wang, L., Han, Z. 1991. [The effect of *Astragalus* polysaccharide on endotoxin-induced toxicity in mice]. *Yao xue xue bao= Acta pharmaceutica Sinica*, 27(1), 5-9.
- Weng, X. 1995. [Treatment of leucopenia with pure *Astragalus* preparation--an analysis of 115 leucopenic cases]. *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi= Chinese journal of integrated traditional and Western medicine/Zhongguo Zhong xi yi jie he xue hui, Zhongguo Zhong yi yan jiu yuan zhu ban*, 15(8), 462-464.
- Xu, H. X., Wan, M., Loh, B. N., Kon, O. L., Chow, P. W., Sim, K. Y. 1996. Screening of traditional medicines for their inhibitory activity against HIV-1 protease. *Phytotherapy Research*, 10(3), 207-210.
- Xuan, W., Dong, M., Dong, M. 1995. Effects of compound injection of *Pyrola rotundifolia* L and *Astragalus membranaceus* Bge on experimental guinea pigs'

- gentamicin ototoxicity. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*, 104(5), 374-380.
- Yao, X.-J., Wainberg, M. A., Parniak, M. A. 1992. Mechanism of inhibition of HIV-1 infection in vitro by purified extract of *Prunella vulgaris*. *Virology*, 187(1), 56-62.
- Zhang, W.-J., Wojta, J., Binder, B. R. 1997. Regulation of the fibrinolytic potential of cultured human umbilical vein endothelial cells: astragaloside IV downregulates plasminogen activator inhibitor-1 and upregulates tissue-type plasminogen activator expression. *Journal of vascular research*, 34(4), 273-280.
- Zhang, Y., Shen, J., Zhu, S., Huang, D., Ding, Y., & Zhang, X. 1991. [Effects of astragalus (ASI, SK) on experimental liver injury]. *Yao xue xue bao= Acta pharmaceutica Sinica*, 27(6), 401-406.
- Zhao, K., Kong, H. 1993. [Effect of Astragalan on secretion of tumor necrosis factors in human peripheral blood mononuclear cells]. *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi= Chinese journal of integrated traditional and Western medicine/Zhongguo Zhong xi yi jie he xue hui, Zhongguo Zhong yi yan jiu yuan zhu ban*, 13(5), 263-265, 259.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Murat TEMİRTÜRK
Doğum Yeri : Samsun / ÇARŞAMBA
Doğum Tarihi : 13 / 08 / 1991
Medeni Hali : Bekâr
Yabancı Dili : İngilizce
Adres : Yıldırım Beyazıt Mah. Tahirağa Sk. No:1 Daire:1
ÇERKEZKÖY/TEKİRDAĞ
Tel : 05379669744
E-posta : muratemirturk@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Pakize Narin Lisesi 2005-2009
Lisans : Çankırı Karatekin Üniversitesi 2010-2014
Yüksek Lisans : ÇKÜ Organik Kimya Anabilim Dalı 2014-2017

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl

- 1- Mavi Jeans - **Kimya Laborantı** Çerkezköy/ TEKİRDAĞ 16.10.2009-16.04.2010
- 2- Çankırı Şehit Erdem Öztürk Meslek ve Teknik Anadolu Lisesi - **Kimya Öğretmeni**
03.11.2015-22.01.2016
- 3- Çankırı Şehit Mehmet Ata *Mesleki* ve Teknik Anadolu *Lisesi* - **Kimya Öğretmeni**
03.11.2015-22.01.2016
- 4- Çankırı Mareşal Çakmak Ortaokulu - **Fen Bilimleri Öğretmeni** 10.02.2016-
17.06.2016

Sertifikalar

Nuclear Magnetic Resonance 600 MHz (Çankırı Karatekin Üniversitesi – Haziran 2015)

Thermo Scientif Flash 2000 Elemental Analyzer (Redoks Ltd.Şti – Haziran 2013)

HPLC-TOFF (SEM – Haziran 2013)

Mass Spectroscopy (SEM – Haziran 2013)

GC-MS (SEM – Haziran 2013)

ICP-MS (SEM – Haziran 2013)

Flash Chromatography (Çankırı Karatekin Üniversitesi – Haziran 2013)

FT-IR (Çankırı Karatekin Üniversitesi – Haziran 2013)

Uluslararası Kongreler

- 1- Melda Dölarslan, Ayse Sahin Yaglioglu, **Murat Temirtürk**, Ebru Gül, İbrahim Demirtaş, “Phytochemical Analysis of *Heliotropium lasiocarpum* subsp. *lasiocarpum* Fisch. Et Mey. (Boraginaceae)”, Fourth International Meeting on Pharmacy & Pharmaceutical Sciences (IMPPS-4), 18-21 September 2014, Marmara University Faculty of Pharmacy, Istanbul, Turkey.
- 2- 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 2RD International Convention Of Pharmaceuticals And Pharmacies, 27-29 November 2015, Haliç Congress Center, Istanbul/ Turkey
- 3- **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 2RD International Convention Of Pharmaceuticals And Pharmacies, 27-29 November 2015, Haliç Congress Center, Istanbul/ Turkey
- 4- 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 2RD International Convention Of Pharmaceuticals And Pharmacies, 27-29 November 2015, Haliç Congress Center, Istanbul/ Turkey
- 5- 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 2RD International Convention Of

Pharmaceuticals And Pharmacies, 27-29 November 2015, Haliç Congress Center, Istanbul/ Turkey.

- 6- **Murat TEMİRTÜRK**, Ayse Sahin YAGLIOGLU, Serhat URSAVAS, Muhammet OREN “The secondary metabolite profiles of *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp. Extract” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 7- **Murat TEMİRTÜRK**, Ayse Sahin YAGLIOGLU, Serhat URSAVAS, Muhammet OREN “The Extraction and Analysis of Phenolic and Lipophilic Compounds of *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook. & Taylor” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 8- **Murat TEMİRTÜRK**, Ayse Sahin YAGLIOGLU, Serhat URSAVAS, Muhammet OREN “The Phytochemical Analysis of *Thamnobryum alopecurum* (Hedw.) Nieuwl. ex Gangulee” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 9- Ayse Sahin YAGLIOGLU, Muhammet Şamil YAĞLIOĞLU, **Murat TEMİRTÜRK**, Duygu GÜNEŞ, Emic SARAY, Ibrahim DEMİRTAS “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.
- 10- Ayse Sahin YAGLIOGLU, Muhammet Şamil YAGLIOGLU, **Murat TEMİRTÜRK**, Duygu GÜNEŞ, Emic SARAY, Ibrahim DEMİRTAS “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.
- 11- Ayse Sahin YAGLIOGLU, İlknur ŞAHİN, **Murat TEMİRTÜRK**, Duygu GÜNEŞ, Emic SARAY “The Phytochemical Analysis Endemic *Dianthus ancyrensis* Hausskn. & Bornm. Extracts and Their Anticancer Activities” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.
- 12- Ayse Sahin YAGLIOGLU, İlknur ŞAHİN, **Murat TEMİRTÜRK**, Duygu GÜNEŞ, Emic 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.
- 13- Ayse Sahin YAGLIOGLU, İlknur ŞAHİN, **Murat TEMİRTÜRK**, Duygu GÜNEŞ, Emic 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.
- 14- Ayse Sahin YAGLIOGLU, Emic SARAY, **Murat TEMİRTÜRK**, Duygu GÜNEŞ, Ibrahim DEMİRTAS “The HPLC/TOF-MS Analysis of Endemic *Astragalus sigmoideus* Bunge extracts” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.

15- Ayse Sahin YAGLIOGLU, Emiç SARAY, **Murat TEMİRTÜRK**, Duygu GÜNEŞ, İbrahim DEMİRTAS “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.

16- Ayse Sahin YAGLIOGLU, Duygu GÜNEŞ, **Murat TEMİRTÜRK**, Emic SARAY, İbrahim DEMİRTAS “The Bioassay-guided Isolation of Secondary Metabolites of Endemic *Astragalus leucothrix* Freyn & Bornm.” SEAB2016 Symposium on EuroAsian Biodiversity, 23-27 May 2016, Antalya, Turkey.

PROJELER

TÜBİTAK Projeleri

TBAG -114Z198 Endemik Bazı *Astragalus* Türlerinin Biyojeokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi (2014-2017) **Bursiyer**

TUBİTAK-4006, Oksijenin Sabun Köpüğünü Arttırması, (2016) **Yürütücü**

Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)

Bazı Endemik *Astragalus* Türlerinin Fitokimyasal Analizi Ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi (2015-2016), Çankırı Karatekin Üniversitesi.