

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Analitik Kimya Anabilim Dalı

**ASTRAGALUS STELLA TÜRÜNÜN FİTOKİMYASAL ANALİZİ ÜZERİNE
FARKLI ÖZÜTLEME TEKNİKLERİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nilgün ORMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Cengiz SARIKÜRKÇÜ

Bu çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 24.LİS.003 proje numarası ile
desteklenmiştir.

2025-AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

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

Yüksek Lisans Öğrencisi:

Nilgün ORMAN

İmza:

Danışman:

Prof. Dr. Cengiz SARIKÜRKÜ

İmza:

KABUL VE ONAY

Prof. Dr. Cengiz SARIKÜRKÜ danışmanlığında Nilgün ORMAN tarafından hazırlanan “*Astragalus stella* Türünün Fitokimyasal Analizi Üzerine Farklı Özütleme Tekniklerinin Etkisinin Araştırılması” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalında **yüksek lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

26 / 06 / 2025

JÜRİ

Başkan: Prof. Dr. Mehmet Sabih ÖZER
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Cengiz SARIKÜRKÜ
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Bülent KIRKAN
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi

ONAY :

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

/ /

Prof. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Eğitim olanaklarımızı en üst seviyede oluşturan, kullanmamıza olanak sağlayan ve akademi yolculuğumda yanımda olan Anabilim Dalımızdaki tüm hocalarıma, özellikle Yüksek lisans tez projemin hazırlanması, yürütülmesi ve yazımının her aşamasında değerli bilgi ve önerileri ile beni yönlendirerek destek olan, yardımını esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Cengiz SARIKÜRKÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Koşulsuz sevgi ve destekleriyle her zaman ve her durumda yanımda olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Nilgün ORMAN

Afyonkarahisar, Haziran 2025

ASTRAGALUS STELLA TÜRÜNÜN FİTOKİMYASAL ANALİZİ ÜZERİNE FARKLI ÖZÜTLEME TEKNİKLERİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Nilgün ORMAN

**Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Analitik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi**

Ocak 2025

Danışman: Prof. Dr. Cengiz SARIKÜRKÜ

ÖZET

Bu çalışma, *Astragalus stella*'nın toprak üstü kısımlarından Soxhlet özütleme, maserasyon ve ultrasonik destekli özütleme teknikleriyle elde edilen metanol özütlerinin fitokimyasal profillerini, antioksidan kapasitelerini ve enzim inhibisyon aktivitelerini araştırmaktadır.

Maserasyon özütü hem toplam fenolik (20,67 mg GAE/g özüt) hem de toplam flavonoit (25,49 mg RE/g özüt) içerikleri açısından en yüksek miktarları sergilemiştir. LC-ESI-MS/MS yoluyla yapılan fitokimyasal analiz, 30 farklı bileşiğin varlığını ortaya koymuştur. Hesperidin, tüm özütleme yöntemlerinde yaklaşık 1000 µg/g özüt seviyesinde bulunarak tespit edilen ana bileşen olmuştur. Ayrıca, hiperosid, apigenin ve apigenin-7-glukozit önemli bileşenler olarak belirlenmiştir.

Antioksidan özellikleri, fosfomolibdenyum, DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP ve metal şelatlama testlerini içeren çok yönlü bir yaklaşımla değerlendirilmiştir. Bu testlerin çoğunda, maserasyon özütü, özellikle fosfomolibdenyum, CUPRAC ve FRAP testlerinde, ayrıca DPPH ve ABTS radikal süpürme testlerinde ve metal şelatlama testlerinde kayda değer yüksek aktivite göstererek üstün antioksidan kapasite sergilemiştir. Bağlı Antioksidan Kapasite İndeksi'ne (RACI) göre, maserasyon özütü 1.24 değeri ile en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterirken, soxhlet ve ultrasonik özütleri sırasıyla; -0.41 ve -0.83 negatif RACI değerleri sergilemiştir. Pearson korelasyon analizleri, toplam fenolikler ve toplam flavonoitler ile çeşitli antioksidan test sonuçları arasında güçlü bir pozitif korelasyon olduğunu ortaya koymuş ve bu bileşiklerin özütlerin antioksidan kapasitesine büyük olasılıkla temel katkıda bulunanlar olduğunu göstermiştir.

Enzim inhibisyon testleri, tüm özütlerin benzer asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyonu gösterdiğini ortaya koyarken, maserasyon özütü en yüksek α -amilaz inhibisyonunu gösterdi ve ultrasonik özütü diğer özütlere kıyasla en düşük tirozinaz inhibisyonunu sergiledi, ancak hiçbir özüt bu çalışmada kullanılan standartların inhibisyon kapasitesine ulaşamadı.

Elde edilen sonuçlar, özellikle maserasyon yöntemiyle elde edilen *Astragalus stella* bitkisi özütlerinin yüksek antioksidan özelliği ve α -amilaz inhibisyon aktivitesi sayesinde bu bitkinin ilaç, gıda ve kozmetik sektörlerinde değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Astragalus stella*, antioksidan aktivite, enzim inhibisyon, hiperosid, hesperidin

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF DIFFERENT EXTRACTION TECHNIQUES ON THE PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF *ASTRAGALUS STELLA*

Nilgün ORMAN

Afyonkarahisar Health Sciences University Institute of Graduate Education
Department of Analytical Chemistry MSc Thesis

January 2025

Supervisor: Prof. Cengiz SARIKÜRKÇÜ

ABSTRACT

This study explores the phytochemical profiles, antioxidant capacities, and enzyme inhibition activities of methanol extracts from the aerial parts of *Astragalus stella* using Soxhlet extraction, maceration, and ultrasonic-assisted extraction techniques.

The maceration extract exhibited the highest concentrations in terms of both total phenolic content (20.67 mg GAE/g extract) and total flavonoid content (25.49 mg RE/g extract). Phytochemical analysis via LC-ESI-MS/MS revealed the presence of 30 distinct compounds. Hesperidin was identified as the most abundant, present at approximately 1000 µg/g of extract across all extraction methods. Furthermore, hyperoside, apigenin, and apigenin-7-glucoside were significant constituents.

Antioxidant properties were assessed using a multifaceted approach, incorporating phosphomolybdenum, DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP, and metal chelating assays. In the majority of these tests, the maceration extract displayed superior antioxidant capacity, with notably high activity observed in phosphomolybdenum, CUPRAC, and FRAP assays, as well as DPPH and ABTS radical scavenging, and metal chelating assays. According to the RACI, the maceration extract exhibited the highest antioxidant activity with a value of 1.24, whereas the Soxhlet and ultrasonic extracts showed negative RACI values of -0.41 and -0.83, respectively. Pearson correlation analyses revealed a strong positive correlation between total phenolics and total flavonoids with various antioxidant test results, suggesting that these compounds are likely major contributors to the antioxidant capacity of the extracts.

The enzyme inhibition assays revealed that all extracts exhibited similar acetylcholinesterase (AChE) inhibition, while the maceration extract showed the highest α -amylase inhibition, and the ultrasonic extract displayed the lowest tyrosinase inhibition compared to other extracts, although none of the extracts matched the inhibition capacity of the standards used in this study.

The findings suggest that *A. stella* extracts, particularly those obtained by maceration, can be evaluated in the pharmaceutical, food, and cosmetics industries due to their high antioxidant properties and α -amylase inhibition activity.

Keywords: *Astragalus stella*, antioxidant activity, enzyme inhibition, hyperoside, hesperidin

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Fabaceae Familyası	3
2.2. <i>Astragalus</i> Cinsi.....	3
2.3. <i>Astragalus</i> Türleri Üzerine Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar.....	4
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	11
3.1. Bitkisel Materyal	11
3.2. Metanol Özütlerinin Hazırlanması	11
3.3. Enzim İnhibisyon Aktivite	12
3.3.1. Kolinesteraz İnhibisyon Aktivite	12
3.3.2. Tirozinaz İnhibisyon Aktivite	13
3.3.3. α -Amilaz İnhibisyon Aktivite	13
3.4. Antioksidan Aktivite	13
3.4.1. CUPRAC İndirgeme Gücü.....	14
3.4.2. FRAP İndirgeme Gücü.....	14
3.4.3. DPPH Radikal Süpürüm Aktivite	14
3.4.4. ABTS Katyon Radikal Süpürüm Aktivite.....	14
3.4.5. Fosfomolibdenyum Testiyle Toplam Antioksidan Aktivite	15
3.4.6. Demir (II) İyonları Şelatlama Kapasite.....	15
3.5. Metanol Özütlerinin Fenolik Bileşik İçerikleri	15
3.5.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Bileşik Analizi	15

3.5.2. LC-MS/MS ile Fitokimyasal Analiz	16
3.6. Bağlı Antioksidan Kapasite İndeksi (RACI).....	19
3.7. İstatistiksel Analizler.....	19
4. BULGULAR.....	20
4.1. Metanol Özüt Verimleri	20
4.2. Metanol Özütlerinin Fitokimyasal İçerikleri.....	20
4.3. Metanol Özütlerinin Antioksidan Aktiviteleri	24
4.4. Metanol Özütlerinin Bağlı Antioksidan Kapasite İndeksi	28
4.5. Metanol Özütlerinin Enzim inhibisyon Aktiviteleri	30
5. TARTIŞMA	33
5.1. Farklı Özütleme Teknikleriyle Metanol Özütlemesi.....	33
5.2. Metanol Özütlerinin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçerikleri.....	34
5.3. Metanol Özütlerinin LC-MS/MS ile Fitokimyasal İçerikleri.....	35
5.4. Metanol Özütlerinin Antioksidan ve Enzim İnhibisyon Aktiviteleri.....	37
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	41
7. KAYNAKLAR	43
EKLER.....	49
ÖZGEÇMİŞ	53

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
ABTS	2,2-azinobis (3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit)
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AD	Alzheimer hastalığı
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
ChE	Kolinesteraz
CUPRAC	Bakır (II) iyonları indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EC₅₀	Absorbansı 0.500 yapan örnek derişimi
EDTAEs	Etilendiamin tetraasetik asit disodyum tuzu eşdeğer
FRAP	Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç
GAEs	Gallik asit eşdeğer
GALAEs	Galantamin eşdeğeri
LC-ESI-MS	Elektron Spin İyonizasyon Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi
IC₅₀	%50 inhibisyon gösteren örnek derişimi
KAEs	Kojik asit eşdeğeri
MeOH	Metil alkol
ROS	Reaktif oksijen türleri
REs	Rutin eşdeğer
TEs	Troloks eşdeğer

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1: MRM negatif ve pozitif iyonizasyon modu ile hedef analitlerin analizi için ESI–MS/MS parametreleri ve analitik karakteristikler.....	17
Tablo 3.2: Yöntemin kalibrasyon eğrileri ve hassasiyet özellikleri	18
Tablo 4.1: Fitokimyasalların metanol özütlerdeki derişimleri (µg/g özüt)	23
Tablo 4.2: Metanol özütlerinin ve standartların antioksidan kapasiteleri	24
Tablo 4.3: Fitokimyasal içerik ile antioksidan testler arasındaki korelasyon	29
Tablo 4.4: Metanol özütlerinin ve standartların enzim inhibisyon aktiviteleri	30

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1: <i>Astragalus stella</i> bitkisinin doğadaki genel görünümü	11
Şekil 4.1: Bitkinin farklı özütleme teknikleriyle elde edilen özüt verimleri	20
Şekil 4.2: Gallik asit derişim-absorbans grafiğı	21
Şekil 4.3: Metanol özütlerinin toplam fenolik bileşik miktarları	21
Şekil 4.4: Rutin derişim-absorbans grafiğı	22
Şekil 4.5: Metanol özütlerinin toplam flavonoit bileşik miktarları	22
Şekil 4.6: Metanol özütlerinde bulunan ana fitokimyasalların açık yapıları	24
Şekil 4.7: Metanol özütlerinin toplam antioksidan aktiviteleri	25
Şekil 4.8: Metanol özütlerinin DPPH radikal süpürüm aktiviteleri.....	26
Şekil 4.9: Metanol özütlerinin ABTS katyon radikal süpürüm aktiviteleri.....	26
Şekil 4.10: Metanol özütlerinin CUPRAC indirgeme gücü kapasiteleri.....	27
Şekil 4.11: Metanol özütlerinin FRAP indirgeme gücü kapasiteleri.....	27
Şekil 4.12: Metanol özütlerinin demir (II) iyonları şelatlama kapasiteleri.....	28
Şekil 4.13: Metanol özütlerinin bağıl antioksidan kapasite indeksleri	29
Şekil 4.14: Metanol özütlerinin asetilkolin esterase inhibisyon aktiviteleri	31
Şekil 4.15: Metanol özütlerinin trozinaz inhibisyon aktiviteleri	31
Şekil 4.16: Metanol özütlerinin α -amilaz inhibisyon aktiviteleri	32

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Dünya genelinde ortalama yaşam süresinin artması ve yaşlanma olgusu, çeşitli sağlık problemlerini beraberinde getirerek sosyal ve ekonomik açıdan önemli bir sorun haline gelmiştir¹. Alzheimer hastalığının (AH) mevcut tedavisinde kullanılan asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri tek ilaç grubu olarak faydalı sonuçlar göstermekle birlikte, orta şiddetli AH vakalarında etkili olup yan etkileri sebebiyle yeni tedavi arayışları devam etmektedir¹. İnsan ömrünün uzamasıyla kronik hastalıkların (kanser, kardiyovasküler hastalıklar, AH vb.) görülme sıklığının artması, antioksidanlara olan ilgiyi artırmıştır (Howes ve ark., 2003; Ertaş ve ark., 2014).

Gıdaların raf ömrünü uzatmak ve bozulmalarını engellemek amacıyla kullanılan sentetik antioksidanlar (BHA, BHT, PG, TBHQ ve yan ürünleri), çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (Yamazaki ve ark., 2007). Bu durum, sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidan kaynaklarının araştırılmasını önemli hale getirmiştir¹. Antioksidanların, yaşlılarda yaygın olarak görülen Alzheimer hastalığının ilerlemesini yavaşlatabileceği düşünülmektedir¹. Bu nedenle, tüketiciler sağlıklarını koruma amacıyla doğal antioksidanlara yönelmektedirler (Ertas ve ark., 2015b). Ek olarak, son zamanlarda yapılan birçok bilimsel çalışma, bitkilerin bir dizi farmakolojik etkiye sahip fenolik bileşikleri ve biyolojik aktiviteleri üzerine odaklanmıştır (Ertas ve ark., 2015a).

Fabaceae familyasına ait *Astragalus*, geleneksel tıp açısından birçok önemli bitki türüne ev sahipliği yapan bir cinstir. Bu türlerin tarihsel geçmişi 2000-3000 yıl öncesine dayanmaktadır. Bu türler, dünyanın kurak veya ılıman bölgelerinde yaygın olarak dağılıp gösteren, yıllık veya çok yıllık bitkiler veya çalılardır (Li ve ark., 2014). Literatür verilerine göre, çok sayıda *Astragalus* türü depresyon semptomlarını hafifletmek için kullanılmaktadır. Ayrıca tonik ve/veya diüretik ajanlar olarak da kullanıldıkları bilinmektedir (Avunduk ve ark., 2008; Choudhary ve ark., 2008). Araştırmacılar, *Astragalus* türlerinin pek çok ilginç biyolojik aktiviteye sahip olduğunu öne sürmektedir. Bu aktiviteler arasında hepatoprotektif, bağışıklık sistemi güçlendirici ve antiviral aktiviteler özellikle ön planda yer almaktadır (Linnek ve ark., 2011). Özellikle vurgulamak gerekir ki, bu aktiviteler, *Astragalus* türlerinin içerdiği sekonder metabolitlerin varlığına bağlıdır. Özellikle; alkaloidler, saponinler, flavonoidler ve

antrakinonların biyolojik aktivitelerden sorumlu ana bileşikler olduğu düşünölmektedir (Ibrahim ve ark., 2013). Biyolojik aktivitelerine ek olarak, bazı *Astragalus* türlerinin içecek olarak da tüketildiğı bilinmektedir. Bu türler, zengin polisakkarit ve amino asit içerikleri nedeniyle tıp ve kozmetik endüstrilerinde de değerlidir (Li ve ark., 2014).

Bu çalışmada, literatürde üzerine fitokimyasal analizler konusunda herhangi bir araştırma yapılmamış olan *Astragalus stella* bitkisinin toprak üstü kısımlarının, Soxhlet, Maserasyon ve Ultrason-destekli özütleme gibi çeşitli özütleme yöntemleriyle elde edilen metanol özütlerinin antioksidan ve enzim inhibisyon aktivitelerinin ortaya çıkarılması ve bu özütlerin fitokimyasal bileşimlerinin Elektron Spin İyonizasyon Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (LC-ESI-MS/MS) ile belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fabaceae Familyası

Türkiye, 36°-42° kuzey enlemleri ve 26°-45° doğu boylamları arasında yer almakta olup, 780.576 km²'lik bir alanı kaplamaktadır. Bu coğrafi konum, Türkiye'yi floristik açıdan büyük bir öneme sahip bir ülke haline getirmektedir. Ülke, üç farklı fitocoğrafik bölgenin kesişim noktasında bulunması nedeniyle floristik çeşitlilik açısından zengin bir yapıya sahiptir. Türkiye, iklimsel ve topoğrafik çeşitlilikleri, jeolojik farklılıkları ve deniz, göl ve akarsu gibi sucul ortamlara sahip olmasıyla dikkat çekmektedir. Ayrıca, İran-Turan, Avrupa-Sibirya ve Akdeniz fitocoğrafik bölgelerinin birleşim bölgesi olarak, oldukça çeşitli ve zengin bir floraya sahiptir (Bozer, 2014).

Fabaceae (baklagiller) familyası, özellikle kuru ve yarı kurak iklimlerde yaygınlık gösteren bir bitki grubudur. Bu familya, başlıca otsu bitkilerden oluşmakla birlikte, çalı ve ağaç türlerine de yer vermektedir. Fabaceae üyeleri, çift çenekli bitkiler arasında önemli ekonomik katkılara sahip olup, buğdaygillerden sonra insan ve hayvan beslenmesinde en büyük önemi taşıyan familya olarak öne çıkmaktadır. Bunun yanı sıra, bu familya bitkileri, gıda üretimi dışında yağ, yakıt, gübre ve kereste gibi ürünlerin temininde de önemli bir rol oynamaktadır (Işık, 2012).

2.2. *Astragalus* Cinsi

Fabaceae familyasında yer alan *Astragalus* cinsi, dünya çapında en fazla türe sahip olan bir grup olup, Türkiye'de "Geven" olarak bilinmektedir. *Astragalus* türlerinin sayısı dünya genelinde yaklaşık 3.000 civarındadır ve bu türler, kurak ve yarı kurak bölgelerde yayılış göstermektedir. Bu cins, Avrasya, Kuzey ve Güney Amerika'nın yanı sıra Türkiye'nin güneydoğusunda ve Suriye'nin kuzey bölgelerinde de bulunmaktadır (Ekim, 1990). Türkiye'nin coğrafi konumu, iklim koşulları ve yüksek dağlık alanları, *Astragalus* cinsinin en zengin temsilcilerinden birine ev sahipliği yapmaktadır. Ülkemizde yaklaşık 515 *Astragalus* türü bulunmakta olup, bu türlerin yaklaşık %47'si endemik olup, çoğunluğu Anadolu'nun yüksek dağlarında yetişmektedir (Arslan, 2010; Güner, 2012; Kültür ve ark., 2019; Bilgi, 2023).

Astragalus türleri, tek yıllık veya çok yıllık, otsu veya odunsu, dikenli veya dikensiz formlarda olabilirler. Yaprakları paripinnat veya imparipinnat olup, nadiren 1-3 yaprakçıklı olabilir. Çiçekler, genellikle üst yaprağın koltuğunda yer alır ve sık, yoğun bileşik çiçekli bir yapıya sahiptir. Kaliks, tüpsü veya loplu, tüysüz ve çan şeklinde olabilirken, korolla genellikle beyaz, pembe, mor veya sarı renkte olup, kanatçık ve kayıkçıkları obtus yapılıdır (Kültür ve ark., 2019; Bilgi, 2023).

Astragalus cinsine ait bitkilerin tıbbi kullanımları oldukça geniştir. Yüzyıllardır Avrupa'da popüler bir tıbbi bitki olarak kullanılan bu türler, özellikle geleneksel Çin tıbbında ginseng, melekotu ve meyan kökü gibi bitkilerle birlikte, tonik çaylarının yapısında yer almaktadır. Ayrıca, *Astragalus*'un öz suyu, yatıştırıcı ve ishal önleyici özellikleri nedeniyle geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Bu yapışkan öz su, aynı zamanda diş hekimliği, tekstil ve gıda sanayilerinde de çeşitli endüstriyel uygulamalara sahiptir (Arslan, 2010; Bilgi, 2023).

2.3. *Astragalus* Türleri Üzerine Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Yapılan bir araştırmada, Avrupa'ya özgü iki *Astragalus* türü olan *Astragalus glycyphyllos* ve *Astragalus cicer*'in mineral içeriği, fitokimyasal bileşimi ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. *A. cicer* ve *A. glycyphyllos* türlerinin geleneksel tıpta ve gıda olarak kullanıldığı belirtilmiştir. Çalışmada, bitkilerin farklı büyüme evrelerindeki ve morfolojik fraksiyonlarındaki mineral dağılımları ve fitokimyasallar incelenmiş, ayrıca DPPH radikallerini süpürme ve demir iyonlarını şelatlama kapasiteleri değerlendirilmiştir. *A. glycyphyllos*'un demir, toplam fenolik ve flavonoidler açısından daha zengin olduğu, *A. cicer* özütlerinin ise daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Genç bitkilerin daha fazla izoflavon içerdiği ve daha iyi mineral profilleri sergilediği görülmüştür. Yaprakların incelenen özelliklerin çoğuna göre en değerli bitki materyali olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada ayrıca, hiçbir *Astragalus* örneğinde toksik indolizidin alkaloidi olan swainsonin tespit edilmemiştir (Butkutė ve ark., 2018).

Astragalus ponticus bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen metanol özütlerinin fenolik içeriğini, antioksidan aktivitesini ve enzim inhibisyon potansiyelinin incelendiği bir

çalışmada, bitkinin yapraklarının en yüksek toplam fenolik içeriğe (26.34 mg GAEs/g özüt) ve toprak üstü kısımlarının ise en yüksek toplam flavonoid içeriğine (49.13 mg REs/g özüt) sahip olduğunu ortaya konulmuştur. İn vitro antioksidan testlerinde, yaprak özütünün DPPH radikal süpürme, fosfomolibden testi, CUPRAC ve FRAP indirgeme gücü açısından en yüksek aktiviteyi gösterdiği, kök özütünün ise ABTS radikal katyon testinde en yüksek değeri kaydettiği belirlenmiştir. Ayrıca, tüm özütlerin AChE üzerinde zayıf inhibisyon gösterdiği, α -amilaz üzerinde orta düzeyde ve α -glukosidaz ile tirozinaz üzerinde orta ila güçlü inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada ayrıca, antioksidan aktivite ile toplam fenolik içerik ve luteolin konsantrasyonu arasında güçlü bir pozitif ilişki bulunmuştur (Arumugam ve ark., 2019).

Türkiye florasına endemik olan *Astragalus gymnolobus* ve *Astragalus leporinus* var. *hirsutus* türleri ile *Astragalus onobrychis* türünün metanol özütlerinin fitokimyasal bileşimlerini, antioksidan ve enzim inhibisyon aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada, *Astragalus* türünün özütlerinde bulunan fenolik ve flavonoid içerikleri belirlenmiş ve LC-ESI-MS/MS analizi ile hesperidin ve hyperoside gibi önemli bileşiklerin varlığı ortaya konmuştur (Sarıkurkcu ve ark., 2020b). Ayrıca, özütlerin antioksidan kapasiteleri farklı yöntemlerle (fosfomolibden, CUPRAC, FRAP, DPPH, ABTS, demir-II-iyonları şelatlama) değerlendirilmiş ve genel olarak *A. gymnolobus* ve *A. onobrychis* özütlerinin daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. *A. gymnolobus* (1.27 mg/mL) ve *A. onobrychis* (1.25 mg/mL) türleri tirozinaz inhibisyonunda etkili bulunurken, *A. leporinus* var. *hirsutus* türü α -amilaz inhibisyonunda (4.06 mg/mL) daha düşük aktivite göstermiştir. Çalışma, *Astragalus* türlerinin fitokimyasal içeriklerinin ve biyolojik aktivitelerinin detaylı bir şekilde incelenmesiyle, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde kullanım potansiyellerine dikkat çekmektedir (Sarıkurkcu ve ark., 2020b).

Astragalus macrocephalus subsp. *finitimus*'un farklı kısımlarının (toprak üstü, yapraklar, çiçekler, saplar ve kökler) polifenol profillerini ve biyolojik aktivitelerini karşılaştırmalı olarak incelendiği çalışmada, antioksidan (radikal süpürme, indirgeme gücü ve metal şelatlama) ve enzim inhibisyon (α -amilaz ve tirozinaz) etkileri değerlendirilmiştir (Sarıkurkcu ve Zengin, 2020a). Yaprak özütünün diğer kısımlara göre en güçlü antioksidan yeteneklere sahip olduğu bulunurken, çiçek özütünün en iyi metal şelatlama yeteneğini sergilediği belirlenmiştir. Hiperosit, apigenin, p-kumarik asit ve ferulik asit

gibi bileşiklerin, test edilen kısımlarda ana bileşenler olduğu tespit edilmiştir. Enzim inhibisyonu açısından, tirozinaz inhibisyonu 1.02 ile 1.41 mg/mL arasında değişirken, en iyi amilaz inhibisyonunun yapraklar (3.36 mg/mL) tarafından gösterildiği bulunmuştur (Sarikurkcı ve Zengin, 2020a).

Astragalus creticus bitkisi üzerine yapılan bir araştırma, bitkinin diklorometan ve metanol özütlerinin çeşitli biyolojik ve fitokimyasal özelliklerini ortaya koymuştur. Araştırmalar sonucunda, bitkide flavonoidler, saponinler, tanenler ve kardiyak glikozitler gibi ikincil metabolitler tespit edilmiştir. Metanol özütünden ise etil gallat, 1-triakontanoik asit, kuersimeritrin, kaempferol-7-O- β -D-glukopiranoz, mirisetin, kaempferol, betulinik asit, stigmasterol ve daukosterol gibi bileşikler izole edilmiştir. Bitkinin metanol özütü (ACWPM), *Staphylococcus aureus*'a karşı önemli antibakteriyel aktivite gösterirken, diklorometan özütü (ACWPD) *Bacillus subtilis*'e karşı daha aktif bulunmuştur. Her iki özüt de *Salmonella typhi* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı etkisizdir. Bitkinin antifungal aktivitesi düşük bulunmuştur. Ancak, metanol özütü (ACWPM), *Lemna minor*'a karşı yüksek fitotoksik aktivite (%92.68) gösterirken, anti-leishmaniyal aktivitesi düşüktür. Öte yandan, her iki özüt de α -glukozidaz enzim inhibisyonunda yüksek etkinlik göstermiştir. Metanol özütünün (ACWPM) aynı zamanda antioksidan aktiviteye de sahip olduğu bildirilmiştir (Ghaffari ve ark., 2021).

Astragalus membranaceus'un farklı coğrafi bölgelerden elde edilen köklerinin flavonoid içeriği ve antioksidan aktiviteleri üzerine araştırmaları içeren çalışmada, Çin'in Gansu, Shanxi, İç Moğolistan ve Heilongjiang bölgelerinden toplanan bitki örnekleri incelenmiştir. UHPLC-MS/MS analizi ile 34 farklı flavonoid tanımlanmış, bunların 13'ü metoksillenmiş flavonoid, 15'i flavonoid glikozit ve 6'sı flavonoldür. İç Moğolistan örneğinin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Çalışma, bitkilerin coğrafi kökeninin kimyasal bileşimlerini ve dolayısıyla biyoaktiviteyi etkilediğini göstermektedir. Antioksidan aktiviteler, ORAC, DPPH radikal süpürme ve hücre antioksidan aktivite testleri ile analiz edilmiştir. Sonuç olarak, *A. membranaceus*'un kalitesinin coğrafi kökeniyle ilişkili olduğu ve İç Moğolistan örneklerinin antioksidan kapasitesinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Bitkinin köklerinde bulunan fenoliklerin ve flavonoidlerin antioksidan ve yaşlanma karşıtı etkileri olduğu belirtilmiştir⁴. İç Moğolistan örnekleri, en yüksek fenolik ve flavonoid içeriğine sahipken, diğer

bölgelerden elde edilen örneklerde farklı flavonoidlerin yoğunluğu görülmüştür. Çalışmada ayrıca, *A. membranaceus*'un hücreler üzerindeki sitotoksik etkileri incelenmiş, 50 µg/mL'ye kadar olan konsantrasyonlarda herhangi bir sitotoksikite gözlenmemiştir (Sheng ve ark., 2021).

Samuel ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada, *Astragalus membranaceus*'un kökleri yanı sıra yaprakları ve yaprak çayının da biyoaktif bileşenlerini, antioksidan ve antibakteriyel aktivitelerini karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Çalışma, geleneksel olarak sadece kökleri kullanılan bu bitkinin yapraklarının da önemli biyoaktif bileşenlere sahip olduğunu ve değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Köklerin (DR), kuru yaprakların (DL) ve yaprak çayının (LT) içerdiği polisakkarit (POL), su ve etanolde çözünen ekstraktlar (WSE, ESE), toplam flavonoid içeriği (TFC), toplam fenolik içeriği (TPC), protein ve amino asit (AA) miktarları ölçülmüştür. Sonuçlara göre, kökler polisakkaritler açısından daha zengin olmasına rağmen, yapraklar ve yaprak çayı diğer biyoaktif bileşenler açısından daha üstündür. DL, daha fazla WSE, ESE, TFC, TPC ve protein içerirken; LT, daha fazla ESE, TFC, TPC ve AA içermektedir⁸. Antioksidan aktivite testlerinde, yapraklar ve yaprak çayının köklere kıyasla daha güçlü olduğu, hatta bazı konsantrasyonlarda C vitaminine (VC) yakın seviyelerde aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, DL ve LT'nin bazı bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği, LT'nin *Staphylococcus aureus* dışındaki tüm test edilen suşlara karşı etkili olduğu görülmüştür (Samuel ve ark., 2021).

Benslama ve ark. (2023) tarafından yapılan çalışmada, *Astragalus monspessulanus* bitkisinin fitokimyasal içeriğini, antioksidan, fotoprotektif ve antitirozinaz aktivitelerini incelemektedir. *Astragalus* cinsinin Fabaceae familyasındaki en büyük cins olduğu ve yaklaşık 3000 çiçekli bitki türünü içerdiği belirtilmektedir². Bu türlerin geleneksel tıpta tonik, diüretik, ter önleyici olarak ve diyabet, nefrit, lösemi, kanser ve rahim rahatsızlıklarının tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. *A. monspessulanus* türünün, yarı kurak ve kurak bölgelerde yaygın olduğu ve yapılan araştırmalar sonucunda hepatoprotektif ve antioksidan özelliklere sahip flavoalkaloidler ve flavonoidler içerdiği bulunmuştur. Çalışmada, CUPRAC tekniği ile *A. monspessulanus* özütünün antioksidan aktivitesi, BHT, BHA, askorbik asit ve trolox gibi referans moleküllerle karşılaştırılmış ve orta düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. HPLC-ESI-MS

analizi sonucunda, özütte kinik asit, gallik asit, p-kumarik asit, trans-ferulik asit, rutin, hiperosit, rosmarinik asit, apigenin-7-O-glukozit, kersitrin, kaempferol, naringenin, silimarin, apigenin, luteolin, cirsiliol ve cirsilineol gibi bileşikler tanımlanmıştır (Benslama ve ark., 2023).

Astragalus gymenolobus'un farklı kısımlarının (saplar, çiçekler, yapraklar, kök ve tüm bitki) metanol özütlerinin fitokimyasal bileşimini, sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal potansiyellerini araştırıldığı çalışma, hesperidin, hiperosit, p-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit ve p-kumarik asit gibi bileşiklerin özütlerde ana bileşenler olduğunu göstermiştir (Aydemir ve ark., 2024). Yaprak metanol özütünün, HeLa hücreleri üzerinde en yüksek sitotoksik etkiyi ($IC_{50} = 0.069 \mu\text{g/mL}$) gösterdiği tespit edilmiştir. *Streptococcus pyogenes*'in tüm özütlere karşı en duyarlı bakteri olduğu ve 9-11 mm inhibisyon zonu ve 8192 $\mu\text{g/mL}$ MIC değeri gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, hesperidinin HeLa hücrelerinde gözlemlenen sitotoksik etkiyle güçlü bir negatif korelasyon gösterdiği ve hedeflenen proteinlere en iyi bağlanma afinitesine sahip olduğu saptanmıştır (Aydemir ve ark., 2024).

Yapılan bir diğer çalışmada, Türkiye'ye özgü *Astragalus angustifolius* subsp. *pungens*, *Astragalus prusianus* ve *Astragalus zederbaueri* türlerinin kimyasal bileşimini, antioksidan ve enzim inhibisyon aktiviteleri araştırılmıştır. Bu üç *Astragalus* türünün geleneksel tıpta tedavi amaçlı kullanıldığı belirtilmektedir. Çalışmada, bitkilerin farklı ekstraksiyon yöntemleriyle (etil asetat, metanol, %70 metanol ve su) elde edilen özütleri incelenmiştir. *A. angustifolius*'un metanol özütünün en yüksek toplam fenolik (28.33 mg gallik asit eşdeğeri/g) ve flavonoid (66.59 mg rutin eşdeğeri/g) içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmada, kaempferol, rhamnetin, isorhamnetin ve quercetin içeren flavonol glikozitlerinin varlığı tespit edilmiştir. *A. angustifolius*'un metanol özütü, DPPH radikal süpürme, Cu^{2+} ve Fe^{3+} indirgeme kapasitesi açısından en yüksek aktiviteyi göstermiştir. *A. prusianus*'un %70 metanol özütü ise en yüksek metal şelatlama gücüne sahip bulunmuştur. Üç türün de metanol özütleri en yüksek AChE inhibisyonu gösterirken, *A. zederbaueri*'nin etil asetat özütü en yüksek BChE inhibisyonunu sergilemiştir. *A. zederbaueri*'nin etil asetat özütü aynı zamanda en yüksek anti-tirozinaz aktivitesine sahip bulunmuştur (Zengin ve ark., 2024).

Shahrivari-Baviloliaei ve ark. (2024) tarafından yapılan çalışmada, ticari *Astragalus membranaceus* örneklerinin fenolik bileşimini, antioksidan, antimikrobiyal ve enzim inhibisyon aktiviteleri incelenmiştir. *A. membranaceus*'un, geleneksel Çin tıbbında bağışıklık sistemini güçlendirmek ve çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için yaygın olarak kullanıldığı belirtilmiştir. Çalışmada, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak on farklı fenolik bileşik belirlenmiş ve her iki özütte de 80 µg/g DW üzerinde sadece kuarsetin bulunmuştur. En yüksek antioksidan aktivite, ABD'den elde edilen, gevşek formdaki kökleri içeren örnekte bulunmuştur. *A. membranaceus* özütlerinin *S. aureus*'a karşı 10-22 mm aralığında inhibisyon zonları gösterdiği, ancak *E. coli* için herhangi bir inhibisyon zonu gözlemlenmediği belirtilmiştir. *A. membranaceus* özütleri tirozinaz (TYR) üzerinde %40'ın altında bir inhibisyon oranı göstermiş, test edilen özütlerden sadece ikisi 30 µg/mL'nin üzerinde IC₅₀ değerleriyle butirilkolinesterazı (BChE) inhibe edebilmiştir. Çalışmada, fenolik bileşim ile antioksidan aktivite arasında güçlü bir pozitif ilişki olduğu görülmüştür (Shahrivari-Baviloliaei ve ark., 2024).

Liu ve ark. (2024) tarafından yapılan çalışma, fermantasyon ve enzimatik hidroliz (FEH) kombinasyonunun *Astragalus membranaceus* saplarının polifenol içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerini araştırmaktadır. *A. membranaceus* kökleri geleneksel Çin tıbbında yaygın olarak kullanılsa da saplarının da aktif bileşikler içerdiği ve antibiyotik alternatifi olarak kullanılabileceği belirtilmektedir. FEH'nin *A. membranaceus* saplarındaki polifenollerin ekstraksiyonu ve kullanımının iyileştirilmesi için etkili bir strateji olduğu görülmüştür. Çalışmada, selüloz ve pektinaz (1:1, 2000 U/g), %43 nem içeriği, 30 °C fermantasyon sıcaklığı ve 7 gün fermantasyon süresi ile en yüksek polifenol içeriği elde edilmiştir. %50 etanol konsantrasyonu, 500 W ultrasonik güç, 35 °C ekstraksiyon sıcaklığı ve 40 dakika ekstraksiyon süresi ile polifenol ekstraksiyonu için seçilen koşullar belirlenmiştir. FEH uygulanan (FAMSE) *A. membranaceus* saplarının, uygulanmayanlara (AMSE) göre polifenol ve flavonoid içeriği daha yüksek bulunmuştur. FAMSE, AMSE'ye göre daha güçlü DPPH, hidroksil radikali süpürme oranı ve indirgeme gücü sergilemiştir. FAMSE'de 3-(4-hidroksifenil)-propanoik asit, dihidroferulik asit, izoferulik asit, 4-hidroksibenzoik asit, 4-hidroksifenilaktik asit, ferulik asit, vanilik asit, şiringik asit, gentisik asit, sinapik asit, apigenin, trisin, akasetin, daidzein, genistein, formononetin, prunetin, pratensein, rhamnositrin ve galangin gibi

bileşiklerin göreceli içeriği önemli ölçüde artmıştır. Bu çalışma, FEH'nin *A. membranaceus* saplarından polifenol ekstraksiyonu ve antioksidan aktivitesini artırmak için umut verici bir yöntem olduğunu göstermektedir (Liu ve ark., 2024).

Aydemir ve ark. (2025) tarafından *Astragalus pisidicus* bitkisinin fitokimyasal ve biyolojik incelemelerinin yapıldığı çalışmada, Türkiye'ye özgü bir bitki türü olan *Astragalus pisidicus*'un çeşitli kısımlarından elde edilen özütlerin fitokimyasal içeriği, antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik özellikleri incelenmiştir. Çalışmada, bitkinin kök, sap, yaprak, çiçek ve tüm bitki kısımlarının su ve metanol özütleri kullanılarak 13 farklı fitokimyasal madde tespit edilmiştir¹. Hesperidin ve hiperosid özütlerde en yoğun bulunan bileşenler olarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, metanol özütleri bazı kanser hücreleri (H1299, HT-29, Panc-1) üzerinde aktif sitotoksik etki gösterirken, bazı kanser hücrelerinde (MCF-7, 22RV1) ise orta derecede aktif bulunmuştur. Bu özütlerin kanser hücrelerinde apoptozu tetiklediği ve hücre ölümünün kaspaz enzimlerinin aktivasyonu ve DNA parçalanması yoluyla gerçekleştiği tespit edilmiştir. Ayrıca metanol özütlerinin bazı gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *A. pisidicus* özütlerinin, özellikle yaprak özütlerinin, yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu da saptanmıştır (Aydemir ve ark., 2025).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

Astragalus stella L. bitkisinin toprak üstü kısımları, Muğla ili, Kavaklıdere ilçesi, Nebiler köyü tarla kenarlarından 01/06/2022 tarihinde 1000 m. rakımdan çiçeklenme zamanında toplandı (37° 28' 3" N, 28° 26' 8" E). Bitkinin botanik tanımlaması, Öğr. Gör. Dr. Olcay CEYLAN (Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Biyoloji Bölümü) tarafından yapıldı ve bitkinin bir örneği aynı bölümünün herbaryumunda O.1722 numaralı kod ile muhafaza altına alındı.



Şekil 3.1: *Astragalus stella* bitkisinin doğadaki genel görünümü

3.2. Metanol Özütlerinin Hazırlanması

Astragalus stella bitkisinin toprak üstü kısımları, doğrudan güneş ışığının olmadığı ve iyi hava akışının sağlandığı bir yerde birkaç hafta kurutuldu. Daha sonra bir laboratuvar tipi bir blender kullanılarak küçük parçalara kesildi ve ardından özütleme aşamasına kadar saklandı.

Özütleme işleminde çözücü olarak metil alkol kullanıldı. Özütleme işlemi, geleneksel yöntemlerden Soxhlet (SOE) ve Maserasyon (MAC) teknikleri yanında aynı zamanda modern tekniklerden Ultrasonik-destekli özütleme (UAE) tekniği kullanılarak gerçekleştirildi (Zengin ve ark., 2019). Her üç teknikte de 5 gram bitki materyali kullanıldı.

Soxhlet özütlemesi, soxhlet aparatıyla gerçekleştirildi. Maserasyon işlemi, 5 gram bitki örneğinin oda sıcaklığında 24 saat süresince 100 mL metanol içerisinde 150 rpm hızda karıştırılmasıyla yapıldı. Ultrason-destekli özütleme ise, yine 5 gram bitki örneğinin 100 mL metanol ile 30 °C’de ultrasonik banyoda muamele edilmesiyle elde edildi. Her üç özütleme tekniğinden elde edilen metanol özütleri düşük basınçlı vakum altında konsantre edildi ve elde edilen özütler, analizler yapılınca kadar +4 °C’de saklandı.

3.3. Enzim İnhibisyon Aktivite

Enzim inhibisyon testleri kapsamında, tirozinaz, α -amilaz ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimleri üzerine metanol özütlerinin inhibisyon aktiviteleri literatürde daha önce verilen yöntemler takip edilerek gerçekleştirildi (Zengin ve ark., 2015b; Kocak ve ark., 2016; Sarikurkcu ve ark., 2020a).

Enzim inhibisyon aktivite testlerinden elde edilen sonuçlar, ilgili enzimi %50 inhibe eden özüt derişimine karşılık gelen IC₅₀ cinsinden ifade edildi. Bunun yanı sıra, sonuçlar ilgili enzimi inhibe eden pozitif kontroller olan galantamin (GALAEs), kojik asit (KAEs) veya akarboz (ACAEs) eşdeğeri cinsinden de ifade edildi.

3.3.1. Kolinesteraz İnhibisyon Aktivite

Kolinesteraz inhibitör aktivite, Ellman metodu kullanılarak tespit edildi. Örnek çözeltisi (50.0 μ L), 96 kuyucuklu bir mikropalak içinde, tris-HCl tamponu (pH 8.0) içinde DTNB (125.0 μ L) ve AChE çözeltileri (25.0 μ L) ile karıştırılacak ve 25 °C’de 15 dk inkübe edildi. Reaksiyon daha sonra asetiltiyokolin iyodür (ATCI) (25.0 μ L) ilavesiyle başlatıldı. Benzer şekilde, enzim çözeltileri (AChE) olmadan tüm reaksiyon reaktiflerine numune çözeltisi ilave edilerek kör hazırlandı. Numune ve körün absorbansları, 25 °C’de 10 dk inkübasyondan sonra 405 nm’de okutuldu. Körün absorbansı örneğinkinden çıkartıldı.

3.3.2. Tirozinaz İnhibisyon Aktivite

Tirozinaz inhibitör aktivite, substrat olarak L-DOPA ile modifiye edilmiş bir dopakrom yöntemi kullanılarak ölçüldü. Örnek çözeltisi (25.0 µL), 96 kuyucuklu bir mikropalak içinde tirozinaz çözeltisi (40.0 µL) ve fosfat tamponu (100.0 µL, pH 6.8) ile karıştırılacak ve 25 °C'de 15 dk inkübe edildi. Reaksiyon daha sonra L-DOPA (40.0 µL) ilave edilerek başlatıldı. Benzer şekilde, tüm reaksiyon reaktiflerine enzim (tirozinaz) çözeltisi içermeyen örnek çözeltisi ilave edilerek kör hazırlandı. Örnek ve körün absorbansları, 25 °C'de 10 dk inkübasyondan sonra 492 nm'de okutuldu.

3.3.3. α-Amilaz İnhibisyon Aktivite

α-Amilaz inhibitör aktivite, Caraway-Somogyi iyot/potasyum iyodür (I/KI) yöntemi kullanılarak çalışıldı. Örnek çözeltisi (25.0 µL), 96 kuyucuklu mikropakta fosfat tamponu (6.0 mM sodyum klorür ile pH 6.9) içerisinde α-amilaz çözeltisi (50.0 µL) ile karıştırıldı ve 10 dk boyunca 37 °C'de inkübe edildi. Ön inkübasyondan sonra reaksiyon, nişasta çözeltisi (50.0 µL, % 0.05) ilave edilerek başlatıldı. Benzer şekilde, tüm reaksiyon reaktiflerine enzim (α-amilaz) çözeltisi içermeyen örnek çözeltisi ilave edilerek kör hazırlandı. Reaksiyon karışımı 10 dk 37 °C'de inkübe edildi. Reaksiyon daha sonra HCl (25.0 µL, 1.0 M) ilavesiyle durduruldu. Daha sonra, iyot-potasyum iyodür çözeltisi (100.0 µL) ilave edildi. Sonuçlar, örnek ve körün absorbansları, 630 nm'de okutulduktan sonra körün absorbansının örneğinkinden çıkartılarak hesaplandı.

3.4. Antioksidan Aktivite

Özütlerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesine yönelik gerçekleştirilen çalışmalarda, toplam antioksidan aktiviteleri fosfomolibdenyum testi kullanılarak analiz edildi (Zengin ve ark., 2015a). Demir (II) iyonları şelatlama analizi için Tepe ve ark. (2011) tarafından belirlenen yöntem uygulanmıştır. Özütlerin indirgeme potansiyelleri, sırasıyla Apak ve ark. (2006) ile Kocak ve ark. (2016) tarafından önerilen CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) ve FRAP (ferric reducing antioxidant power) testleri ile değerlendirilmiştir. Serbest radikal giderim aktiviteleri ise DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ve ABTS [2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazolone-6-sulphonic acid) radical cation] yöntemleri kullanılarak test edildi (Zengin ve ark., 2015a).

Antioksidan aktivite testlerinden elde edilen sonuçlar, IC₅₀ veya EC₅₀ değerleri olarak ifade edildi. IC₅₀ değeri, radikal süpürme ve demir (II) iyonları şelatlama testlerinde %50 etkinlik sağlayan özüt derişimini temsil etmektedir. EC₅₀ değeri ise, indirgeme gücü (CUPRAC ve FRAP) ve fosfomolibdenyum testlerinde 0.500 absorbans elde eden özüt derişimini ifade etmektedir. Ayrıca, sonuçlar pozitif kontroller olan troloks (TEs) ve etilendiamintetra asetik asit (EDTAEs) eşdeğerleri ile karşılaştırılarak sunuldu.

3.4.1. CUPRAC İndirgeme Gücü

Örneklerin CUPRAC testlerini gerçekleştirebilmek için CuCl₂ (1.0 mL, 10.0 mM), neocuproin (1.0 mL, 7.5 mM) ve NH₄Ac tamponuna (1.0 mL, 1.0 M, pH 7.0) 0.5 mL örnek çözeltisi eklendi. Benzer şekilde, önceden hazırlanmış reaksiyon karışımına (3.0 mL) CuCl₂ içermeyen örnek çözeltisi (0.5 mL) ilave edilerek kör hazırlandı. Daha sonra, örnek ve körün absorbansları, oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 450 nm'de ölçüldü.

3.4.2. FRAP İndirgeme Gücü

FRAP testi için, asetat tamponu (0.3 M, pH 3.6), 2,4,6-tris (2-piridil), 40.0 mM HCl içinde s-triazin (TPTZ) (10.0 mM) ve 10:1:1 (v/v/v) oranında FeCl₃ (20.0 mM) içeren önceden hazırlanmış FRAP reaktifine (2.0 mL) örnek çözeltisi (0.1 mL) ilave edildi. Daha sonra, örneğin absorbansı, oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 593 nm'de ölçüldü.

3.4.3. DPPH Radikal Süpürüm Aktivite

DPPH radikal giderim aktivitesini tespit edebilmek için, 4.0 mL %0.004 MeOH-DPPH çözeltisine 1.0 mL örnek çözeltisi ilave edildi. Örneğin absorbansı, karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dk inkübasyondan sonra 517 nm'de ölçüldü.

3.4.4. ABTS Katyon Radikal Süpürüm Aktivite

ABTS katyon radikali giderme aktivitesi için öncelikle ABTS radikal katyonu elde edildi. Söz konusu radikal, 7.0 mM ABTS çözeltisinin 2.45 mM potasyum persülfat ile reaksiyona sokulması ve karışımın oda sıcaklığında ve karanlıkta 12-16 saat

bekletilmesiyle elde edildi. Teste başlamadan önce, ABTS çözeltisi MeOH ile seyreltilerek 734 nm'de 0.700 ± 0.02 'lik bir absorbans sağlandı. ABTS çözeltisine (2.0 mL) örnek çözeltisi (1.0 mL) ilave edilerek karıştırıldı. Örneğin absorbansı, oda sıcaklığında 7 dakikalık inkübasyondan sonra 734 nm'de ölçüldü.

3.4.5. Fosfomolibdenyum Testiyle Toplam Antioksidan Aktivite

Örneklerin toplam antioksidan aktivitesi fosfomolibdenyum yöntemi ile test edildi. Örnek çözeltisi (0.2 mL), 2.0 mL reaktif çözeltisi (0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) ile karıştırıldı. Örnek absorbansı, 95 °C'de 90 dk inkübasyondan sonra 695 nm'de ölçüldü.

3.4.6. Demir (II) İyonları Şelatlama Kapasite

Özütlerin metal şelatlama aktivitelerinin tespiti için, FeCl₂ çözeltisine (0.05 mL, 2.0 mM) örnek çözeltisi (2.0 mL) ilave edildi. Reaksiyon, 5.0 mM ferrozin (0.2 mL) ilave edilerek başlatıldı. Benzer şekilde, FeCl₂ çözeltisine (0.05 mL, 2.0 mM) ve ferrozin içermeyen distile suya (0.2 mL) örnek çözeltisi (2.0 mL) ilave edilerek kör hazırlandı ve daha sonra, örnek ve körün absorbansları, oda sıcaklığında 10 dk inkübasyondan sonra 562 nm'de ölçüldü.

3.5. Metanol Özütlerinin Fenolik Bileşik İçerikleri

3.5.1. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoit Bileşik Analizi

Toplam flavonoit içeriğinin belirlenmesi amacıyla, örnek çözeltisi (1.0 mL) metanol içerisinde eşit hacimde %2.0 AlCl₃ ile karıştırıldı. Kontrol grubu olarak, AlCl₃ içermeyen 1.0 mL metanole örnek çözeltisi eklenerek bir boş kontrol hazırlandı. Örnek ve kontrolün absorbans değerleri, oda sıcaklığında 10 dakikalık bir inkübasyon süresinin ardından 415 nm dalga boyunda ölçüldü. Kontrolün absorbans değeri örneğin absorbans değerinden çıkarıldı ve toplam flavonoit içeriği rutin eşdeğeri (mg REs/g özüt) cinsinden hesaplandı (Sarikurkcü ve ark., 2020d).

Toplam fenolik bileşiklerin analizi için, örnek çözeltisi (0.25 mL) seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi (1.0 mL, 1:9) ile karıştırılarak kuvvetlice çalkalandı. Üç dakika sonra,

%1.0 Na₂CO₃ çözeltisi (0.75 mL) eklendi ve örneğin absorbanansı, oda sıcaklığında iki saatlik bir inkübasyon süresinin ardından 760 nm dalga boyunda ölçüldü. Toplam fenolik bileşik içeriği, gallik asit eşdeğeri (mg GAEs/g özüt) cinsinden hesaplandı (Sarikurkcü ve ark., 2020d).

3.5.2. LC-MS/MS ile Fitokimyasal Analiz

Metanol özütlerinin fenolik içerikleri, daha önce validasyonu yapılmış bir yöntemle Elektron Spin İyonizasyon Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (LC-ESI-MS/MS) kullanılarak analiz edildi (Cittan ve Çelik, 2018).

Kantitatif analizler için, Agilent Technologies 1260 Infinity sıvı kromatografi sistemine bağlı 6420 Triple Quad kütle spektrometresi kullanılmıştır. Kromatografik ayırma, Poroshell 120 EC-C18 (100 mm x 4.6 mm I.D., 2.7 µm) kolon ile gerçekleştirildi. Mobil faz olarak %0.1 formik asit (A çözücüsü)/metanol (B çözücüsü) karışımı kullanıldı ve bu karışımın birçok fenolik bileşik için yüksek hassasiyet sağladığı saptandı. Gradyan profili şu şekilde ayarlandı: 0. dk %2.0 B çözücüsü, 3. dk %2.0 B çözücüsü, 6. dk %25.0 B çözücüsü, 10. dk %50.0 B çözücüsü, 14. dk %95.0 B çözücüsü, 17. dk %95.0 B ve 17.5 dk %2.0 B çözücüsü. Kolon sıcaklığı 25 °C'de tutulmuş, akış hızı 0.4 ml/dk ve enjeksiyon hacmi 2.0 µL olarak ayarlanmıştır (Sarikurkcü ve ark., 2020a).

Tandem kütle spektrometresi (MS), bir ESI kaynağı yoluyla LC sistemine entegre edilmiştir. MS'in elektrosprey kaynağı, negatif ve pozitif MRM modunda çalıştırıldı; -3.5, -4 kV (NI modu) ve 3.5, 4 kV (PI modu) kapiler gerilim uygulandı. Kurutucu gaz sıcaklığı 300 °C, akış hızı 11 L/dk ve nebulizör basıncı 40 psi olarak ayarlandı. Negatif ve pozitif iyon modunda çalışan tüm bileşikler tek bir enjeksiyon ile analiz edildi.

MRM negatif ve pozitif iyonizasyon modu ile hedef analitlerin analizi için ESI-MS/MS parametreleri, analitik karakteristikler, kalibrasyon eğrileri ve hassasiyet özellikleri Tablo 3.1 ve Tablo 3.2'de verildi (Cittan ve Çelik, 2018).

Metanol özütlerindeki fenolik bileşiklerin pikleri, MRM modunda, orijinal bir standart fenolik türün iyon çiftlerinin monitörize edilmesiyle birlikte alıkonma süreleri karşılaştırılarak tanımlandı.

Tablo 3.1: MRM negatif ve pozitif iyonizasyon modu ile hedef analitlerin analizi için ESI-MS/MS parametreleri ve analitik karakteristikler

Hedef bileşikler	R _t (dk)	Öncül iyon	MRM1 (CE, V)	MRM2 (CE, V)
NI modu ile analiz edilen bileşikler				
Gallik asit	8.891	168.9 [M – H] [–]	125.0 (10)	–
Protokateşuik asit	10.818	152.9 [M – H] [–]	108.9 (12)	–
3,4-Dihidroksifenilasetik asit	11.224	167.0 [M – H] [–]	123.0 (2)	–
(+)-Kateşin	11.369	289.0 [M – H] [–]	245.0 (6)	202.9 (12)
Pirokatekol	11.506	109.0 [M – H] [–]	90.6 (18)	52.9 (16)
2,5-Dihidroksibenzoik asit	12.412	152.9 [M – H] [–]	109.0 (10)	–
4-Hidroksibenzoik asit	12.439	136.9 [M – H] [–]	93.1 (14)	–
Kafeik asit	12.841	179.0 [M – H] [–]	135.0 (12)	–
Vanilik asit	12.843	166.9 [M – H] [–]	151.8 (10)	122.6 (6)
Siringik asit	12.963	196.9 [M – H] [–]	181.9 (8)	152.8 (6)
3-Hidroksibenzoik asit	13.259	137.0 [M – H] [–]	93.0 (6)	–
Vanilin	13.397	151.0 [M – H] [–]	136.0 (10)	–
Verbaskosit	13.589	623.0 [M – H] [–]	461.0 (26)	160.8 (36)
Taksifolin	13.909	303.0 [M – H] [–]	285.1 (2)	125.0 (14)
Sinapik asit	13.992	222.9 [M – H] [–]	207.9 (6)	163.8 (6)
p-Kumarik asit	14.022	162.9 [M – H] [–]	119.0 (12)	–
Ferulik asit	14.120	193.0 [M – H] [–]	177.8 (8)	134.0 (12)
Luteolin 7-glukosit	14.266	447.1 [M – H] [–]	285.0 (24)	–
Rosmarinik asit	14.600	359.0 [M – H] [–]	196.9 (10)	160.9 (10)
2-Hidrosinamik asit	15.031	162.9 [M – H] [–]	119.1 (10)	–
Pinoresinol	15.118	357.0 [M – H] [–]	151.0 (12)	135.7 (34)
Eriyodiktiyol	15.247	287.0 [M – H] [–]	151.0 (4)	134.9 (22)
Kuersetin	15.668	301.0 [M – H] [–]	178.6 (10)	151.0 (16)
Kamferol	16.236	285.0 [M – H] [–]	242.8 (16)	229.1 (18)
PI modu ile analiz edilen bileşikler				
Klorojenik asit	11.802	355.0 [M + H] ⁺	163.0 (10)	–
(-)-Epikateşin	12.458	291.0 [M + H] ⁺	139.1 (12)	122.9 (36)
Hesperidin	14.412	611.1 [M + H] ⁺	449.2 (4)	303.0 (20)
Hiperosit	14.506	465.1 [M + H] ⁺	303.1 (8)	–
Apigenin 7-glukosit	14.781	433.1 [M + H] ⁺	271.0 (18)	–
Luteolin	15.923	287.0 [M + H] ⁺	153.1 (34)	135.1 (36)
Apigenin	16.382	271.0 [M + H] ⁺	153.0 (34)	119.1 (36)

R_t, Alikonma zamanı; NI, negatif iyon; PI, pozitif iyon

Tablo 3.2: Yöntemin kalibrasyon eğrileri ve hassasiyet özellikleri

Bileşikler	Doğrusallık ve duyarlılık özellikleri				
	Aralık (µg/L)	Doğrusal denklem	R ²	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
Gallik asit	5-500	y=4.82x-26.48	0.9988	1.46	4.88
Protokateşuik asit	2.5-500	y=5.65x-9.99	0.9990	1.17	3.88
3,4-Dihidroksifenilasetik asit	5-500	y=5.13x-12.39	0.9990	1.35	4.51
(+)-Kateşin	10-500	y=1.45x+1.95	0.9974	3.96	13.20
Pirokatekol	25-400	y=0.11x-0.52	0.9916	9.62	32.08
Klorojenik asit	1-500	y=12.14x+32.34	0.9995	0.55	1.82
2,5-Dihidroksibenzoik asit	5-500	y=3.79x-14.12	0.9980	2.12	7.08
4-Hidroksibenzoik asit	5-500	y=7.62x+22.79	0.9996	1.72	5.72
(-)-Epikateşin	5-500	y=9.11x-9.99	0.9971	1.85	6.18
Kafeik asit	5-500	y=11.09x+16.73	0.9997	3.15	10.50
Vanilik asit	10-500	y=0.49x-1.61	0.9968	2.56	8.54
Siringik asit	10-500	y=0.74x-1.54	0.9975	3.75	12.50
3-Hidroksibenzoik asit	5-500	y=3.69x-12.29	0.9991	1.86	6.20
Vanilin	50-500	y=2.02x+135.49	0.9926	15.23	50.77
Verbaskosit	2.5-500	y=8.59x-28.05	0.9988	0.82	2.75
Taksifolin	5-500	y=12.32x+9.98	0.9993	1.82	6.05
Sinapik asit	5-500	y=2.09x-6.79	0.9974	2.64	8.78
p-Kumarik asit	5-500	y=17.51x+53.73	0.9997	1.93	6.44
Ferulik asit	5-500	y=3.32x-4.30	0.9992	1.43	4.76
Luteolin 7-glukosit	1-500	y=45.25x+ 156.48	0.9996	0.45	1.51
Hesperidin	5-500	y=5.98x+0.42	0.9993	1.73	5.77
Hiperosit	2.5-500	y=16.32x-1.26	0.9998	0.99	3.31
Rosmarinik asit	1-500	y=9.82x-17.98	0.9989	0.57	1.89
Apigenin 7-glukosit	1-500	y=21.33x-31.69	0.9983	0.41	1.35
2-Hidrosinamik asit	1-500	y=16.72x-26.94	0.9996	0.61	2.03
Pinoresinol	10-500	y=0.80x-2.69	0.9966	3.94	13.12
Eriyodiktiyol	2.5-500	y=14.24x-0.50	0.9998	0.80	2.68
Kuersetin	5-500	y=14.68x-18.25	0.9997	1.23	4.10
Luteolin	5-500	y=8.96x+26.80	0.9992	1.34	4.46
Kamferol	10-500	y=0.82x-3.06	0.9959	3.30	10.99
Apigenin	2.5-500	y=11.29x+38.05	0.9987	0.96	3.20

LOD: Limit of Detection (tespit sınırı) LOQ: Limit of Quantification (ölçüm sınırı)

3.6. Bağıl Antioksidan Kapasite İndeksi (RACI)

Bağıl Antioksidan Kapasite İndeksi (RACI) değerleri, antioksidan aktivitelerin karşılaştırılabilirliğini sağlamak açısından önemlidir. Farklı antioksidan testleri, çeşitli mekanizmalarla çalıştıkları için (örneğin radikal süpürme, indirgeme gücü, şelatlama aktivitesi) elde edilen sonuçların doğrudan karşılaştırılması mantıksal olarak doğru değildir. RACI değerleri, bu testlerden elde edilen sonuçların bir araya getirilmesiyle, farklı örneklerin antioksidan kapasitelerini nicel bir şekilde değerlendirmeye olanak tanır.

RACI değerleri, her bir test için numunelerin ortalama ve standart sapma değerlerinin hesaplanmasıyla elde edildi. Bu sayede, farklı testlerden elde edilen sonuçların bir bütün olarak değerlendirilmesi mümkün hale geldi. Ayrıca, RACI değerleri ile antioksidan aktiviteleri arasındaki korelasyonun belirlenmesi, araştırmalarda daha derinlemesine analizler yapma imkanı sunar. Sonuç olarak, RACI değerleri, antioksidan kapasitenin daha iyi anlaşılmasını ve karşılaştırılmasını sağlayarak, besinlerin ve bitkisel özütlerinin sağlık üzerindeki potansiyel etkilerini değerlendirmede kritik bir rol oynar (Sun ve Tanumihardjo, 2007; Petrovic ve ark., 2016).

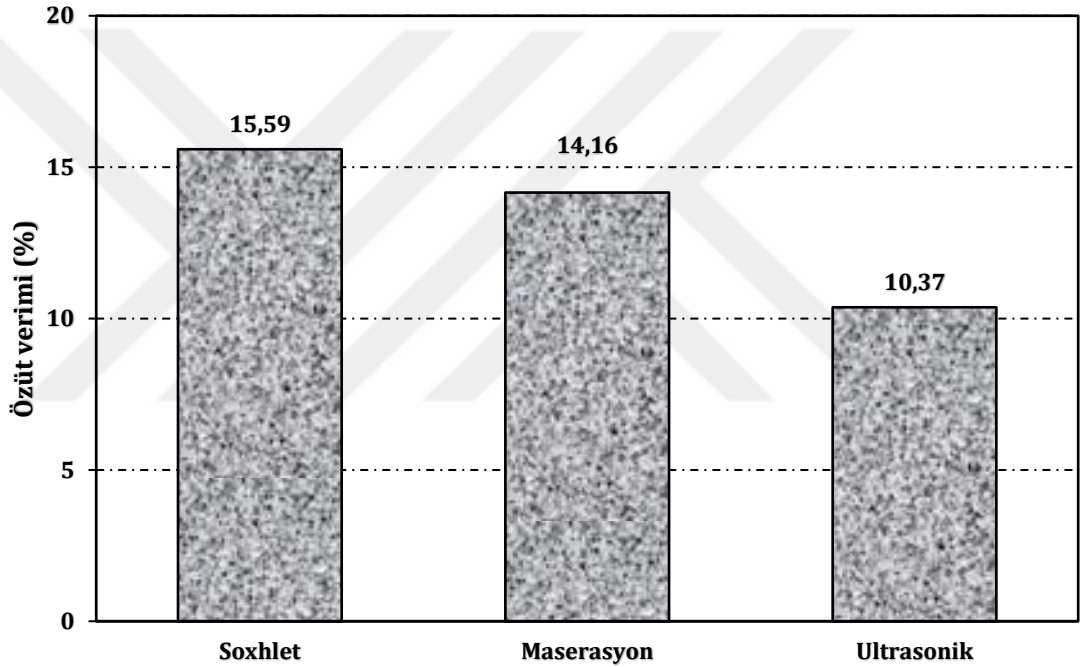
3.7. İstatistiksel Analizler

Sonuçların bilimsel güvenilirliğini artırmak amacıyla, tüm testler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Sonuçlar, ortalama değer ve standart sapma (ortalama $\pm$ SS) şeklinde verildi. Veriler arasındaki istatistiksel benzerlik ve farklılıkları belirlemek için Tukey testi uygulandı ve anlamlılık düzeyi $\alpha = 0.05$ olarak kabul edildi. Ayrıca, temel fitokimyasal gruplar olan fenolikler ve flavonoidlerin antioksidan aktivite ile ilişkisini ortaya çıkarmak amacıyla, SPSS v. 22.0 programı kullanılarak Pearson korelasyon analizleri de gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

4.1. Metanol Özüt Verimleri

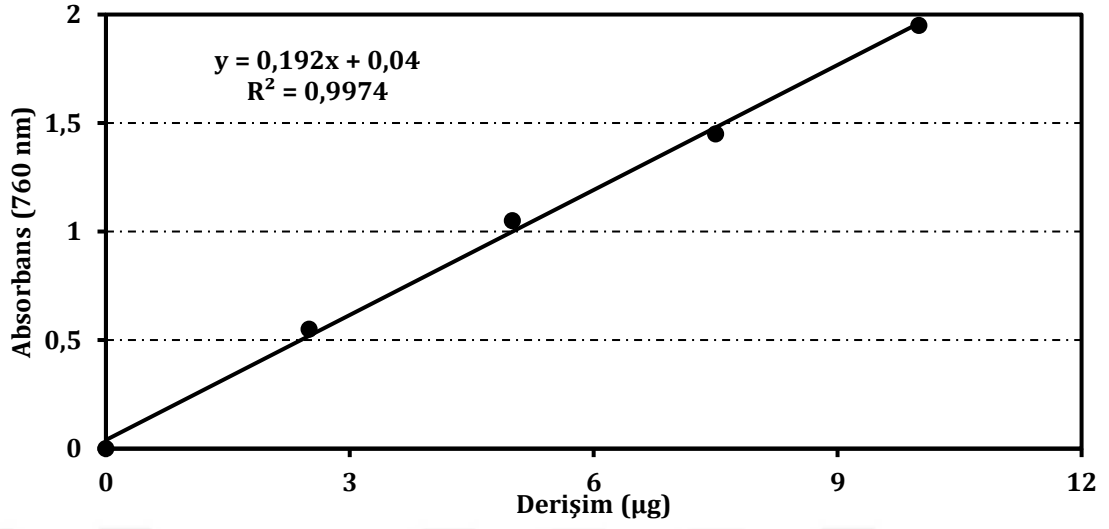
Astragalus stella bitkisinin toprak üstü kısımlarından farklı özütleme teknikleriyle elde edilen metanol özütlerinin özüt verimleri Şekil 4.1’de verilmiştir. Elde edilen özüt verimleri karşılaştırıldığında, Soxhlet tekniğinin en yüksek verimi (%15,59) sağladığı görülmektedir. Buna ilaveten Maserasyon tekniği %14,16 ve Ultrasonik-destekli teknik ise, %10,37 özüt verimi sağlamıştır.



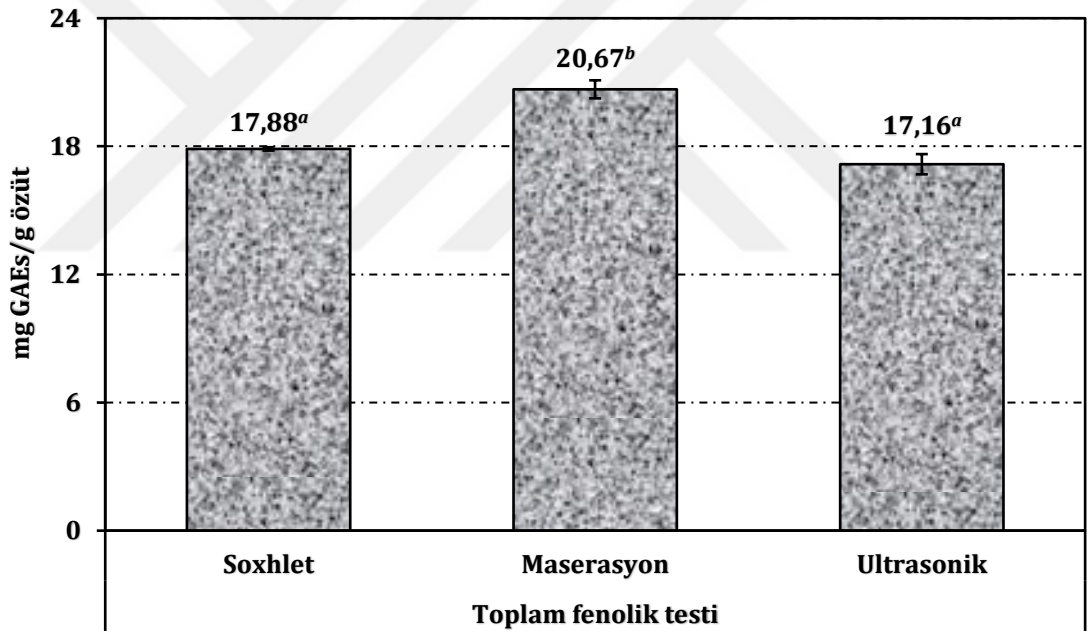
Şekil 4.1: Bitkinin farklı özütleme teknikleriyle elde edilen özüt verimleri

4.2. Metanol Özütlerinin Fitokimyasal İçerikleri

Metanol özütlerinin öncelikle toplam fenolik ve toplam flavonoit içerikleri belirlenmiştir. Özütlerin toplam fenolik içerikleri, Şekil 4.2’deki gallik asit derişim-absorbans grafiğinden elde edilen denklem yardımıyla gallik asit eşdeğer (mg GAEs/g özüt) olarak hesaplanarak sonuçlar Şekil 4.3’te verilmiştir. Metanol özütlerinin toplam fenolik bileşik miktarları değerlendirildiğinde, yine Maserasyon özütünün en yüksek değerde (20,67 mg GAE/g özüt) olduğu belirlenmiştir. Soxhlet (17,88 mg GAE/g özüt) ve Ultrasonik (17,16 mg GAE/g özüt) özütleri daha düşük miktarlarda fenolik bileşik içermektedir.

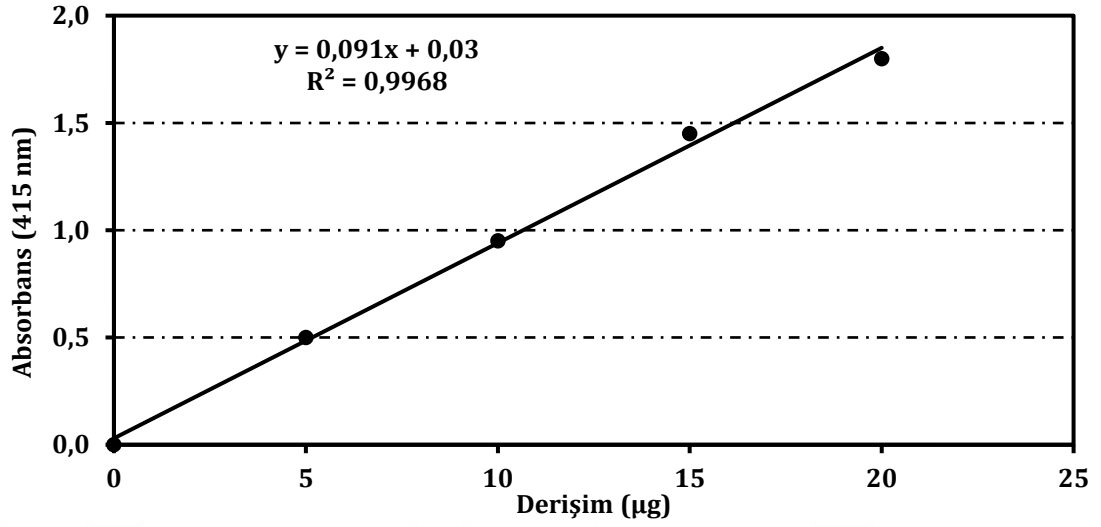


Şekil 4.2: Gallik asit derişim-absorbans grafiği

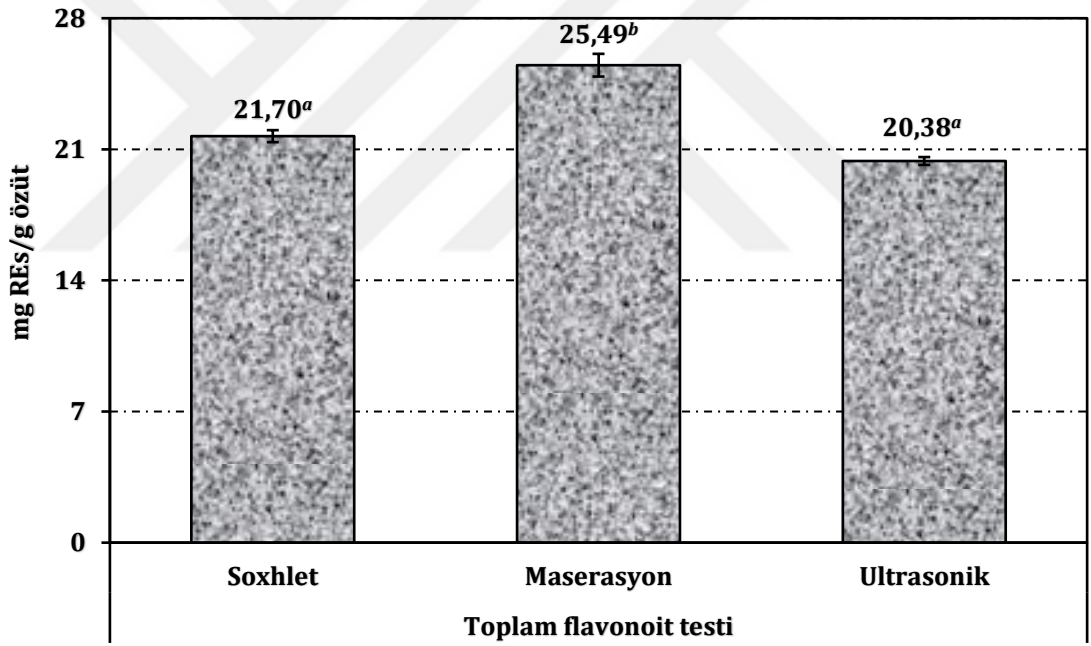


Şekil 4.3: Metanol özütlerinin toplam fenolik bileşik miktarları

Özütlerin toplam flavonoit içerikleri, Şekil 4.4'teki rutin derişim-absorbans grafiğinden elde edilen denklem yardımıyla rutin eşdeğer (mg REs/g özüt) olarak hesaplanarak sonuçlar Şekil 4.5'te verilmiştir. Yine Maserasyon özütünün 25,49 mg RE/g özüt ile en yüksek değere sahip olduğu, onu Soxhlet (21,70 mg RE/g özüt) ve Ultrasonik (20,38 mg RE/g özüt) özütlerinin izlediği görülmektedir.



Şekil 4.4: Rutin derişim-absorbans grafiği



Şekil 4.5: Metanol özütlerinin toplam flavonoit bileşik miktarları

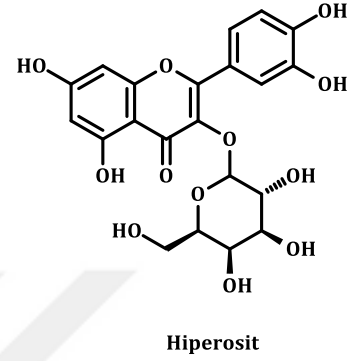
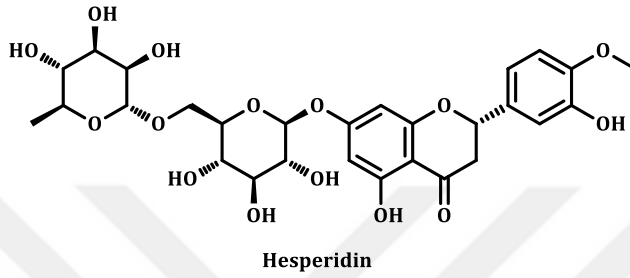
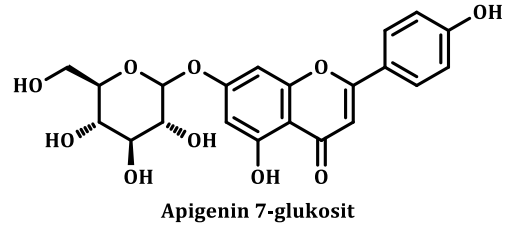
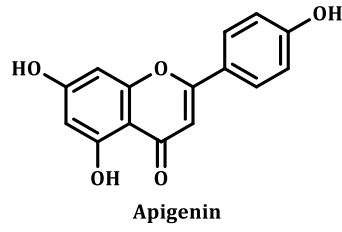
Metanol özütlerinin sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ile yapılan fenolik içerik analizinde, toplamda 30 fitokimyasalın varlığı ve miktarları araştırılmıştır. Sonuçlar Tablo 4.1’de verilmiştir. Özütlerde ana bileşenler olarak hesperidin, hiperosit, apigenin ve apigenin-7-glukozit saptanmıştır (Şekil 4.6). Hesperidin en yüksek derişimde bulunan fitokimyasal olup, tüm özütleme tekniklerinde yaklaşık 1000 µg/g özüt seviyesinde bulunmuştur. Hiperosit ise, yaklaşık 140-146 µg/g özüt derişim aralığında

tespit edilmiştir. Apigenin-7-glukozit (81,3-90,3 µg/g özüt) ve Apigenin (71,5-83,9 µg/g özüt) gibi flavonoidler de önemli miktarlarda bulunmuştur. Apigenin'in miktarı Ultrasonik özütte en yüksektir. Diğer önemli fitokimyasallar arasında p-kumarik asit (35,8-40,3 µg/g özüt), klorojenik asit (21,5-28,4 µg/g özüt), vanilin (27,2-32,0 µg/g özüt), ferulik asit (22,2-28,5 µg/g özüt), 4-hidroksibenzoik asit (16,7-21,7 µg/g özüt), kafeik asit (3,73-13,11 µg/g özüt) ve luteolin (11,2-12,2 µg/g özüt) yer almaktadır. Gallik asit, pirokatekol, 3,4-dihidroksifenilasetik asit, (+)-kateşin, (-)-epikateşin, 3-hidroksibenzoik asit, verbascoside, taxifolin, rosmarinik asit, luteolin 7-glukozit, 2-hidroksisinnamik asit, eriodiktiol ve kaempferol gibi fitokimyasallar ise tespit edilememiştir.

Tablo 4.1: Fitokimyasalların metanol özütlerdeki derişimleri (µg/g özüt)

No	Fitokimyasal adı	Soxhlet	Maserasyon	Ultrasonik-destekli
1	Hesperidin	1054±1 ^b	1008±5 ^a	1000±1 ^a
2	Hiperosit	146±1 ^b	144±2 ^{ab}	140±1 ^a
3	Apigenin 7-glukosit	81,3±0,2 ^a	81,3±1,6 ^a	90,3±1,0 ^b
4	Apigenin	71,5±0,7 ^a	77,7±0,5 ^b	83,9±0,6 ^c
5	p-Kumarik asit	37,3±0,1 ^b	35,8±0,3 ^a	40,3±0,3 ^c
6	Klorojenik asit	28,4±0,1 ^c	24,6±0,7 ^b	21,5±0,6 ^a
7	Vanilin	27,8±0,5 ^a	27,2±0,1 ^a	32,0±0,6 ^b
8	Ferulik asit	25,3±0,2 ^b	22,2±0,3 ^a	28,5±0,2 ^c
9	4-Hidroksibenzoik asit	17,3±0,4 ^a	16,7±0,1 ^a	21,7±0,4 ^b
10	Kafeik asit	13,11±0,05 ^c	3,73±0,12 ^a	5,28±0,18 ^b
11	2,5-Dihidroksibenzoik asit	12,8±0,1 ^a	14,9±0,6 ^b	13,0±0,3 ^a
12	Luteolin	11,8±0,2 ^b	12,2±0,1 ^b	11,2±0,3 ^a
13	Protokateşuik asit	8,34±0,34 ^a	8,46±0,02 ^a	8,85±0,19 ^a
14	Sinapik asit	4,94±0,16 ^a	5,49±0,08 ^b	5,31±0,01 ^{ab}
15	Siringik asit	4,44±0,32 ^a	4,60±0,14 ^a	6,25±0,15 ^b
16	Kuersetin	4,53±0,14 ^c	2,01±0,21 ^a	3,13±0,12 ^b
17	Pinoresinol	1,79±0,02 ^a	5,89±0,31 ^c	3,60±0,02 ^b
18	Gallik asit	nd	nd	nd
19	Pirokatekol	nd	nd	nd
20	3,4-Dihidroksifenilasetik asit	nd	nd	nd
21	(+)-Kateşin	nd	nd	nd
22	(-)-Epikateşin	nd	nd	nd
23	3-Hidroksibenzoik asit	nd	nd	nd
24	Verbaskosit	nd	nd	nd
25	Taksifolin	nd	nd	nd
26	Rosmarinik asit	nd	nd	nd
27	Luteolin 7-glukosit	nd	nd	nd
28	2-Hidroksisinnamik asit	nd	nd	nd
29	Eriyodiktiyol	nd	nd	nd
30	Kamferol	nd	nd	nd

Aynı satırda aynı üst simgelerle işaretlenen değerler arasında istatistiksel fark yoktur. nd: tespit edilemedi.



Şekil 4.6: Metanol özütlerinde bulunan ana fitokimyasalların açık yapıları

4.3. Metanol Özütlerinin Antioksidan Aktiviteleri

Metanol özütlerinin antioksidan aktiviteleri, fosfomolibdenyum, DPPH ve ABTS radikal süpürme testleri, CUPRAC ve FRAP indirgeme testleri ile demir (II) iyonları şelatlama testleri aracılığıyla belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, demir (II) iyonları şelatlama ve radikal süpürme testleri (DPPH radikali ve ABTS katyon radikali) için örneklerin IC₅₀ (mg/mL) değerleri, indirgeme gücü testleri (CUPRAC ve FRAP) ve fosfomolibdenyum testi için ise, özütlerin EC₅₀ (mg/mL) değerleri hesaplanmış olup, bu değerler Tablo 4.2'de sunulmuştur.

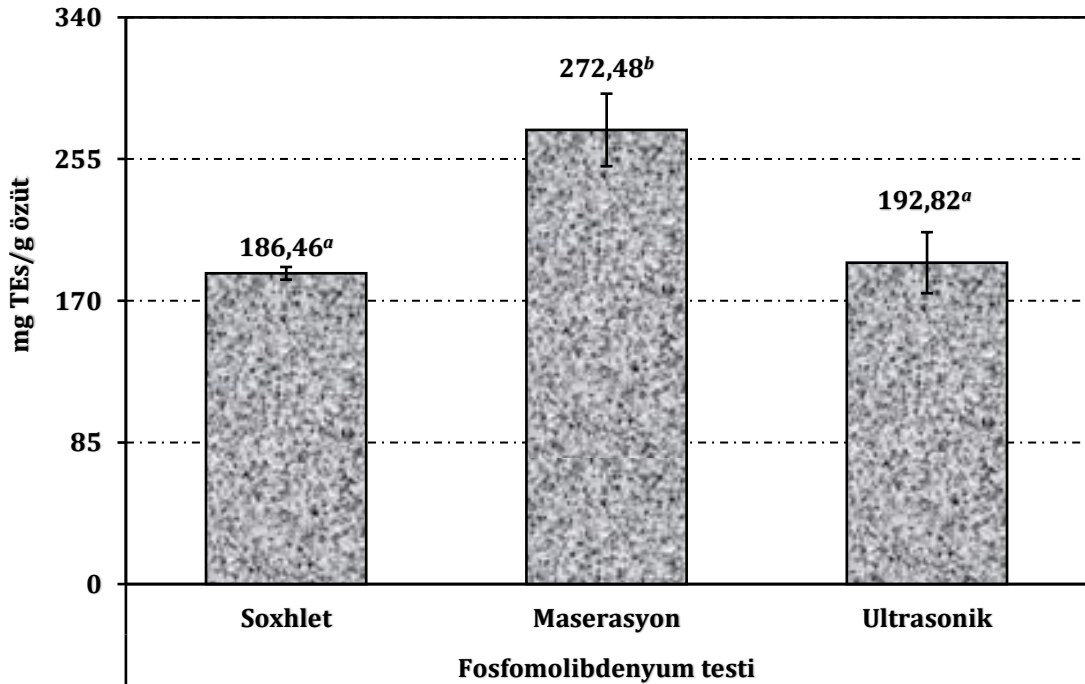
Tablo 4.2: Metanol özütlerinin ve standartların antioksidan kapasiteleri

Testler	Sohxlet	Maserasyon	Ultrasonik	Trolox	EDTA
Fosfomolibdenyum (EC ₅₀ : mg/mL)	2,63±0,05 ^c	1,80±0,14 ^b	2,55±0,24 ^c	0,48±0,05 ^a	-
CUPRAC indirgeme (EC ₅₀ : mg/mL)	2,01±0,02 ^c	1,62±0,01 ^b	2,29±0,01 ^d	0,12±0,01 ^a	-
FRAP indirgeme (EC ₅₀ : mg/mL)	1,46±0,01 ^c	1,22±0,01 ^b	1,63±0,01 ^d	0,044±0,002 ^a	-
DPPH radikal süpürüm (IC ₅₀ : mg/mL)	5,85±0,05 ^c	3,84±0,06 ^b	6,41±0,23 ^d	0,057±0,002 ^a	-
ABTS radikal süpürüm (IC ₅₀ : mg/mL)	2,09±0,04 ^c	1,75±0,03 ^b	2,28±0,02 ^d	0,10±0,01 ^a	-
Metal şelatlama (IC ₅₀ : mg/mL)	1,66±0,06 ^c	1,12±0,01 ^b	1,66±0,02 ^c	-	0,032±0,002 ^a

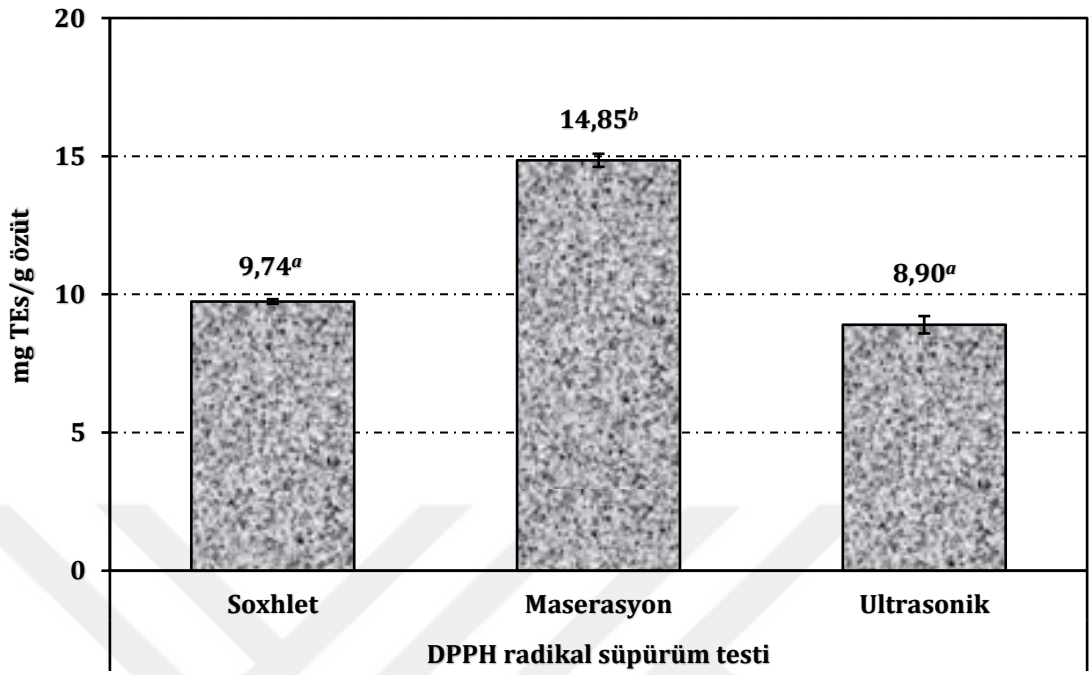
Aynı satırda, aynı üst simgelerle (a, b ve c) işaretlenen değerler arasında istatistiksel bir fark yoktur.

Fosfomolibdenyum testinde, Maserasyon özütü (1,80 mg/mL) en yüksek aktiviteyi gösterirken, Soxhlet ve Ultrasonik özütleri benzer değerler göstermiştir (sırasıyla 2,63 ve 2,55 mg/mL). CUPRAC testinde de benzer şekilde, Maserasyon özütü (1,62 mg/mL) diğerlerinden daha yüksek aktivite göstermiştir. FRAP testinde de benzer bir sonuç elde edilmiş, Maserasyon özütünün (1,22 mg/mL) en yüksek antioksidan aktiviteyi sergilediği bulunmuştur. DPPH ve ABTS radikal süpürme testlerinde ise Maserasyon özütü, diğer özütlerle göre daha yüksek aktivite göstermiştir. DPPH testinde, Maserasyon özütü 3,84 mg/mL değerine sahipken, Soxhlet 5,85 mg/mL ve Ultrasonik 6,41 mg/mL değerine sahiptir³. ABTS testinde de Maserasyon özütü 1,75 mg/mL iken, Soxhlet 2,09 mg/mL ve Ultrasonik 2,28 mg/mL olarak bulunmuştur. Metal şelatlama testinde de Maserasyon özütü (1,12 mg/mL) en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Genel olarak Maserasyon özütünün, test edilen antioksidan aktivitelerin çoğunda daha yüksek kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir.

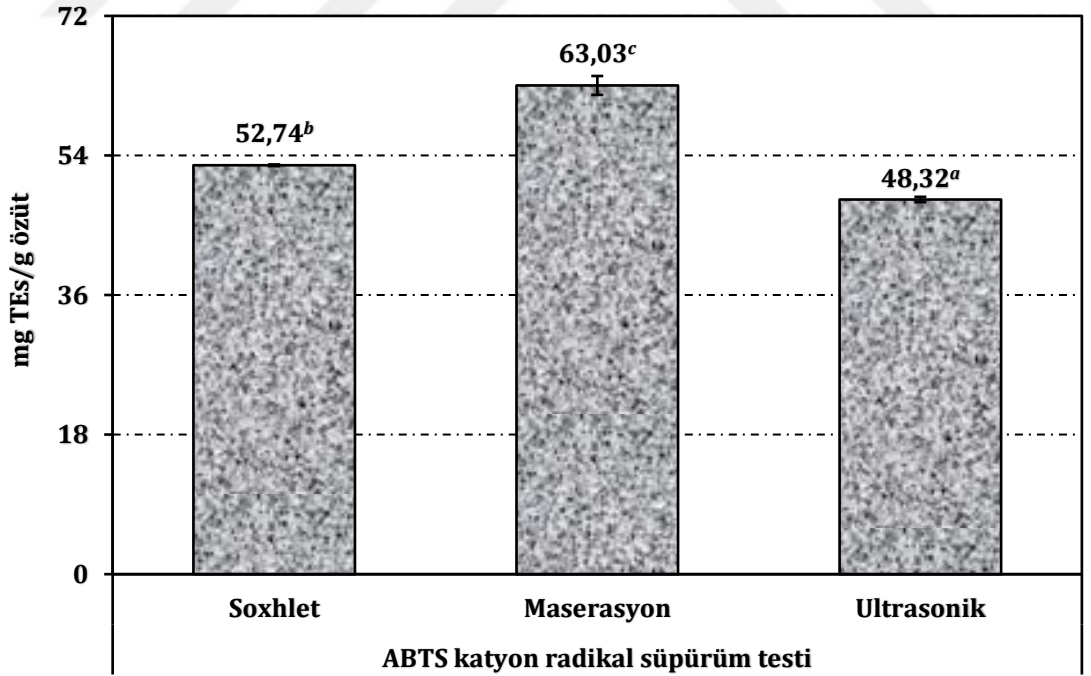
Ayrıca, her bir test sisteminde kullanılan pozitif kontrolle (metal şelatlama testi için EDTA, diğer testler için troloks) karşılaştırılarak özütün gramı başına elde edilen sonuçlar (mg standart/g özüt), Şekiller 4.7-4.10'da verilmiştir.



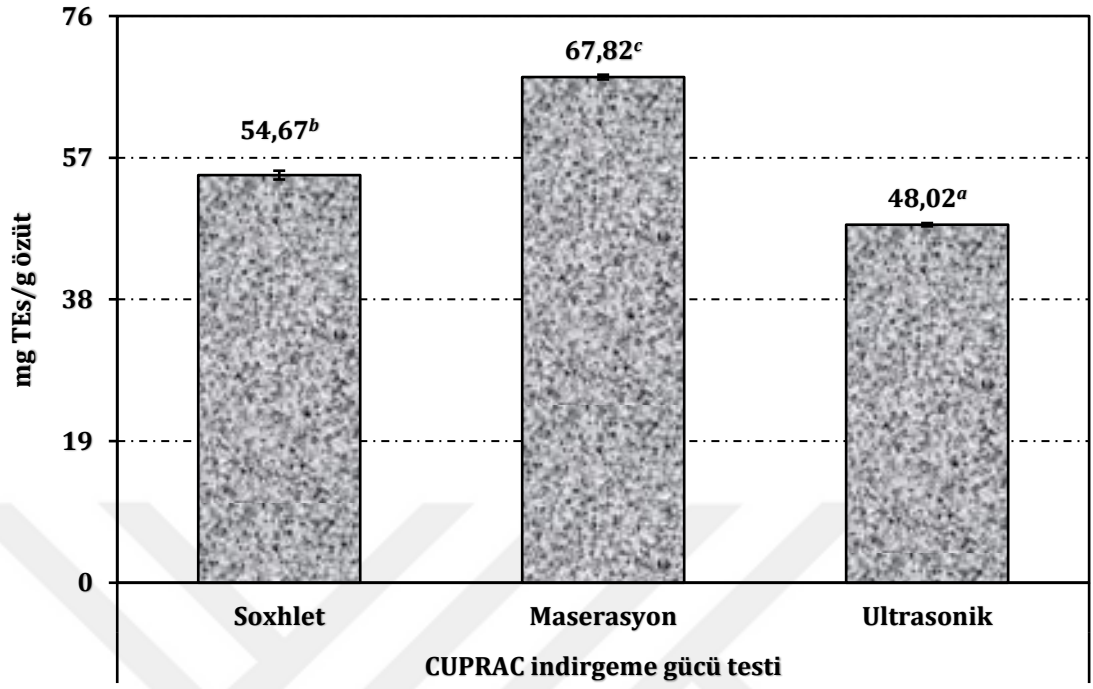
Şekil 4.7: Metanol özütlerinin toplam antioksidan aktiviteleri



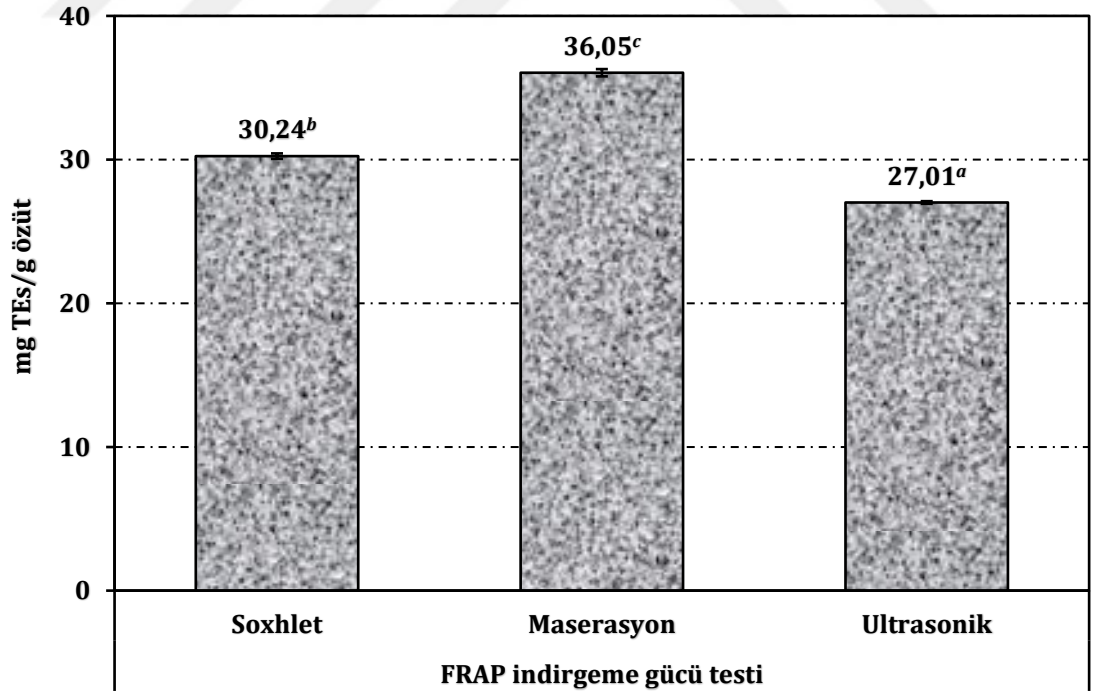
Şekil 4.8: Metanol özütlerinin DPPH radikal süpürüm aktiviteleri



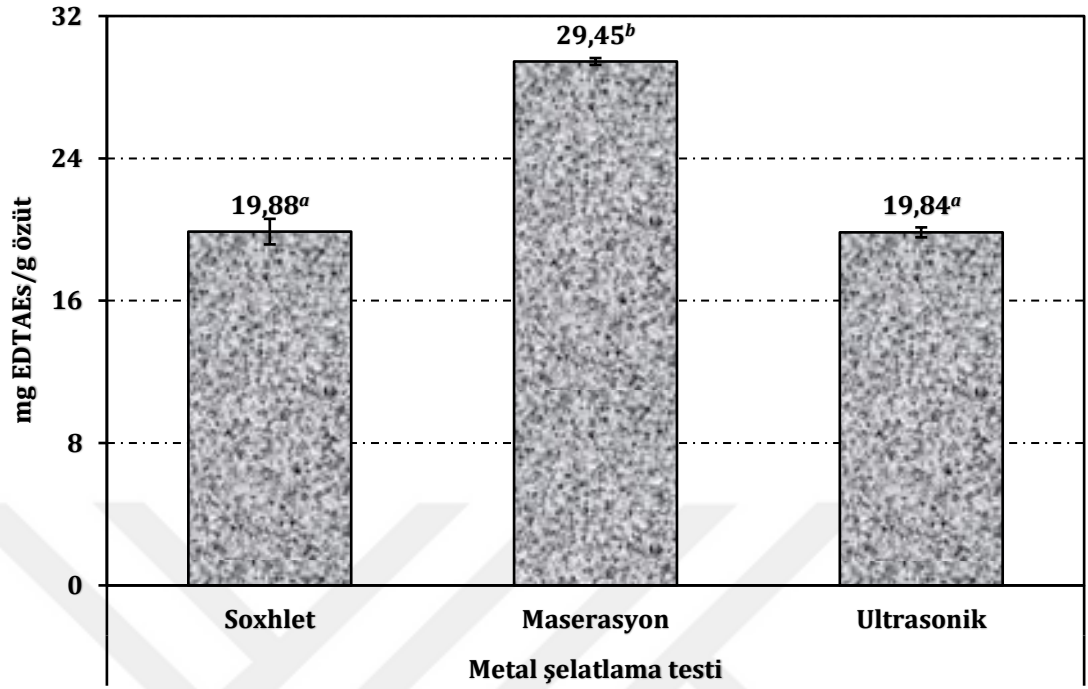
Şekil 4.9: Metanol özütlerinin ABTS katyon radikal süpürüm aktiviteleri



Şekil 4.10: Metanol özütlerinin CUPRAC indirgeme gücü kapasiteleri



Şekil 4.11: Metanol özütlerinin FRAP indirgeme gücü kapasiteleri

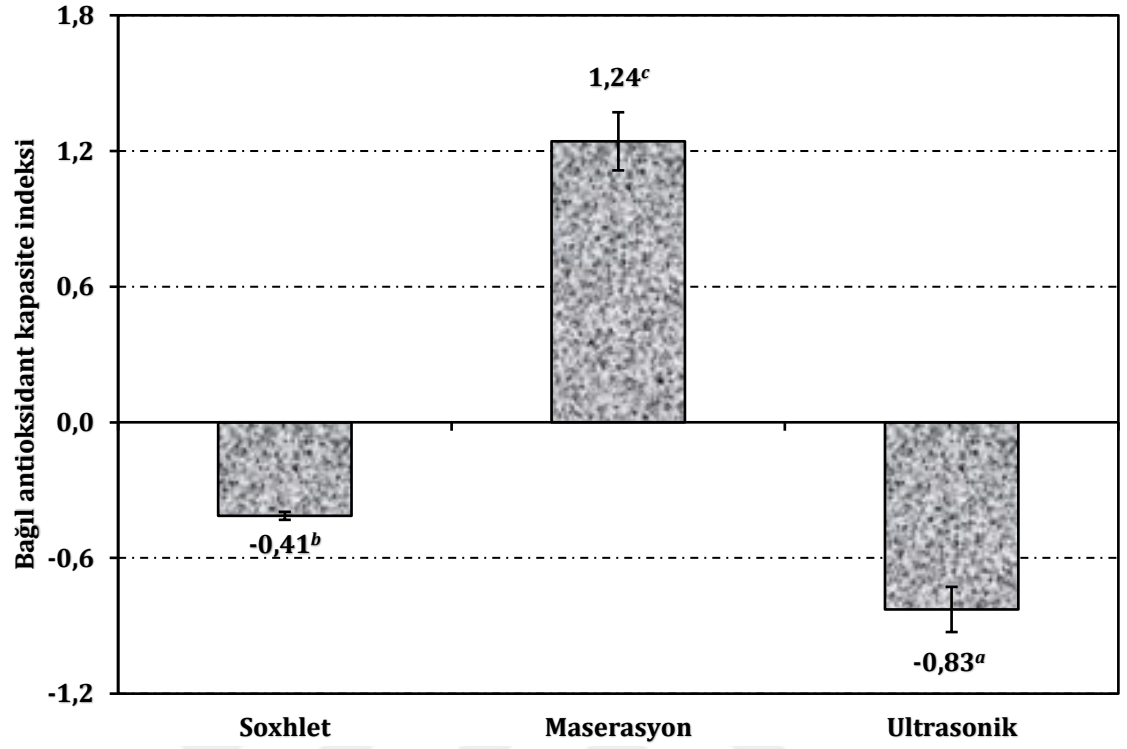


Şekil 4.12: Metanol özütlerinin demir (II) iyonları şelatlama kapasiteleri

4.4. Metanol Özütlerinin Bağlı Antioksidan Kapasite İndeksi

Antioksidan testlerinde elde edilen sonuçlar, farklı aktivite mekanizmalarını yansıttığından dolayı bu sonuçların sayısal olarak doğrudan karşılaştırılması uygun değildir. Bu nedenle, her bir özüt için antioksidan test sistemlerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılabilirliğini sağlamak amacıyla Bağlı Antioksidan Kapasite İndeksi (RACI) hesaplandı. RACI değerlerinin belirlenmesinde, öncelikle her test için numunelerin ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı. Özütlerin ham veri değerleri, ortalama değerlerden çıkarıldı ve her özüt için standart sapmaya bölünerek RACI değeri elde edildi. Bu işlem, her test için ayrı ayrı gerçekleştirildi. Toplam RACI değerleri, ilgili özütün (toplam fenolik ve toplam flavonoit içerikler dahil) tüm antioksidan testlerinden elde edilen ortalama değerler dikkate alınarak hesaplanmış ve sonuçlar Şekil 4.13'te verilmiştir.

Şekilde 4.13'te de açıkça görüldüğü üzere, RACI değerleri açısından, Maserasyon tekniğiyle elde edilen metanol özütünün (RACI: 1.24) diğer tekniklerle elde edilen metanol özütlerine kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite sergilediği belirlenmiştir.



Şekil 4.13: Metanol özütlerinin bağıl antioksidan kapasite indeksleri

Farklı özütleme teknikleriyle elde edilen metanol özütlerinin antioksidan aktivite test sonuçları ile özütlerin içerdiği fitokimyasallar arasındaki ilişkiyi belirlemek ve bu fitokimyasalların aktiviteye katkılarını saptamak amacıyla Pearson korelasyon analizleri gerçekleştirildi ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.3'te verildi.

Tablo 4.3: Fitokimyasal içerik ile antioksidan testler arasındaki korelasyon

	Fosfomolibdenyum	DPPH	ABTS	CUPRAC	FRAP	Metal şelatlama
DPPH	0,954					
ABTS	0,879	0,979				
CUPRAC	0,883	0,976	0,994			
FRAP	0,880	0,972	0,992	0,999		
Metal şelatlama	0,950	0,988	0,949	0,941	0,933	
Toplam flavonoit	0,931	0,989	0,978	0,987	0,987	0,963
Toplam fenolik	0,959	0,992	0,971	0,975	0,975	0,965
Hesperidin	-0,384	-0,237	-0,085	-0,038	-0,013	-0,359
Hyperoside	0,214	0,318	0,418	0,477	0,504	0,186
Apigenin 7-glucoside	-0,399	-0,594	-0,729	-0,740	-0,755	-0,484
Apigenin	0,045	-0,138	-0,292	-0,331	-0,356	-0,011

4.5. Metanol Özütlerinin Enzim inhibisyon Aktiviteleri

Çalışmanın bu aşamasında, farklı özütleme yöntemleri kullanılarak elde edilen metanol özütlerinin asetilkolinesteraz, tirozinaz ve α -amilaz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkilerini belirlemek amacıyla yapılan testlerden elde edilen veriler değerlendirilmiştir. İlk olarak, başlangıç derişimini %50 oranında azaltan özüt derişimi IC_{50} (mg/mL) olarak hesaplanmış ve bu sonuçlar Tablo 4.4'te sunulmuştur. Daha sonra ise bu veriler, her bir testte kullanılan pozitif kontrolle (Galantamin, kojik asit ve akarboz) karşılaştırmalı olarak hesaplanmış (mg standart/g özüt) ve elde edilen sonuçlar Şekiller 4.14-16'da verilmiştir.

Tablo 4.4: Metanol özütlerinin ve standartların enzim inhibisyon aktiviteleri

Örnekler	AChE inhibisyon (IC_{50} : mg/mL)	Tirosinaz inhibisyon (IC_{50} : mg/mL)	α -Amilaz inhibisyon (IC_{50} : mg/mL)
Soxhlet	1,44 $\pm$ 0,09 ^b	1,54 $\pm$ 0,02 ^b	2,27 $\pm$ 0,02 ^c
Maserasyon	1,42 $\pm$ 0,06 ^b	1,55 $\pm$ 0,02 ^b	2,09 $\pm$ 0,01 ^b
Ultrasonik	1,57 $\pm$ 0,03 ^b	1,65 $\pm$ 0,04 ^c	2,16 $\pm$ 0,05 ^{bc}
Galantamin	0,0026 $\pm$ 0,0002 ^a	-	-
Kojik asit	-	0,080 $\pm$ 0,002 ^a	-
Akarboz	-	-	0,77 $\pm$ 0,02 ^a

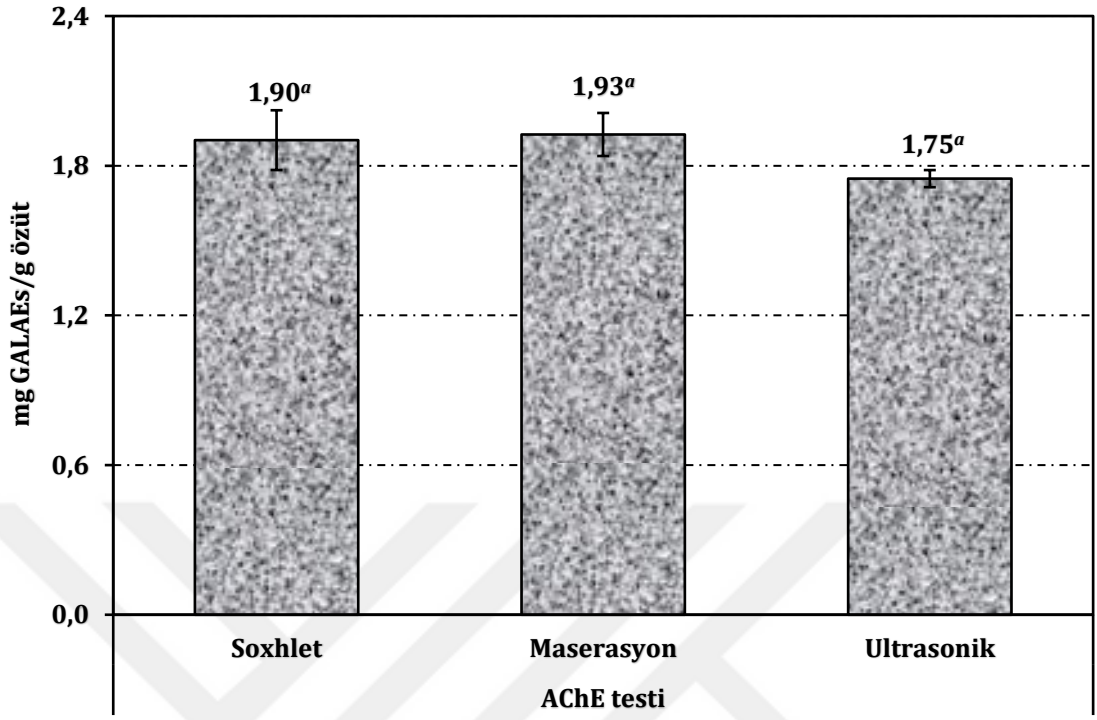
Aynı sütunda aynı üst simgelerle (a, b ve c) işaretlenen değerler arasında istatistiksel bir fark yoktur.

AChE inhibisyonu testinde, tüm özütler benzer seviyede inhibisyon göstermiştir ($p>0.05$), ancak Ultrasonik özütü (IC_{50} :1,57 mg/mL) diğerlerinden biraz daha yüksek bir değer ile daha düşük bir inhibisyon aktivite sergilese de bu değer diğerleriyle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığı ifade etmemektedir ($p>0.05$).

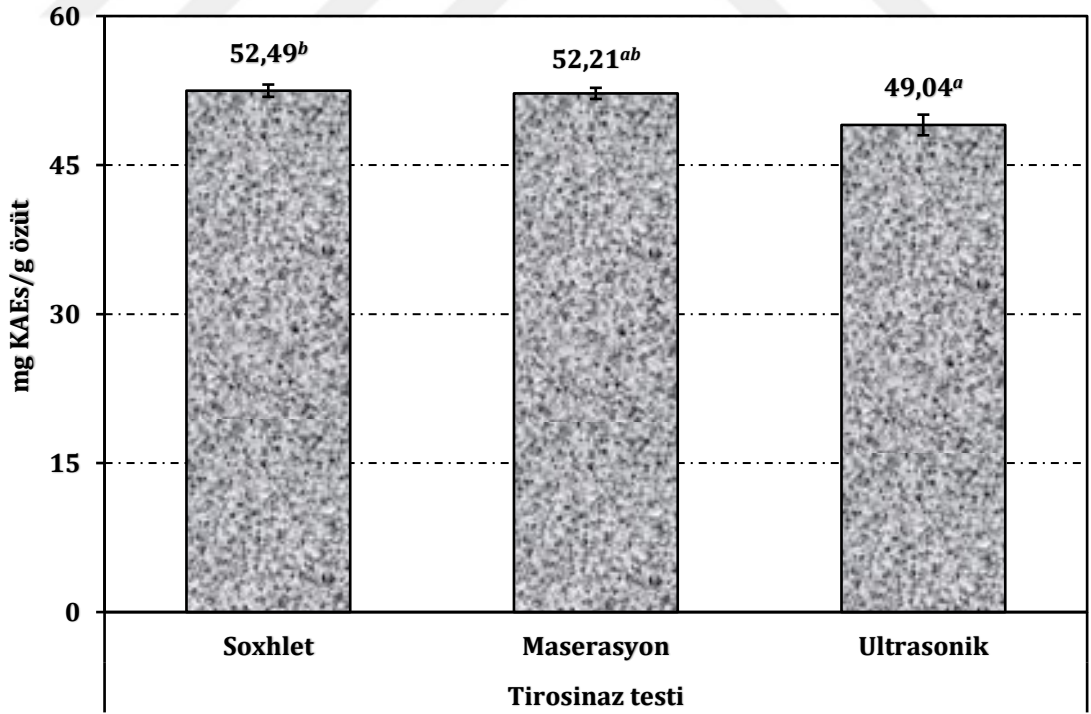
Tirozinaz inhibisyonu testinde, Ultrasonik özütü (IC_{50} :1,65 mg/mL), diğer iki metanol özütünden daha düşük bir inhibisyon aktivitesi göstermiştir.

α -amilaz inhibisyonu testinde ise, Soxhlet özütü (IC_{50} : 2,27mg /mL) en düşük inhibisyon aktivitesine sahipken, Maserasyon (2,09) ve Ultrasonik (2,16) özütleri benzer aktiviteler sergilemiştir.

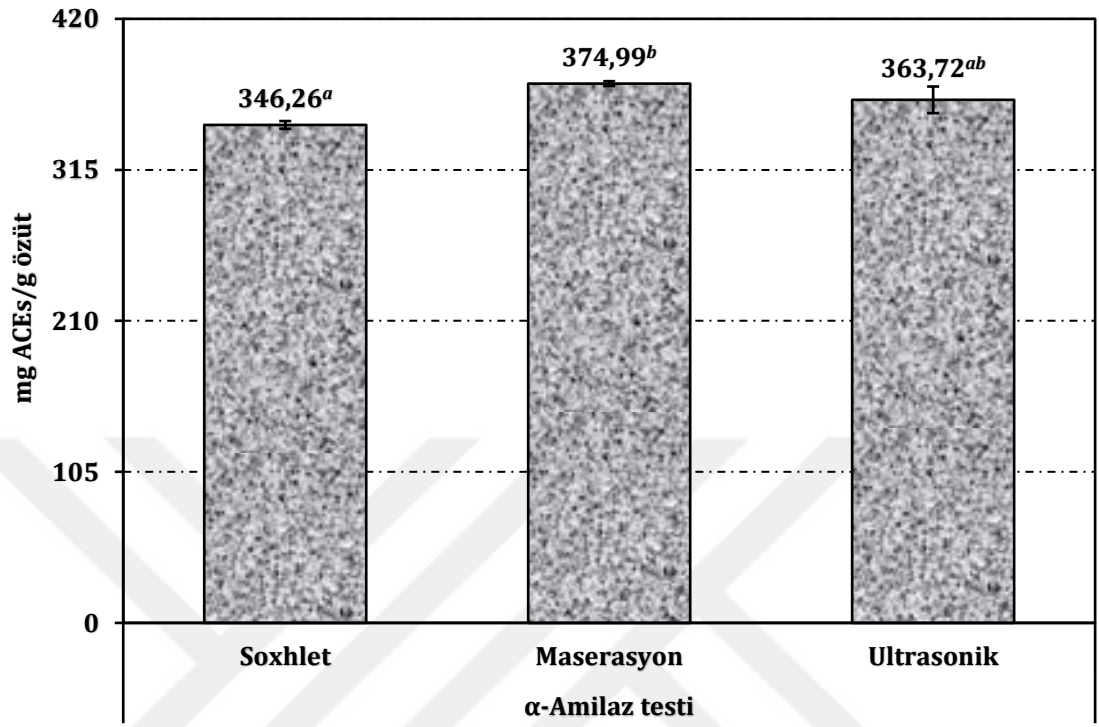
Ancak yine de özütlerin bu enzim inhibisyon aktiviteleri, kullanılan standartların (galantamin, kojik asit, akarboz) aktivitelerinden çok daha düşüktür.



Şekil 4.14: Metanol özütlerinin asetilkolin esteraz inhibisyon aktiviteleri



Şekil 4.15: Metanol özütlerinin trozinaz inhibisyon aktiviteleri



Şekil 4.16: Metanol özüütlerinin α -amilaz inhibisyon aktiviteleri

5. TARTIŞMA

5.1. Farklı Özütleme Teknikleriyle Metanol Özütlemesi

Fenolik bileşenlerin bitkisel materyallerden özütlenmesi, örnek matrisinin doğası ve hedeflenen fenoliklerin yapısal özellikleri (aromatik halkaların ve hidroksil gruplarının sayısı, polarite ve derişim) gibi kimyasal parametreler tarafından önemli ölçüde etkilenmektedir (Khoddami ve ark., 2013; Kumar ve Goel, 2019). Bu nedenle, farklı bitki türlerinden fenolik bileşiklerin izolasyonu için evrensel bir özütleme yöntemi belirlemek zor olabilmektedir. Fenolik bileşikler, taze, dondurulmuş veya kurutulmuş bitki örneklerinden özütlenabilmektedirler. Bu bileşikler genellikle serbest moleküllerden ziyade esterler veya glikozitler halinde bulunduğundan, özütleme metodolojisinin dikkatli bir şekilde planlanması gerekmektedir. Çünkü bu durum, arzu edilen biyoaktif bileşenlerin seçiciliğini, verimini ve geri kazanımını doğrudan etkileyebilmektedir (Kumar ve Goel, 2019).

Çözücü seçimi, özütleme sürecinde kritik bir rol oynamaktadır. Özütleme, yapılacak kaynağa ve fenolik bileşiğin türüne bağlı olarak, su, aseton, metanol, etanol, propanol ve etil asetat gibi farklı çözücüler tek başına veya karışım halinde kullanılabilirler. Bu çözücüler, hedeflenen fenoliklerin yüksek verimle elde edilmelerine de olanak tanımaktadır (Kalia ve ark., 2008; Casazza ve ark., 2010; Garcia-Salas ve ark., 2010; Biesaga ve Pyrzyńska, 2013; Kumar ve ark., 2015; Kumar ve Goel, 2019).

Bu çalışmada, çözücü olarak metanol kullanılmış ve Soxhlet, Maserasyon ve Ultrasonik destekli özütleme olmak üzere üç farklı özütleme tekniği karşılaştırılmıştır. En yüksek özüt verimi, Soxhlet yöntemi ile elde edilmiştir. Soxhlet özütlemesinde, özütün çözücü haznesinde uzun süre yüksek sıcaklıkta kalması durumu göz ardı edildiğinde, metanolün kaynama noktasında özütlemenin gerçekleşmesi ve bitkisel materyalin her seferinde taze metanol ile temas etmesi, yüksek özüt veriminin temel nedenleri olarak değerlendirilebilir.

Özetle, fenolik bileşiklerin özütlenmesi, hem bitki materyalinin özelliklerine hem de kullanılan çözücülere ve özütleme tekniklerine bağlı karmaşık bir süreçtir. Bu nedenle,

optimize edilmiş özütleme yöntemlerinin kullanılması, fenolik bileşiklerin yüksek verimle elde edilmesi için oldukça önemlidir.

5.2. Metanol Özütlerinin Toplam Fenolik ve Flavonoit İçerikleri

Polifenolik bileşiklerin, yenilebilir ve yenilemez bitkilerde yaygın olarak bulunduğu ve çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediği literatürde belirtilmektedir (Kähkönen ve ark., 1999). Bitkiler, tıp, beslenme, aroma vericiler, içecekler, boyalar, insektisitler, parfümler ve kozmetikler gibi çeşitli alanlarda geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir (Djeridane ve ark., 2006). Birçok bitki türü, antioksidan, sindirim sistemi uyarıcısı, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, hipolipidemik, antitumöjenik ve antikanserojenik potansiyeller dahil olmak üzere sağlığı destekleyici tıbbi özellikleriyle tanınmaktadır (Aaby ve ark., 2004; Cai ve ark., 2004). Özellikle bitki ve baharat özütleri gibi polifenoller açısından zengin bitkisel materyaller, lipidlerin oksidatif bozulmasını yavaşlatarak gıdaların kalitesini ve besin değerini artırma potansiyelleri nedeniyle gıda endüstrisinde giderek artan bir ilgi görmektedir (Kumar ve Goel, 2019).

Bu bağlamda, *Astragalus stella* bitkisinin metanol özütlerinin toplam fenolik ve toplam flavonoit içerikleri incelenmiştir. Farklı özütleme teknikleri (Soxhlet, maserasyon ve ultrasonik) kullanılarak elde edilen özütlerin toplam fenolik ve toplam flavonoit içerikleri karşılaştırılmıştır. Maserasyon yöntemiyle elde edilen metanol özütü, hem toplam fenolik hem de toplam flavonoit bileşik miktarları açısından diğer yöntemlere kıyasla daha yüksek değerler sergilemiştir.

Literatürde, doğal özütlerin toplam fenolik içerik miktarları 20 mg GAE/g'dan yüksek olduğunda fenolik bileşikler açısından zengin olarak sınıflandırıldığı belirtilmektedir (Ksouri ve ark., 2012; Rodrigues ve ark., 2015). Bu kritere göre, Maserasyon ile elde edilen metanol özütü, 20,67 mg GAE/g özüt değeri ile yüksek bir fenolik içeriğe sahip olarak değerlendirilebilir. Ayrıca, Soxhlet ile elde edilen metanol özütü 17,88 mg GAE/g özüt ve ultrasonik-destekli metanol özütü ise, 17,16 mg GAE/g özüt değerleri ile fenolik bileşikler açısından zengin olarak sınıflandırılabilir. Bu sonuçlar, *Astragalus stella* bitkisinin metanol özütlerinin, özellikle Soxhlet ve maserasyon yöntemleriyle elde edilenlerin, önemli miktarda fenolik bileşik içerdiğini

göstermektedir. Yine bu bulgular, *Astragalus stella* bitkisinin farklı özütleme yöntemleriyle elde edilen metanol özütlerinin, fenolik bileşikler açısından değerli kaynaklar olabileceğini ve farklı uygulamalar için kullanılabileceğini desteklemektedir.

5.3. Metanol Özütlerinin LC-MS/MS ile Fitokimyasal İçerikleri

Sıvı Kromatografisi-Elektrosprey İyonizasyon Tandem Kütle Spektrometrisi (LC-ESI-MS/MS), bitki özütlerindeki fenolik bileşiklerin belirlenmesinde kullanılan yüksek hassasiyetli ve seçici bir analitik tekniktir (Pietrzak ve ark., 2017; Berkani ve ark., 2022; Chu ve ark., 2023). Bu yöntem, aromatik halka yapısında bir veya daha fazla hidroksil grubu bulunduran fenolik bileşiklerin hızlı, hassas ve seçici bir şekilde analiz edilmesini sağlar (Chu ve ark., 2023). LC-ESI-MS/MS, çözelti halindeki örneklerin iyonlaştırılması ve ardından bu iyonların kütle/yük oranlarına göre ayrılması prensibine dayanır (Berkani ve ark., 2022).

Bu çalışmada, farklı özütleme teknikleriyle elde edilen metanol özütlerinin fitokimyasal içerikleri LC-MS/MS ile incelenmiş ve 30 farklı fitokimyasalın varlığı ve miktarları araştırılmıştır. Analiz sonucunda, 17 fitokimyasalın varlığı ve miktarları belirlenirken, 13 fitokimyasalın özütlerdeki varlığı tespit edilememiştir. *Astragalus stella* bitkisinin metanol özütlerindeki fitokimyasal içerikler, Tablo 4.1'deki verilere göre değerlendirildiğinde, farklı ekstraksiyon tekniklerinin bileşiklerin miktarları üzerinde önemli etkileri olduğu görülmektedir. Soxhlet, Maserasyon ve Ultrasonik yöntemleri ile elde edilen özütlerde, hesperidin, hiperosit, apigenin 7-glukosit, apigenin, p-kumarik asit, klorojenik asit, vanilin, ferulik asit, 4-hidroksibenzoik asit, kafeik asit, 2,5-dihidroksibenzoik asit, luteolin, protokateşuik asit, sinapik asit, şiringik asit, kuersetin ve pinoresinol gibi çeşitli fitokimyasallar tespit edilmiştir. Hesperidin ve hiperosit en yüksek derişimlerde bulunan bileşikler olup, tüm özütleme tekniklerinde benzer seviyelerde tespit edilmiştir. Apigenin 7-glukosit ve apigenin derişimi, özütleme yöntemlerine göre farklılık göstermemekle birlikte, ultrasonik yöntemi ile elde edilen özütte en yüksek seviyededir. p-Kumarik asit, klorojenik asit ve ferulik asit derişimleri de ultrasonik yöntemde diğer yöntemlere göre daha yüksek bulunmuştur. Kafeik asit, maserasyon özütünde 3,73 µg/g özüt ile en düşük seviyede bulunurken, Soxhlet özütünde 13.11 µg/g

özüt ve ultrasonik özütünde 5.28 µg/g özüt olarak tespit edilmiştir. Pinoresinol derişimi ise maserasyon özütünde en yüksek (5.89 µg/g özüt) seviyede bulunurken, Soxhlet özütünde 1.79 µg/g özüt ve ultrasonik özütünde 3.60 µg/g özüt olarak saptanmıştır. Vanilin, 4-hidroksibenzoik asit ve şiringik asit gibi bileşikler de Ultrasonik yöntem ile elde edilen özütte diğer yöntemlere kıyasla daha yüksek seviyelerde bulunmuştur.

Bu sonuçlar, özütleme tekniğinin, *A. stella* bitkisinden elde edilen fitokimyasal profili üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle Ultrasonik yöntem, apigenin, p-kumarik asit, klorojenik asit, ferulik asit, vanilin, 4-hidroksibenzoik asit ve şiringik asit gibi bileşiklerin daha yüksek verimle elde edilmesini sağlamıştır. Ancak, kafeik asit ve pinoresinol gibi bazı bileşiklerin özütlemesinde maserasyon yöntemi daha etkili bulunmuştur. Bu durum, farklı fitokimyasalların farklı çözünürlük ve özelliklere sahip olması ile açıklanabilir.

Literatürde, *A. stella* bitkisine ait özütlerin fitokimyasal içeriğine dair daha önce yayımlanmış herhangi bir veri bulunmamaktadır. Bu durum, bu çalışmadan elde edilen verilerin literatür açısından önemli bir katkı sağladığını ortaya koymaktadır. Öte yandan, literatürde pek çok *Astragalus* türünün fitokimyasal içerikleri detaylı bir şekilde belirlenmiştir. Sarikurkcü ve ark. (2020c) tarafından *A. gymnolobus*'un fitokimyasal içeriği üzerine yapılan çalışmada, metanol özütünün hesperidin, hiperosit, (+)-kateşin, vanilik asit, protokatekuik asit ve p-hidroksibenzoik asit açısından zengin olduğu rapor edilmiştir (Sarikurkcü ve ark., 2020c). Tarlada ve *in vitro* olarak yetiştirilen *A. gymnolobus* yapraklarından elde edilen metanol özütleri, kumarin, apigenin, kafeik asit, rutin hidrat, kuersetin, luteolin-7-O-β-D glukozit ve mirisetin gibi sınırlı sayıda fenolik bileşiklerin varlığı için incelenmiştir ve rutin, özütlerdeki ana bileşen olarak belirlenmiştir (Yıldırım ve ark., 2020). Diğer *Astragalus* türleri üzerinde yapılan çalışmalarda, Haşimi ve ark. (2017), *Astragalus* türlerinde değişen miktarlarda hesperidin ve hiperosit olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, üç *Astragalus* türünde yirmi dört fenolik bileşik ve üç fenolik olmayan organik asit tespit etmeye çalışmıştır (Haşimi ve ark., 2017). Ek olarak, hiperosit, apigenin, p-kumarik ve ferulik asitler, *A. macrocephalus* Willd. subsp. *finitimus* (Bunge) D.F.Chamb'ın farklı anatomik bölümlerinde de ana bileşenler olarak tespit edilmiştir (Sarikurkcü ve Zengin, 2020b). Bir başka çalışmada, yedi fitokimyasal (şiringik asit, p-kumarik asit, o-kumarik asit, luteolin, ferulik asit, hesperidin ve benzoik

asit), *A. ponticus* Pall.'un farklı anatomik kısımlarından elde edilen metanolik özütlerde tespit edilmiştir (Arumugam ve ark., 2019). Diğer çalışmalarda da hesperidin ve hiperosit'in *A. gymolobus* (Aydemir ve ark., 2024) ve *A. pisidicus* (Aydemir ve ark., 2025) türlerinde de yüksek derişimlerde bulunduğunu rapor edilmiştir. Neticede, bu çalışmada elde edilen fitokimyasal içerik verileriyle literatürdeki diğer *Astragalus* türlerine ait verilerin birbirlerine benzerlik gösterdiği söylenebilir.

Bu çalışmada elde edilen ana bileşenlerden biri olan hesperidin, narenciye meyvelerinde doğal olarak bulunan bir bileşen olup, antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar, anjiyojenik, antikoagülan ve analjezik özellikler dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik özellikler sergiler (Kodous ve ark., 2024). Bu özellikler, deri hastalıkları bağlamında terapötik ajan olarak potansiyel kullanımını düşündürmektedir (Bagher ve ark., 2020). Araştırmalar, hesperidin'in güçlü bir antioksidan olarak işlev gördüğünü ve ayrıca antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğunu ve serbest radikalleri temizleyici olarak hareket ettiğini göstermiştir (Tawfik ve ark., 2008; Pyrzynska, 2022). Bir diğer ana bileşen olan hiperosit, *Hypericum* cinsinin ana bileşenlerinden biridir ve bu bileşik umut verici biyolojik özellikler göstermektedir (Zhang ve ark., 2014; Gao ve ark., 2019; Wang ve ark., 2019). Bu noktadan hareketle, *A. stella* bitkisinin metanol özütlerinin gözlemlenen biyolojik aktivitelerinin bu bileşiklerin varlığıyla bağlantılı olduğu söylenebilir.

5.4. Metanol Özütlerinin Antioksidan ve Enzim İnhibisyon Aktiviteleri

Çalışmanın bu bölümünde, öncelikle *A. stella* bitkisinin farklı özütleme yöntemleriyle elde edilen metanol özütlerinin antioksidan kapasiteleri ve enzim inhibisyon aktiviteleri incelenmiştir. Bu kapsamda, Soxhlet, Maserasyon ve Ultrasonik özütleme teknikleri kullanılarak elde edilen metanol özütlerinin antioksidan aktiviteleri, fosfomolibdenyum, CUPRAC, FRAP, DPPH ve ABTS radikal süpürme, metal şelatlama gibi çeşitli testlerle değerlendirilmiştir.

Fosfomolibdenyum testinde, Maserasyon özütünün en yüksek aktiviteyi (EC₅₀: 1,80 mg/mL) gösterdiği, Soxhlet ve Ultrasonik özütlerin ise benzer sonuçlar verdiği

görülmüştür. Bu değerler, standart olarak kullanılan Trolox'un (EC_{50} : 0.48 mg/mL) aktivitesinden daha düşüktür, ancak bitkisel özütler için beklenen bir durumdur.

CUPRAC testinde de benzer şekilde maserasyon özütü (EC_{50} : 1.62 mg/mL) diğer özütlere göre daha yüksek bir indirgeme kapasitesi göstermiştir. Ultrasonik özüt (EC_{50} : 2.29 mg/mL) en düşük aktiviteyi sergilerken, Soxhlet özütünün (EC_{50} : 2.01 mg/mL) aktivitesi de maserasyon özütünden düşüktür. FRAP testinde, en yüksek indirgeme kapasitesi maserasyon özütünde (EC_{50} : 1.22 mg/mL) belirlenmiştir. Ultrasonik (EC_{50} : 1.63 mg/mL) ve Soxhlet (EC_{50} : 1.46 mg/mL) özütlerinin sonuçları bu değerden düşüktür. Bu testlerin sonuçları, Maserasyon yönteminin antioksidan bileşiklerin özütlemesinde daha etkili olduğunu göstermektedir.

DPPH radikal süpürme testinde, Maserasyon özütünün (IC_{50} : 3.84 mg/mL) diğer özütlere kıyasla daha iyi bir radikal süpürme aktivitesi sergilediği görülmüştür. ABTS radikal süpürme testinde de benzer bir eğilim gözlenmiş, Maserasyon özütü (IC_{50} : 1.75 mg/mL) diğerlerine göre daha yüksek aktivite göstermiştir. Ultrasonik özüt (IC_{50} : 2.28 mg/mL) en düşük aktiviteyi sergilerken, Soxhlet özütünün (IC_{50} : 2.09 mg/mL) aktivitesi de maserasyon özütünden daha düşüktür.

Metal şelatlama testinde yine Maserasyon özütü (IC_{50} : 1.12 mg/mL) diğer özütlere göre daha yüksek bir şelatlama aktivitesi göstermiştir. Soxhlet ve Ultrasonik özütlerinin sonuçları (IC_{50} : 1.66 mg/mL) birbirine yakındır.

Fitokimyasal içerik ile antioksidan test sonuçları arasındaki korelasyon incelendiğinde, toplam fenolik ve flavonoit bileşiklerin antioksidan kapasite ile güçlü bir pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle, DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP ve şelatlama testleri ile toplam fenolik ve flavonoit içerikleri arasındaki yüksek korelasyon katsayıları (0,93-0,99) bu durumu desteklemektedir. Bu bulgu, *A. stella* özütlerinin antioksidan aktivitesinde fenolik ve flavonoit bileşiklerin önemli rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca, hesperidin ve hiperosit gibi bazı fitokimyasalların antioksidan aktiviteye katkısı incelenmiş olup, bu bileşiklerin tek başına test edildiğinde antioksidan kapasiteye katkı sağlayabileceği belirtilmiştir. Ancak, korelasyon analizlerinde bu bileşiklerin antioksidan aktivite üzerindeki etkisi diğer fenolik ve flavonoitler kadar

belirgin değildir. Bu durum, bitki özütlerindeki sinerjistik etkilerin önemini ortaya koymaktadır. Bağlı antioksidan kapasite indeksleri (RACI), Maserasyon yönteminin diğer özütleme yöntemlerine göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır. Farklı antioksidan test (Fosfomolibdenyum, CUPRAC, FRAP, DPPH, ABTS ve metal şelatlama) sonuçları, Maserasyon özütünün genellikle daha iyi sonuçlar verdiğini desteklemektedir. Maserasyon özütünün daha yüksek fenolik ve flavonoit içeriğine sahip olması ve bu bileşiklerin antioksidan kapasiteyle yüksek korelasyon göstermesi, Maserasyon yönteminin antioksidan aktivitede neden daha iyi performans gösterdiğini açıklamaktadır.

Çalışmada kullanılan farklı özütleme yöntemlerinin, elde edilen özütlerin antioksidan kapasiteleri üzerinde önemli etkileri olduğu görülmüştür. Maserasyon yönteminin, genel olarak diğer yöntemlere kıyasla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip özütler sağladığı belirlenmiştir. Bunun nedeni, Maserasyonun daha uzun sürede ve daha düşük sıcaklıkta yapılması nedeniyle, ısıya duyarlı antioksidan bileşiklerin daha iyi korunması olabilir. Soxhlet özütlemesi, daha yüksek sıcaklık ve uzun süreli bir özütleme yöntemi olmasına rağmen, antioksidan kapasite açısından Maserasyon kadar etkili olmamıştır. Bu durum, ısıya duyarlı bazı bileşiklerin bu yöntemle zarar görmesinden kaynaklanabilir. Ultrasonik özütleme, diğer yöntemlere göre daha hızlı olmasına rağmen, antioksidan kapasite açısından Maserasyon kadar yüksek sonuçlar vermemiştir. Bunun nedeni, Ultrasonik yöntemin bazı bileşiklerin yapısını bozması veya özütleme verimliliğinin bazı bileşikler için yeterli olmaması olabilir.

Bu çalışmada, ayrıca metanol özütlerinin asetilkolinesteraz, tirozinaz ve α -amilaz enzimleri üzerine inhibisyon etkileri de araştırıldı. Asetilkolinesteraz inhibisyon testinde, tüm özütleme yöntemleriyle elde edilen metanol özütleri benzer inhibisyonlar sergilemişlerdir ($p>0,05$). Ancak bu değerlerin, pozitif kontrol olan galantamin'in inhibisyon değerinden çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Tirozinaz inhibisyonunda da üç özütleme yönteminin değerleri birbirine yakındır. Ultrasonik özüt (IC_{50} :1.65 mg/mL) diğerlerine göre biraz daha yüksek inhibisyon gösterirken, Maserasyon (IC_{50} :1.55 mg/mL) ve Soxhlet (IC_{50} :1.54 mg/mL) özütleri de benzer değerlere sahiptir. Pozitif kontrol olan kojik asidin (IC_{50} :0.08 mg/mL) inhibisyon değeri, bitki özütlerinin inhibisyon değerlerinden oldukça düşüktür ve bunun sonucu olarak daha yüksek

inhibisyon göstermiştir. α -Amilaz inhibisyon testinde, Soxhlet özütü (IC₅₀: 2.27 mg/mL) en düşük inhibisyonu gösterirken, Maserasyon özütü (IC₅₀: 2.09 mg/mL) en yüksek inhibisyonu göstermiştir. Ultrasonik özüt (IC₅₀: 2.16 mg/mL) ise, bu iki değerin ortasında yer almaktadır.

Astragalus stella bitkisinin metanol özütleri, hem enzim inhibisyonu hem de antioksidan aktivite potansiyeline sahiptir. Ancak, tüm özütlerin inhibisyon ve antioksidan değerleri, pozitif kontrol olarak kullanılan standartların değerlerinden belirgin şekilde düşüktür. Bu durum, bitki özütlerinin tek başına kullanımından ziyade, ilaç geliştirme çalışmalarında potansiyel bir kaynak olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Literatürde, *A. stella* bitkisinin antioksidan ve enzim inhibisyon aktiviteleri ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmadan elde edilen verilerin literatür için önemli bir girdi olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada elde edilen verilerin diğer *Astragalus* türlerinin antioksidan ve enzim inhibisyon aktivite sonuçlarıyla bazı farklılıklar bulunmasına rağmen genel olarak benzerlik gösterdiği söylenebilir (Arumugam ve ark., 2019; Sarikurkcu ve ark., 2020c; Sarikurkcu ve Zengin, 2020b). Gözlenen farklılıkların çoğunlukla tür, yetiştirme koşulları ve kullanılan özütleme yöntemlerine bağlı olarak değişiklik gösterebileceği söylenebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, *A. stella* bitkisinin toprak üstü kısımlarından, Soxhlet, Maserasyon ve Ultrasonik-destekli yöntemlerle elde edilen metanol özütlerinin antioksidan aktiviteleri çeşitli test sistemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, asetilkolinesteraz, α -amilaz ve tirozinaz enzimleri üzerindeki inhibisyon kapasiteleri de araştırılmıştır. Her üç özütün öncelikle toplam fenolik ve toplam flavonoit bileşik miktarları belirlenerek daha sonra LC-MS kullanılarak toplamda 30 fitokimyasalın varlığı araştırılmış ve özütte mevcut olanların miktarları da tespit edilmiştir.

Analizler sonucunda:

- Maserasyon yöntemi, bitkisinin metanol özütleri için en yüksek antioksidan aktiviteyi sağlamıştır.
- Maserasyon özütünün daha yüksek antioksidan aktivite göstermesinin nedeni, daha zengin toplam fenolik ve flavonoit içeriğine sahip olmasıdır.
- Fenolik ve flavonoit bileşikler, antioksidan kapasite testleriyle pozitif ve güçlü bir korelasyon göstermiştir.
- Bağıl antioksidan kapasite indeksleri, Maserasyon yöntemiyle elde edilen özütte diğer yöntemlere göre daha yüksek bulunmuştur.
- *Astragalus stella* metanol özütleri, asetilkolinesteraz (AChE), tirozinaz ve α -amilaz enzimlerine karşı belirli düzeyde inhibisyon aktivite göstermiştir.
- Ancak, bu inhibisyon aktiviteleri, testlerde kullanılan standartlarla (Galantamin, kojik asit ve akarboz) karşılaştırıldığında daha düşük seviyelerde bulunmuştur.
- Metanol özütlerinde, ana bileşenler olarak hesperidin, hiperosid, apigenin 7-glukosid ve apigenin tespit edilmiştir.

Bu nedenle, Türkiye florasında doğal olarak yetişen *A. stella* bitkisinin ilaç, gıda ve kozmetik endüstrileri için alternatif ve önemli bir kaynak olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, bu çalışmada elde edilen sonuçlar, ilgili tür hakkında literatüre giren ilk veriler olma niteliğindedir.

Metanol özütleri, *in vitro* testlerde önemli antioksidan ve enzim inhibisyon aktiviteleri sergilemiş olmasına rağmen, bu özütlerin *in vivo* koşullarda da benzer etkiler gösterip

göstermeyeceği henüz kesinlik kazanmamıştır. Bu bağlamda, gelecekte özütlerin toksik etkilerinin belirlenmesi, *in vivo* testlerle elde edilen aktivite sonuçlarının tutarlılığının değerdendirilmesi ve etkinlikten sorumlu bileşenlerin izolasyonu ile karakterizasyonunun detaylı kromatografik işlemlerle gerçekleştirilmesi önerilmektedir.



7. KAYNAKLAR

- Aaby, K., Hvattum, E. Skrede, G. (2004) "Analysis of flavonoids and other phenolic compounds using high-performance liquid chromatography with coulometric array detection: Relationship to antioxidant activity". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, pp.4595-4603.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S. Erçağ, E. (2006) "The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas". *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, pp.292-304.
- Arslan, A. 2010. *Astragalus turkmenensis* Dural, O. Tugay ve Ertugrul (Fabaceae) Üzerine Morfolojik ve Anatomik bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Arumugam, R., Kirkan, B. Sarikurkcu, C. (2019) "Phenolic profile, antioxidant and enzyme inhibitory potential of methanolic extracts from different parts of *Astragalus ponticus* Pall". *South African Journal of Botany*, 120, pp.268-273.
- Avunduk, S., Mitaine-Offer, A.-C., Alankus-Çalışkan, Ö., Miyamoto, T., Senol, S. G. Lacaille-Dubois, M.-A. (2008) "Triterpene glycosides from the roots of *Astragalus flavescens*". *Journal of Natural Products*, 71, pp.141-145.
- Aydemir, E., Köse, E. O., Yavuz, M., Kilit, A. C., Korkut, A., Gül, S. O., et al. (2024) "Phenolic Compound Profiles, Cytotoxic, Antioxidant, Antimicrobial Potentials and Molecular Docking Studies of *Astragalus gymnolobus* Methanolic Extracts". *Plants-Basel*, 13.
- Aydemir, E., Odabaş Köse, E., Özkaya Gül, S., Korkut, A., Kilit, A. C., Celep, M. E., et al. (2025) "Phytochemical and Biological Investigations of Crude Extracts of *Astragalus pisdicus*". *Pharmaceuticals*, 18, pp.10.
- Bagher, Z., Ehterami, A., Safdel, M. H., Khastar, H., Semiari, H., Asefnejad, A., et al. (2020) "Wound healing with alginate/chitosan hydrogel containing hesperidin in rat model". *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55, pp.101379.
- Benslama, O., Lekmine, S. Mansouri, N. (2023) "Phytochemical constituents of *Astragalus monspessulanus* and integrative analysis for its antioxidant, photoprotective, and antityrosinase activities: Experimental and computational investigation". *European Journal of Integrative Medicine*, 60, pp.102247.
- Berkani, F., Dahmoune, F., Kadri, N., Serralheiro, M. L., Ressaissi, A., Abbou, A., et al. (2022) "LC–ESI–MS/MS analysis, biological effects of phenolic compounds extracted by microwave method from Algerian *Zizyphus lotus* fruits". *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16, pp.3354-3371.
- Biesaga, M. Pyrzyńska, K. (2013) "Stability of bioactive polyphenols from honey during different extraction methods". *Food Chemistry*, 136, pp.46-54.

- Bilgi, H. 2023. *Türkiye’de Yayılış Gösteren Astragalus L. Cinsine Ait Bazı Türlerin Polen Morfolojilerinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Butkutė, B., Dagilytė, A., Benetis, R., Padarauskas, A., Cesevičienė, J., Olšauskaitė, V., et al. (2018) "Mineral and Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of Herbal Material from Two Temperate *Astragalus* Species". *BioMed Research International*, 2018, pp.6318630.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. Corke, H. (2004) "Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer". *Life Sciences*, 74, pp.2157-2184.
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G. Perego, P. (2010) "Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques". *Journal of Food Engineering*, 100, pp.50-55.
- Choudhary, M. I., Jan, S., Abbaskhan, A., Musharraf, S. G. Sattar, S. A. (2008) "Cycloartane triterpenoids from *Astragalus bicuspid*". *Journal of Natural Products*, 71, pp.1557-1560.
- Chu, M., Khan, R. D., Zhou, Y., Agar, O. T., Barrow, C. J., Dunshea, F. R., et al. (2023) "LC-ESI-QTOF-MS/MS Characterization of Phenolic Compounds in Common Commercial Mushrooms and Their Potential Antioxidant Activities". *Processes*, 11, pp.1711.
- Cittan, M. Çelik, A. (2018) "Development and validation of an analytical methodology based on Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry for the simultaneous determination of phenolic compounds in olive leaf extract". *Journal of Chromatographic Science*, 56, pp.336-343.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. Vidal, N. (2006) "Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds". *Food Chemistry*, 97, pp.654-660.
- Ertas, A., Boga, M., Kizil, M., Ceken, B., Goren, A. C., Hasimi, N., et al. (2015a) "Chemical profile and biological activities of *Veronica thymoides* subsp. *pseudocinerea*". *Pharmaceutical Biology*, 53, pp.334-339.
- Ertas, A., Boga, M., Yilmaz, M. A., Yesil, Y., Tel, G., Temel, H., et al. (2015b) "A detailed study on the chemical and biological profiles of essential oil and methanol extract of *Thymus nummularius* (Anzer tea): Rosmarinic acid". *Industrial Crops and Products*, 67, pp.336-345.
- Ertas, A., Boğa, M., Yılmaz, M. A., Yeşil, Y., Haşimi, N., Kaya, M. Ş., et al. (2014) "Chemical Compositions by Using LC-MS/MS and GC-MS and Biological Activities of *Sedum sediforme* (Jacq.) Pau". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, pp.4601-4609.

- Gao, Y., Fang, L., Wang, X., Lan, R., Wang, M., Du, G., et al. (2019) "Antioxidant Activity Evaluation of Dietary Flavonoid Hyperoside Using *Saccharomyces cerevisiae* as a Model". *Molecules*, 24.
- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, A. (2010) "Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples". *Molecules*, 15, pp.8813-26.
- Ghaffari, M. A., Chaudhry, B. A., Uzair, M., Imran, M., Haneef, M. Ashfaq, K. (2021) "Biological and phytochemical investigations of crude extracts of *Astragalus creticus*". *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34, pp.403-409.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M.T. (edlr.), (2012). 2012. *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, İstanbul, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği.
- Haşimi, N., Ertaş, A., Yılmaz, M. A., Boğa, M., Temel, H., Demirci, S., et al. (2017) "LC-MS/MS and GC-MS analyses of three endemic *Astragalus* species from Anatolia towards their total phenolic-flavonoid contents and biological activities". *Biol. Divers. Conserv*, 10, pp.18-30.
- Howes, M.-J. R., Perry, N. S. L. Houghton, P. J. (2003) "Plants with traditional uses and activities, relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders". *Phytotherapy Research*, 17, pp.1-18.
- Ibrahim, L. F., Marzouk, M. M., Hussein, S. R., Kawashty, S. A., Mahmoud, K. Saleh, N. A. (2013) "Flavonoid constituents and biological screening of *Astragalus bombycinus* Boiss". *Natural Product Research*, 27, pp.386-393.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., et al. (1999) "Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, pp.3954-3962.
- Kalia, K., Sharma, K., Singh, H. P. Singh, B. (2008) "Effects of extraction methods on phenolic contents and antioxidant activity in aerial parts of *Potentilla atosanguinea* Lodd. and quantification of its phenolic constituents by RP-HPLC". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, pp.10129-34.
- Khoddami, A., Wilkes, M. A. Roberts, T. H. (2013) "Techniques for analysis of plant phenolic compounds". *Molecules*, 18, pp.2328-75.
- Kocak, M. S., Sarikurkcü, C., Cengiz, M., Kocak, S., Uren, M. C. Tepe, B. (2016) "Salvia cadmica: Phenolic composition and biological activity". *Industrial Crops and Products*, 85, pp.204-212.
- Kodous, A. S., Abdel-Maksoud, M. A., El-Tayeb, M. A., Al-Sherif, D. A., Mohamed, S. S. A., Ghobashy, M. M., et al. (2024) "Hesperidin - loaded PVA/alginate hydrogel: targeting NFκB/iNOS/COX-2/TNF-α inflammatory signaling pathway". *Front Immunol*, 15, pp.1347420.

- Ksouri, R., Ksouri, W. M., Jallali, I., Debez, A., Magné, C., Hiroko, I., et al. (2012) "Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications". *Critical Reviews in Biotechnology*, 32, pp.289-326.
- Kumar, N. Goel, N. (2019) "Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications". *Biotechnology Reports*, 24, pp.e00370.
- Kumar, N., Pruthi, V. Goel, N. (2015) "Structural, thermal and quantum chemical studies of p-coumaric and caffeic acids". *Journal of Molecular Structure*, 1085, pp.242-248.
- Kültür, Ş., Özhatay, N. Gürdal, B. (2019) "Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey IX". *Istanbul Journal of Pharmacy*, 49, pp.105-120.
- Li, X., Qu, L., Dong, Y., Han, L., Liu, E., Fang, S., et al. (2014) "A review of recent research progress on the *Astragalus* genus". *Molecules*, 19, pp.18850-18880.
- Linnek, J., Mitaine-Offer, A. C., Miyamoto, T., Tanaka, C., Paululat, T., Avunduk, S., et al. (2011) "Cycloartane glycosides from three species of *Astragalus* (Fabaceae)". *Helvetica Chimica Acta*, 94, pp.230-237.
- Liu, N., An, X., Wang, Y., Qi, J., Jia, Y., Li, X., et al. (2024) "Polyphenol composition and antioxidant activity of fermentation combined with enzymatic hydrolysis modified *Astragalus membranaceus* stems". *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 11, pp.153.
- Petrovic, M., Suznjovic, D., Pastor, F., Veljovic, M., Pezo, L., Antic, M., et al. (2016) "Antioxidant Capacity Determination of Complex Samples and Individual Phenolics - Multilateral Approach". *Comb Chem High Throughput Screen*, 19, pp.58-65.
- Pietrzak, W., Nowak, R., Gawlik-Dziki, U., Lemieszek, M. K. Rzeski, W. (2017) "LC-ESI-MS/MS Identification of Biologically Active Phenolic Compounds in Mistletoe Berry Extracts from Different Host Trees". *Molecules*, 22, pp.624.
- Pyrzynska, K. (2022) "Hesperidin: A Review on Extraction Methods, Stability and Biological Activities". *Nutrients*, 14.
- Rodrigues, M. J., Soszynski, A., Martins, A., Rauter, A. P., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., et al. (2015) "Unravelling the antioxidant potential and the phenolic composition of different anatomical organs of the marine halophyte *Limonium algarvense*". *Industrial Crops and Products*, 77, pp.315-322.
- Samuel, A. O., Huang, B. T., Chen, Y., Guo, F. X., Yang, D. D. Jin, J. Q. (2021) "Author Correction: Antioxidant and antibacterial insights into the leaves, leaf tea and medicinal roots from *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge". *Sci Rep*, 11, pp.20581.

- Sarikurkcü, C., Sahinler, S. S., Ceylan, O. Tepe, B. (2020a) "*Onosma pulchra*: Phytochemical composition, antioxidant, skin-whitening and anti-diabetic activity". *Industrial Crops and Products*, 154, pp.112632.
- Sarikurkcü, C., Sahinler, S. S. Tepe, B. (2020b) "*Astragalus gymnolobus*, *A. leporinus* var. *hirsutus*, and *A. onobrychis*: Phytochemical analysis and biological activity". *Industrial Crops and Products*, 150.
- Sarikurkcü, C., Sahinler, S. S. Tepe, B. (2020c) "*Astragalus gymnolobus*, *A. leporinus* var. *hirsutus*, and *A. onobrychis*: Phytochemical analysis and biological activity". *Industrial Crops and Products*, 150, pp.112366.
- Sarikurkcü, C., Sahinler, S. S. Tepe, B. (2020d) "*Onosma aucheriana*, *O. frutescens*, and *O. sericea*: Phytochemical profiling and biological activity". *Industrial Crops and Products*, 154, pp.112633.
- Sarikurkcü, C. Zengin, G. (2020a) "Polyphenol Profile and Biological Activity Comparisons of Different Parts of *Astragalus macrocephalus* subsp. *finitimus* from Turkey". *Biology-Basel*, 9.
- Sarikurkcü, C. Zengin, G. (2020b) "Polyphenol Profile and Biological Activity Comparisons of Different Parts of *Astragalus macrocephalus* subsp. *finitimus* from Turkey". *Biology*, 9, pp.231.
- Shahrivari-Baviloliaei, S., Erdogan Orhan, I., Abaci Kaplan, N., Konopacka, A., Waleron, K., Plenis, A., et al. (2024) "Characterization of Phenolic Profile and Biological Properties of *Astragalus membranaceus* Fisch. ex Bunge Commercial Samples". *Antioxidants*, 13, pp.993.
- Sheng, Z., Jiang, Y., Liu, J. Yang, B. (2021) "UHPLC–MS/MS Analysis on Flavonoids Composition in *Astragalus membranaceus* and Their Antioxidant Activity". *Antioxidants*, 10, pp.1852.
- Sun, T. Tanumihardjo, S. A. (2007) "An Integrated Approach to Evaluate Food Antioxidant Capacity". *Journal of Food Science*, 72, pp.R159-R165.
- Tawfik, S., El-Rashidy, F. Kodous, A. S. (2008) "Radio protective effects of G-Hesperidin against total body γ -irradiation in rat". *Egypt J Sci Appl*, 21, pp.145-57.
- Tepe, B., Sarikurkcü, C., Berk, S., Alim, A. Akpulat, H. A. (2011) "Chemical composition, radical scavenging and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus boveii* and *Thymus hyemalis*". *Records of Natural Products*, 5, pp.208-220.
- Wang, Y.-S., Shen, C.-Y. Jiang, J.-G. (2019) "Antidepressant active ingredients from herbs and nutraceuticals used in TCM: pharmacological mechanisms and prospects for drug discovery". *Pharmacological Research*, 150, pp.104520.

- Yamazaki, E., Inagaki, M., Kurita, O. Inoue, T. (2007) "Antioxidant activity of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum* DC.) fruit". *Food Chemistry*, 100, pp.171-177.
- Yildirim, A., Uyar, E. Turker, A. (2020) "In vitro Culture of Endemic *Astragalus gymmolobus* Fischer and Comparison of its Antibacterial, Antioxidant, and Phenolic Profiles with Field Grown Plants". *Journal of Agricultural Science and Technology*, 22, pp.815-828.
- Zengin, G., Cvetanović, A., Gašić, U., Stupar, A., Bulut, G., Senkardes, I., et al. (2019) "Chemical composition and bio-functional perspectives of *Erica arborea* L. extracts obtained by different extraction techniques: Innovative insights". *Industrial Crops and Products*, 142, pp.111843.
- Zengin, G., Sakina, Y., Kouadio Ibrahime, S., Yildiztugay, E., József, J., Zoltán, C., et al. (2024) "Screening for Chemical Components, Antioxidant, and Anti-enzymatic Activities of Three *Astragalus* Species from Turkey". *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 38, pp.973-987.
- Zengin, G., Sarikurkcu, C., Gunes, E., Uysal, A., Ceylan, R., Uysal, S., et al. (2015a) "Two *Ganoderma* species: Profiling of phenolic compounds by HPLC-DAD, antioxidant, antimicrobial and inhibitory activities on key enzymes linked to diabetes mellitus, Alzheimer's disease and skin disorders". *Food & Function*, 6, pp.2794-2802.
- Zengin, G., Sarikurkcu, C., Uyar, P., Aktumsek, A., Uysal, S., Kocak, M. S., et al. (2015b) "*Crepis foetida* L. subsp *rhoeadifolia* (Bleb.) Celak. as a source of multifunctional agents: Cytotoxic and phytochemical evaluation". *Journal of Functional Foods*, 17, pp.698-708.
- Zhang, N., Ying, M. D., Wu, Y. P., Zhou, Z. H., Ye, Z. M., Li, H., et al. (2014) "Hyperoside, a flavonoid compound, inhibits proliferation and stimulates osteogenic differentiation of human osteosarcoma cells". *PLoS One*, 9, pp.e98973.

EKLER

EK-1: Tez İntihal Raporu

Nilgün Orman_Yüksek_Lisans_Tezi

ORJİNALLİK RAPORU

% 14	% 12	% 6	% 5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.isarconference.org İnternet Kaynağı	%5
2	toad.halileksi.net İnternet Kaynağı	%2
3	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
4	en.isarconference.org İnternet Kaynağı	%1
5	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	%1
6	Submitted to Kahramanmaraş Sütçü İmam University Öğrenci Ödevi	<%1
7	Aladi, Hatice İnci. "Edremit Körfezi (Balıkesir) Kıyı Bölgesinde Yenilebilir Bazı Doğal Bitkilere Uygulanan Haslama Yönteminin Fenolik Bilesikler Üzerine Etkisi.", Balıkesir University (Turkey), 2024 Yayın	<%1
8	Submitted to London School of Hygiene and Tropical Medicine Öğrenci Ödevi	<%1
9	acikerisim.kastamonu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
10	Submitted to National University of Public Service - Institute for Research and Development on State and Governance Öğrenci Ödevi	<%1

11	Submitted to Mount Kenya University Öğrenci Ödevi	<% 1
12	Kendir, Gülsen. "Türkiyede Doğal Olarak Yetişen Ribes L Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Yönünden Araştırmalar", Ankara Üniversitesi (Turkey), 2024 Yayın	<% 1
13	Ha Nam Khanh Giao, Tran Dieu Hang, Nguyen Pham Hanh Phuc, Huynh Quoc Tuan, Ha Kim Hong, Nguyen Thi Kim Ngan. "Giáo trình Marketing Du lịch", Open Science Framework, 2022 Yayın	<% 1
14	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	<% 1
15	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
16	dokumen.pub İnternet Kaynağı	<% 1
17	İnci Kurt-Celep, Gokhan Zengin, Kouadio Ibrahime Sinan, Gunes Ak et al. "Comprehensive evaluation of two Astragalus species (A. campylosema and A. hirsutus) based on biological, toxicological properties and chemical profiling", Food and Chemical Toxicology, 2021 Yayın	<% 1
18	Submitted to Izmir Katip Æelebi Æniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
19	Submitted to TechKnowledge Öğrenci Ödevi	<% 1
20	eprints.hud.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1

21	acikerisim.erbakan.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
22	worldwidescience.org İnternet Kaynağı	<%1
23	Submitted to Birkbeck College Öğrenci Ödevi	<%1
24	Esra Aydemir, Elif Odabaş Köse, Mustafa Yavuz, A. Cansu Kilit et al. "Phenolic Compound Profiles, Cytotoxic, Antioxidant, Antimicrobial Potentials and Molecular Docking Studies of Astragalus gymnolobus Methanolic Extracts", Plants, 2024 Yayın	<%1
25	acikerisim.sakarya.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
26	Meriç, Zehra Ilke. "Marmara Bölgesin'nde Yetişen Bazı Bitkilerin Cilt Leke Giderici ve Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2024 Yayın	<%1
27	Yalçınçıray, Özlem. "Farklı biralarda proses aşamalarının fenolik bileşim ve antioksidan aktivite üzerine etkisinin belirlenmesi", Ankara Üniversitesi (Turkey), 2024 Yayın	<%1
28	scienceon.kisti.re.kr İnternet Kaynağı	<%1
29	"Ethnobiology of Uzbekistan", Springer Science and Business Media LLC, 2023 Yayın	<%1
30	Okyay, Benan. "Hypericum thymopsis Boiss. (Hypericaceae) Üzerinde Fitokimyasal ve Biyoaktivite Çalışmaları", Anadolu University (Turkey), 2022	<%1

31	Yamas, Mert. "Barbados Kirazi Meyvesindeki Fenolik Bilesiklerin Ekstraksiyon Optimizasyonu Ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi.", Marmara Universitesi (Turkey), 2021 Yayın	<% 1
32	acikkaynak.bilecik.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
33	dspace.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
34	en.iksadkongre.net İnternet Kaynağı	<% 1
35	garuda.ristekbrin.go.id İnternet Kaynağı	<% 1
36	www.mdpi.com İnternet Kaynağı	<% 1
37	www.reportshop.co.kr İnternet Kaynağı	<% 1
38	H.L. Fredrickson, T.E. Cappenberg, J.W. Leeuw. "Polar lipid ester-linked fatty acid composition of Lake Vechten seston: an ecological application of lipid analysis", FEMS Microbiology Letters, 1986 Yayın	<% 1
39	Cengiz Sarikurcu, Saliha Seyma Sahinler, Bektas Tepe. "Astragalus gymnobus, A. leporinus var. hirsutus, and A. onobrychis: Phytochemical analysis and biological activity", Industrial Crops and Products, 2020 Yayın	<% 1
40	Guclu, Ebru. "Uzun Kodlamayan Rna Hif1a-as2'Nin Kucuk Hucreli Akciger Kanserinde Otofaji ile iliskili Kemoterapotik Direncteki	<% 1