



***OXYTROPIS ARGYROLEUCA* BORNH.
BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE
BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN
ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Kevser AYÇİÇEK

Eskişehir 2025

***OXYTROPIS ARGYROLEUCA* BORN. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE
BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI**

Kevser AYÇİÇEK

DOKTORA TEZİ

Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Temmuz 2025

Eskişehir

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Kevser Ayçiçek'in “*Oxytropis argyroleuca* Bornm. Bitkisinin Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite Açısından Araştırılması” başlıklı tezi 04/07/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı):	Prof. Dr. Gülmira ÖZEK	
Üye :	Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK	
Üye :	Prof. Dr. Nuraniye ERUYGUR	
Üye :	Doç. Dr. Erol ŞENER	
Üye :	Doç. Dr. Gamze GÖGER	

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Oxytropis argyroleuca Bornm. BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOLOJİK AKTİVİTE AÇISINDAN ARAŞTIRILMASI

Kevser AYÇİÇEK

Farmakognozi Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Temmuz 2025

Danışman: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

Tez çalışması kapsamında *Oxytropis argyroleuca* Bornm. (Fabaceae) türü üzerinde kapsamlı fitokimyasal ve biyolojik aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Çiçek uçucu bileşenleri MBD-KFME yöntemi ile, herba ve kök kısımlarından farklı polariteli ham ekstraler ve alt fraksiyonlar hazırlanmıştır. Tohum ve herbadan sabit yağ asitleri ve vitaminler tanımlanmıştır. Elde edilen ekstrelerin kimyasal içerikleri çeşitli kromatografik teknikler kullanılarak incelenmiştir. Toplam fenolik ve toplam flavonoit miktar tayinleri gerçekleştirilmiştir. Çiçeklerin uçucu bileşen analizinde linalol, α -terpineol, borneol, kafur ve (*E*)-geranil aseton major bileşikler olarak belirlenmiştir. Kök ve herba sabit yağ profilinde, palmitik asit, stearik asit, nonadekanoik asit, linoleik asit, linolenik asit öne çıkan bileşikler olarak tespit edilmiştir. Tohumlarda, lipofilik vitaminler grubundan vitamin E bulunmuştur. Herba polar ve apolar ekstralarında başlıca pinitol, sukroz, β -glukopiranoz ve α -glukopiranoz, heksakosanol, triakontanoik asit, oktakosanoik asit, nonakosan ve β -sitosterol bulunmuştur. Kök polar ve apolar ekstralarında major bileşikler olarak fitosteroller (β -sitosterol, stigmasterol ve stigmasteren-4-en-3-on), diterpenoitler ((13*R*)-8,13-epoksi-labd-14-en-2-on) ve triterpenoitler (lup-20(30)-en-3-on, lupeol, friedelan-3-on ve oleanolik asit), şekerler (sukroz ve rafinoz) tespit edilmiştir. Etil asetatlı fraksiyonda başlıca flavonoitler olarak astragalin, izokersitrin, kersetin ve izoflavonlar; genistin ve genistein tanımlanmıştır. Fenolik asitlerden gentisik, salisilik ve protokateşik asitleri bulunmuştur. Herba kısmında suda çözünen polisakkaritlerin kompozisyonu aydınlatılmıştır. Etil asetat fraksiyonun etkili antioksidan potansiyeline ve anti- α -amilaz ve anti- α -glukozidaz enzimlerini inhibe etme potansiyeline sahip olduğu saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Oxytropis argyroleuca* Bornm., Fabaceae, Endemik, Astragalin, Kimyasal Kompozisyon.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF *Oxytropis argyroleuca* BORNH. PLANT IN TERMS OF PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITY

Kevser AYÇİÇEK

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School, July 2025

Supervisor: Prof. Dr. Gülmira ÖZEK

In the scope of this thesis, phytochemical investigations and biological activity assessments were carried out on *Oxytropis argyroleuca* Bornh. (Fabaceae). The flower volatiles were obtained using the MSD-SPME technique, while extracts and sub-fractions with different polarities were prepared from the herb and root parts of the plant. The fixed fatty acids and lipophilic vitamins were extracted from seeds and aerial parts. The chemical compositions of the volatiles, fatty acids, lipophilic vitamins, polysaccharides, and extracts were analyzed using different chromatography techniques. The total phenolic content and total flavonoid content determinations were performed. Major volatile constituents were identified as linalool, α -terpineol, borneol, camphor, and (*E*)-geranyl acetone. The dominant fatty acids were determined to be palmitic, stearic, nonadecanoic, linoleic, linolenic acids. In the seeds, the vitamin E was detected. The aerial part extracts contained major components such as pinitol, sucrose, β -glucopyranose, α -glucopyranose, hexacosanol, triacontanoic acid, octacosanoic acid, nonacosane, and β -sitosterol. In the root extracts, the major constituents were phytosterols (β -sitosterol, stigmasterol, and stigmast-4-en-3-one), diterpenoids ((13*R*)-8,13-epoxy-labd-14-en-2-one), triterpenoids (lup-20(30)-en-3-one, lupeol, friedelan-3-one), and sugars (sucrose and raffinose). The ethyl acetate fraction was found to contain flavonoids, including astragalin, isoquercitrin, and quercetin, as well as isoflavones such as genistin and genistein. Among the phenolic acids, gentisic, salicylic, and protocatechuic acids were identified. The composition of water-soluble polysaccharides from the aerial parts was elucidated. The ethyl acetate fraction exhibited significant antioxidant activity and showed inhibitory potential against α -amylase and α -glucosidase enzymes, indicating possible antidiabetic effects.

Keywords: *Oxytropis argyroleuca* Bornh., Fabaceae, Endemic, Astragalin, Chemical composition.

TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülmira Özek'e, çalışmam boyunca göstermiş olduğu akademik rehberlik, sabır ve değerli katkılarından dolayı en içten teşekkürlerimi sunarım. Kendilerinin desteği bu çalışmanın şekillenmesinde belirleyici olmuştur.

Gaz kromatografik analizlerdeki yardımları için Prof. Dr. Temel Özek'e, bitki toplanması ve teşhisindeki katkıları için Dr. Ömer Koray Yaylacı'ya, bitki materyalinin toplanması ve UBBK analizlerindeki yardımları dolayısıyla Dr. Süleyman Yur'a, ve SK-KS analiz sürecinde destek veren Dr. Mustafa Abdullah Yılmaz'a teşekkür ederim.

Çalışmanın yürütülmesinde katkı sağlayan tüm kişi ve kurumlara saygı ve şükranlarımı sunarım.

04/07/2025

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmamın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Kevser AYÇİÇEK

04/07/2025

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken üretken yapay zekâ programlarından destek almadığımı beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Kevser AYÇİÇEK



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	viii
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI	ix
İÇİNDEKİLER	x
TABLolar DİZİNİ	xiv
GÖRSELLER DİZİNİ	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxii
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 KAYNAK BİLGİSİ	4
2.1 Fabaceae Familyası Genel Bilgileri	4
2.2 <i>Oxytropis</i> DC. Cinsi Taksonomik Bilgileri	5
2.3. <i>Oxytropis argyroleuca</i> Bornm. Morfolojik Özellikleri	8
2.4 <i>Oxytropis</i> Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri	10
2.5 <i>Oxytropis</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Araştırmalar	11
2.6 Antioksidanların Önemi	20
2.6.1 Serbest radikaller	22
2.6.2 Antioksidan maddeler	23
2.6.2.1 <i>Endojen antioksidanlar</i>	23
2.6.2.2 <i>Enzimatik antioksidanlar</i>	23
2.6.2.3 <i>Nonenzimatik antioksidanlar</i>	24
2.6.2.4. <i>Ekzojen antioksidanlar</i>	25
2.6.3 Antioksidan aktivite tayinleri	26
2.6.3.1 <i>2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürme testi (DPPH)</i>	26

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
2.6.3.2 Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasitesi testi (TEAK)	27
2.6.3.3 Gümüş nanoparçacık antioksidan kapasite testi (GNPAK)	27
2.7 Toplam Fenolik Madde Miktarı	27
2.8 Toplam Flavonoit Madde Miktarı	28
2.9 Antidiyabetik Araştırmaların Önemi	29
2.9.1 α -Amilaz enzim inhibisyonu	30
2.9.2 α -Glukozidaz enzim inhibisyonu	30
3 MATERYAL VE METOT	32
3.1 Bitkisel Mateyal	32
3.2 Kimyasal Maddeler	35
3.3 Cihaz ve Apareyler	36
3.4 Temel Teşhis Reaksiyonları	37
3.4.1 Saponin glikozitlerin tanımlanması	37
3.4.2 Flavon glikozitlerin tanımlanması	39
3.5. Ekstraksiyon İşlemleri	40
3.5.1 Uçucu bileşenlerin mikro buhar-distilasyonu katı faz mikroekstraksiyonu (MBD-KFME)	40
3.5.2 Sabit yağ asitlerin mikroekstraksiyonu	41
3.5.3 Yağda çözünen vitaminlerin mikroekstraksiyonu	42
3.5.4 Total ekstrelerin eldesi	42
3.5.5 Polar ekstrenin hazırlanması ve fraksiyonlanması	43
3.5.6 Suda çözünen polisakkaritlerin ekstraksiyonu	44
3.6 Kromatografik Analizler	44
3.6.1 Uçucu bileşen ve sabit yağ asitleri gaz kromatografik (GK-AİD/KS) analizi	44
3.6.2 Silil türevlerinin gaz kromatografik (GK-AİD/KS) analizi	45
3.6.3 Fenolik bileşenlerin ince tabaka kromatografisi (İTK) analizi	46
3.6.4 Fenolik bileşenlerin sıvı kromatografik (YR-YBSK) analizi	46

İÇİNDEKİLER

Sayfa

3.6.5 Yağda çözünen vitaminlerin ultra performans birleşim (UBBK) kromatografisi analizi	47
3.6.6 Suda çözünebilen polisakkaritlerin analizi	49
3.7 Spektrofotometrik Miktar Tayinleri	49
3.7.1 Toplam fenol miktar tayini	49
3.7.2 Toplam flavonoit miktar tayini	50
3.8 Biyolojik Aktivite Testleri	51
3.8.1 Serbest radikal süpürücü etkinin değerlendirilmesi (DPPH Testi)	51
3.8.2 Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitenin değerlendirilmesi (TEAK)	52
3.8.3 Gümüş nanopartikül antioksidan kapasitenin değerlendirilmesi (GNPAK)	53
3.8.4 α -Amilaz inhibisyon testi	54
3.8.5 α -Glukozidaz inhibisyon testi	54
4 BULGULAR	56
4.1 Temel Teşhis Reaksiyonları Sonuçları	56
4.1.1 Saponinlerin teşhisi	56
4.1.2 Flavon glikozitlerinin teşhisi	57
4.2 Ekstrelerin Tipleri ve Verimi	57
4.3 Kromatografik Analizlerin Sonuçları	59
4.3.1 Uçucu bileşen kimyasal kompozisyonu	59
4.3.2 Sabit yağ asitleri kimyasal kompozisyonu	62
4.3.3 Silil türevlerinin kimyasal kompozisyonu	64
4.3.4 Fenolik bileşenlerin kimyasal kompozisyonu	74
4.3.5 Yağda çözünen vitaminlerin kompozisyonu	82
4.3.6 Suda çözünen polisakkaritlerin kompozisyonu	85
4.4 Spektrofotometrik Ölçümlerin Sonuçları	91
4.4.1 Toplam fenol miktarları	91
4.4.2 Toplam flavonoit miktarları	91

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
4.5 Biyolojik Aktivite Sonuçları	92
4.5.1 Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi) sonuçları	92
4.5.2 Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAK testi) değerlendirmesi sonuçları	94
4.5.3 Gümüş nanopartikül bazlı polifenollerin antioksidan kapasite ölçümü (GNPAK) sonuçları	95
4.5.4 α -Amilaz inhibisyon testi sonuçları	96
4.5.5 α-Glukozidaz inhibisyon testi sonuçları	97
5. YORUM ve TARTIŞMA	99
5.1 Uçucu Bileşen Profili	99
5.2 Sabit Yağ Bileşen Profili	102
5.3 Lipofilik Vitaminler Profili	103
5.4 Polar ve Apolar Total Ekstrelerin Silil Türevleri	104
5.5 Polisakkarit Bileşen Profili	109
5.6 Polisakkaritlerinin Kızılötesi Spektroskopisi ile Yapısal Analizi	109
5.7 Biyolojik Aktivite Değerlendirmeleri	111
6. SONUÇ	115
Kaynaklar	117
Özgeçmiş	126

TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1 <i>Oxytropis</i> Cinsinin Dünya Üzerinde Dağılımı.....	6
Tablo 2.2 <i>Oxytropis</i> Türleri ile İlgili Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	10
Tablo 2.3. <i>Oxytropis</i> Türlerinde Tespit Edilen Fenolik Bileşikleri.....	12
Tablo 2.4. <i>Oxytropis</i> Türlerinde Tespit Edilen Alkaloid Grubu Bileşikleri.....	15
Tablo 2.5 <i>Oxytropis</i> Türlerinde Tespit Edilen Saponin Grubu Bileşikleri.....	16
Tablo 2.6 <i>Oxytropis</i> Türlerinde Tespit Edilen Terpen Grubu Bileşikleri.....	18
Tablo 2.7 <i>Oxytropis</i> Türlerinde Tespit Edilen Karbonhidrat Grubu Bileşikleri.....	18
Tablo 2.8 <i>Oxytropis</i> Türlerinde Tespit Edilen Sterol Grubu Bileşikleri.....	19
Tablo 2.9 <i>Oxytropis</i> Türlerinde Tespit Edilen Lipit Grubu Bileşikleri.....	20
Tablo 3.1 Kimyasal Madde ve Çözücü Bilgileri	35
Tablo 3.2 Kullanılan Cihaz ve Aparent Bilgileri.....	36
Tablo 3.3 SK-YÇKS Analizlerinde Uygulanan Mobil Faz Gradyen Programı.....	47
Tablo 3.4 UBBK-FDD Sistemi ile Vitamin Analizi Gradyen Programı.....	48
Tablo 4.1 <i>O. argyroleuca</i> Bitkisinden Elde Edilen Ekstre Türleri ve Verim Bilgileri.....	58
Tablo 4.2 <i>O. argyroleuca</i> Uçucu Bileşen Kimyasal Kompozisyonu.....	59
Tablo 4.3 <i>O. argyroleuca</i> Uçucu Bileşiklerin Sınıf Dağılımı.....	61
Tablo 4.4 <i>O. argyroleuca</i> Tohum Yağ Asitler (OS-YAME) Kimyasal Kompozisyonu.....	62
Tablo 4.5 <i>O. argyroleuca</i> Herba Yağ Asitleri (OH-YAME) Kompozisyonu	63
Tablo 4.6 <i>O. argyroleuca</i> Herba Ham Apolar Ekstresi Kompozisyonu	64
Tablo 4.7 <i>O. argyroleuca</i> Herba Ham Polar Ekstresi Kompozisyonu	65
Tablo 4.8 <i>O. argyroleuca</i> Kök Ham Apolar Ekstresi Kompozisyonu	66

TABLÖLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 4.9 <i>O. argyroleuca</i> Kök Ham Polar Ekstresi Kimyasal Kompozisyonu.....	67
Tablo 4.10 <i>O. argyroleuca</i> Petrol Eterli Fraksiyonun (OHPE) Kimyasal Kompozisyonu.....	68
Tablo 4.11 <i>O. argyroleuca</i> Kloroformlu Fraksiyonunun (OHKE) Kimyasal Kompozisyonu.....	70
Tablo 4.12 <i>O. argyroleuca</i> Etilasetatlı Fraksiyonunun (OHEE) Kimyasal Kompozisyonu.....	71
Tablo 4.13 <i>O. argyroleuca</i> Butanollü Fraksiyonunun (OHBE) Kimyasal Kompozisyonu.....	72
Tablo 4.14 <i>O. argyroleuca</i> Sulu Fraksiyonunun (OHSE) Kimyasal Kompozisyonu.....	73
Tablo 4.15 <i>O. argyroleuca</i> Etilasetatlı Fraksiyonun Kimyasal Bileşimi (YBSK).....	77
Tablo 4.16 SK-KS/KS Yöntemine Ait Analitik Yöntem Doğrulama Parametreleri.....	79
Tablo 4.17 <i>O. argyroleuca</i> UBBK Tekniği ile Vitaminler Analiz Sonuçları	85
Tablo 4.18 <i>O. argyroleuca</i> Suda Çözünen Polisakkaritlerin Kompozisyonu	87
Tablo 4.19 <i>O. argyroleuca</i> Pektin Kompozisyonu.....	89
Tablo 4.20 <i>O. argyroleuca</i> Hemiselüloz Kompozisyonu.....	90
Tablo 4.21 <i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin Gallik Asite Eşdeğer Toplam Fenol Miktarı	91
Tablo 4.22 <i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin Rutine Eşdeğer Toplam Flavonoit Miktarları.....	92
Tablo 4.23 <i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikal Süpürme Etkisi.....	93
Tablo 4.24 <i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin Trolox'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite Değerleri.....	95

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 4.25 <i>O. arguroleuca</i> Ekstrelerinin GNPAK Sonuçları.....	96
Tablo 4.26 <i>O. arguroleuca</i> Ekstrelerinin α -Amilaz Enzimi Üzerinde İnhbisyon Sonuçları.....	96
Tablo 4.27 <i>O. arguroleuca</i> Ekstrelerinin α -Glukozidaz Enzimi Üzerinde İnhbisyon Sonuçları.....	98



GÖRSELLER DİZİNİ

		<u>Sayfa</u>
Görsel 2.1	<i>Oxytropis</i> Türlerinin Türkiye’de Yayılışı.....	5
Görsel 2.2	<i>Oxytropis argyroleuca</i>	9
Görsel 3.1	<i>Oxytropis argyroleuca</i> Bitkisinin Doğadaki Görünümü.....	33
Görsel 3.2	<i>Oxytropis argyroleuca</i> Bitkisinin Hebaryum Örneği.....	34
Görsel 3.3	<i>O. argyroleuca</i> Çiçekleri Uçucu Bileşeni MBD-KFME Ekstraksiyonu.....	40
Görsel 3.4	<i>O. argyroleuca</i> Sabit Yağ Asitleri Mikroekstraksiyonu ve Transesterifikasyonu.....	41
Görsel 3.5	Bitkisel Materyal Maserasyonu ve Ekstrenin Evaporasyonu.....	43
Görsel 3.6	Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu İşlemleri.....	44
Görsel 3.7	Gaz Kromatografisi Sistemi.....	45
Görsel 3.8	Ultra Performans Birleşim Kromatografisi (UBBK-FDD) Sistemi (ACQUITY UBBK modeli).....	48
Görsel 4.1	Salkowski Reaksiyonu Sonucunda Görülen Renk Değişimi	56
Görsel 4.2	Lieberman-Burchard Reaksiyonu Sonucunda Görülen Renk Değişimi.....	57
Görsel 4.3	Shibata Reaksiyonu Sonucunda Görülen Renk Değişimi.....	57
Görsel 4.4	<i>O. argyroleuca</i> Fraksiyonlarının İTK ile İncelemesi.....	75
Görsel 4.5	<i>O. argyroleuca</i> Etilasetatlı Fraksiyonun (OHEE) Shibata Testi Sonucu.....	75
Görsel 4.6	<i>O. argyroleuca</i> Suda Çözünen Polisakkarit Hidrolizatının Kağıt Kromatogramı.....	85
Görsel 4.7	<i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin Folin-Ciocalteu Reaktifiyle Gösterdiği Renk Değişimi.....	91
Görsel 4.8	<i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin AlCl ₃ Reaktifi İle Renk Değişimleri.....	92

GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 4.9 <i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikal Süpürme Etkisi.....	93
Görsel 4.10 <i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin Deney Sonucu ABTS Reaktifi İle Renk Değişimi.....	94
Görsel 4.11 <i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin SNAP Reaktifi Etkisi ile Renk Değişimi.....	95
Görsel 4.12 <i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin α -Amilaz İnhibisyonu Testinde Renk Değişim.....	96
Görsel 4.13 <i>O. argyroleuca</i> Ekstrelerinin α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Sonucunda Meydana Gelen Renk Değişim.....	97

ŞEKİLLER DİZİNİ

		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1	<i>Oxytropis</i> ve <i>Astragalus</i> cinslerinin birbirinden ayrılmasının kronolojisi.....	7
Şekil 2.2	Swainsonin Kimyasal Yapısı.....	14
Şekil 2.3	Fenolik Bileşiğin Folin-Ciocalteu Reaktifi ile Tepkimesi.....	28
Şekil 2.4	Flavonoit Tipi Bileşiğin $AlCl_3$ ile Şelat Oluşturma Tepkimesi....	29
Şekil 3.1	Saponin Glikozit Molekülü.....	37
Şekil 3.2	Salkowski Tepkimesinin Mekanizması.....	38
Şekil 3.3	Liebermann-Burchard Tepkimesinin Mekanizması.....	38
Şekil 3.4	Flavonoit Molekülü.....	39
Şekil 3.5	Shibata Tepkimesi Mekanizması.....	39
Şekil 3.6	Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi.....	49
Şekil 3.7	Rutin Kalibrasyon Eğrisi.....	50
Şekil 3.8	Trolox Kalibrasyon Eğrisi.....	52
Şekil 3.9	Askorbik Asit Kalibrasyon Eğrisi.....	54
Şekil 4.1	<i>O. argyoleuca</i> Tohum Yağ Asitleri Metil Esterlerinin (OS-YAME) Kromatografik Ayırımı.....	62
Şekil 4.2	<i>O. argyoleuca</i> Herba Yağ Asitleri Metil Esterlerinin (OH-YAME) Kromatografik Ayırımı.....	63
Şekil 4.3	<i>O. argyoleuca</i> Herba Ham Apolar Ekstresi Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı.....	65
Şekil 4.4	<i>O. argyoleuca</i> Herba Ham Polar Ekstresi Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı.....	65
Şekil 4.5	<i>O. argyoleuca</i> Kök Ham Apolar Ekstresi Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı.....	66
Şekil 4.6	<i>O. argyoleuca</i> Kök Ham Polar Ekstresi Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı.....	68
Şekil 4.7	<i>O. argyoleuca</i> Petrol Eterli Fraksiyonun (OHPE) Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı.....	70
Şekil 4.8	<i>O. argyoleuca</i> Kloroformlu Fraksiyonun (OHKE) Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı.....	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

		<u>Sayfa</u>
Şekil 4.9	<i>O. argyroleuca</i> Etilasetatlı Fraksiyonun Bileşiklerinin (OHEE) Kromatografik Ayırımı.....	72
Şekil 4.10	<i>O. argyroleuca</i> Butanollü Fraksiyonu (OHBE) Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı.....	73
Şekil 4.11	<i>O. argyroleuca</i> Sulu Fraksiyonu (OHSE) Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı.....	74
Şekil 4.12	Standart Fenolik Bileşiklerin Kromatografik Ayırımı (YBSK).....	76
Şekil 4.13	<i>O. argyroleuca</i> Polar Ekstrenin Etilasetatlı Fraksiyonun Bileşiklerin Kromatografik Ayırımı (YBSK).....	76
Şekil 4.14	Yağda Çözünen Vitaminlerin (Vit K1, Vit K2, Vit E, Vit E asetat, Vit A Palmitat, b-Karoten) UV Spektrumları.....	82
Şekil 4.15	Standart Vitaminler ve <i>O. argyroleuca</i> Tohumunun Kromatogram Karşılaştırması.....	83
Şekil 4.16	Standart Yağda Çözünen Vitaminlerin Kalibrasyon Eğrileri.....	84
Şekil 4.17	<i>O. argyroleuca</i> Suda Çözünen Polisakkarit Fraksiyonunun Kızılötesi Spektrumu.....	86
Şekil 4.18	<i>O. argyroleuca</i> Pektin Fraksiyonunun Kızılötesi Spektrumu.....	86
Şekil 4.19	<i>O. argyroleuca</i> Hemiselüloz Fraksiyonunun Kızılötesi Spektrumu.....	87
Şekil 4.20	<i>O. argyroleuca</i> Suda Çözünen Polisakkarit Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı.....	88
Şekil 4.21	<i>O. argyroleuca</i> Pektin Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı	89
Şekil 4.22	<i>O. argyroleuca</i> Hemiselüloz Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı.....	90
Şekil 4.23	<i>O. argyroleuca</i> Ekstreleri ve Gallik Asit İnhibisyon Eğrileri (DPPH testi).....	94
Şekil 4.24	<i>O. argyroleuca</i> Ekstreleri ve Akarboz α -Amilaz Enzimi İnhibisyon Eğrileri (SigmaPlot).....	97
Şekil 4.25	<i>O. argyroleuca</i> Ekstreleri ve Akarboz α -Glukozidaz Enzimi İnhibisyon Eğrileri (SigmaPlot).....	98

ŞEKİLLER DİZİNİ

		<u>Sayfa</u>
Şekil 5.1	<i>O. argyroleuca</i> Uçucu Bileşiklerinin MBD-KFME Tekniği ile Kromatografik Ayırımı.....	99
Şekil 5.2	Çiçek Uçucu Bileşiklerinin Dağılımı.....	100
Şekil 5.3	<i>O. argyroleuca</i> Herba Ham Apolar Ekstrede Bileşiklerin Sınıf Dağılımı.....	105
Şekil 5.4	<i>O. argyroleuca</i> Kök Ham Apolar Ekstrede Bileşiklerin Sınıf Dağılımı.....	106
Şekil 5.5	<i>O. argyroleuca</i> Kök Ham Polar Ekstrede Bileşiklerin Sınıf Dağılımı.....	106
Şekil 5.6	<i>O. argyroleuca</i> Major Flavonoitleri.....	108

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AİD : Alev iyonlaşma dedektörü

Dek.: Dekoksiyon

DPPH : 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil radikali

Eks.: Ekstre

ET : Elektron transferi

FDD : Foto Diyot Dizisi

GA :Gallik asit

GK: Gaz kromatografisi

GNPAK : Gümüş nanoparçacık antioksidan kapasite

HAT : Hidrojen atomu transferi

İnf : İnfüzyon

KS: Kütle spektrometresi

MBD-KFME: Mikro buhar-distilasyonu katı faz mikroekstraksiyonu

MTBE : Metil tert-butyl ether

SK: Sıvı kromatografisi

TEAK : Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasite

UY: Uçucu yağ

UBBK : Ultra başarılı birleşim bromatografisi

YAME : Sabit yağ asitleri metil esterleri

YBSK : Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

YÇKS: Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Oxytropis DC Fabaceae familyasının en polimorfik cinsidir. Taksonomik değerlendirmeler kapsamında cinsi 310-450 takson temsil etmektedir. Orta Asya'daki en yüksek çeşitliliğe sahip olan cinstir. *Oxytropis*, *Astragalus*'un en yakın akrabalarından biri olarak kabul edilmektedir. Eski çalışmalarda Linnaean'ın *Oxytropis* için verdiği cins tanımlamasında *Astragalus* cinsinin bir alt parçasıydı. Türkiye'de, son taksonomik revizyona göre, 11 *Oxytropis* türü kayıtlıdır. *Oxytropis* türleri literatürde en çok Çin Geleneksel Tıbbındaki kullanımından dolayı tanıtılmıştır. En önemli özelliği, Tibet, Moğol ve Çin tıbbında geniş yelpazede tıbbi özelliklere sahip türlerdir: hemostatik, diüretik, kardiyovasküler, anti-enflamatuar ve antipiretik ajanlar olarak kullanılırlar. Farmakolojik araştırmalarla *Oxytropis* türlerinin antikanser, antihiperglisemik, antidiyabetik, sitotoksik, immünomodulator, antioksidan ve antibakteriyal etkileri *in vitro* ve *in vivo* ortamlarda tespit edilmiştir. Uçucu olmayan sekonder metabolitler açısından ele alındığında *Oxytropis* türlerinde geniş yelpazede sekonder metabolitler, başta flavonoid glikozitler ve triterpenik saponinler olmak üzere, alkaloidler ve sabit yağ asitleri tespit edilmiştir.

Oxytropis türlerinin farmakolojik etki potansiyeline ilişkin daha önce yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde, farklı metabolik prosesler üzerinde *in vitro* ve *in vivo* deneylerde etkili *Oxytropis* türler bulunduğu görülmüştür. Tez kapsamında *O. argyroleuca* bitkisi ile ilgili aşağıdaki çalışmalarının gerçekleştirilmiştir: uçucu bileşenlerinin, sabit yağ asitlerinin, lipofilik vitaminlerin ve farklı polaritelerde çözücülerle ekstraktları elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktlardaki bileşiklerin ayırımı çeşitli kromatografik tekniklerle gerçekleştirilmiştir: İTK, KK, YBSK, SK-KS, GK-AİD, GK/KS, UBBK. Bileşiklerin tanımlamasında spektroskopik yöntemlere başvurulmuştur: UV-VIS, NMR, KS. Biyolojik potansiyel değerlendirilmesinde ekstraktların serbest radikal süpürücü etkisi farklı substrat üzerinde test edilmiştir. Ayrıca, ekstraktların α -amilaz enzim inhibisyonu etkisi test edilmiştir.

Ülkemiz için değerli bu endemik türlerinden sekonder metabolitlerin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması ile antioksidan ve anti- α -amilaz etkilerinin değerlendirilmesi çalışmanın amacını oluşturmaktadır. Cinsin farklı türlerinde de bu etki potansiyelinin mevcut olduğu düşüncesi, çalışılması hedeflenen *O. argyroleuca* türü üzerinde herhangi

bir fitokimyasal çalışma ve biyolojik aktivite çalışması olmaması bu bitkinin tez materyali olarak seçilmesinde etkili olmuştur.

Tez konusunu oluşturan tür *O. argyroleuca* 9-20 cm boyunda, dik ve seyrek tüylerle kaplı bitkidir. Halk arasında “ala gagageveni” olarak bilinmektedir. Tür ile ilgili yapılan kaynak taramasında tür üzerinde taksonomik çalışmalar dışında bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu durum tez konusunun özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Çeşitli *Oxytropis* türleri üzerinde yapılmış çalışmaları dikkate alındığında *O. argyroleuca* türünün üzerinde kapsamlı fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmalarının gerekliliği ortadadır.

Bu tür ile ilgili yapılan kaynak taraması sonucunda bitkinin üzerinde daha önce yapılmış fitokimyasal veya biyolojik aktivite araştırma sonuçlarına rastlanmamıştır.

Bu tez çalışması kapsamında *O. argyroleuca* türünün fitokimyasal profilinin ve biyolojik aktivitesinin araştırılması ve incelenmesi amaçlanmıştır. Bitkiden edilen uçucu bileşenin, sabit yağ asitlerinin ve farklı polariteli çözücülerle elde edilen ekstralarının fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmaları planlanmıştır. Bu çalışma çerçevesinde *O. argyroleuca* bitkisinin üzerinde aşağıdaki araştırmaların yapılması hedeflenmiştir:

- Bitkiden uçucu bileşiklerin elde edilmesi,
- Uçucu bileşiklerin GK-AİD ve GK/KS teknikler ile kimyasal içeriğinin incelenmesi,
- Bitkide yağ asitleri içeriğinin GK-AİD ve GK/KS teknikler ile kimyasal içeriğinin incelenmesi,
- Bitkide lipofilik vitaminlerin içeriğinin UBBK tekniği ile incelenmesi,
- Bitkiden polar ve apolar ekstraların elde edilmesi,
- Elde edilen ekstraların YBSK-KS tekniği ile kimyasal içeriğinin incelenmesi,
- Kök ve herba üzerinde flavonoit teşhis reaksiyonu gerçekleştirilmesi,
- Kök ve herba üzerinde saponin teşhis reaksiyonu gerçekleştirilmesi,
- Polar ve apolar ekstralarda toplam fenol miktarı tayini,
- Polar ve apolar ekstralarda toplam flavonoit miktarı tayini,

- Ekstreler üzerinde antioksidan aktivite testlerinin gerçekleştirilmesi:
 - Serbest radikal süpürme etkisi (DPPH) testi,
 - Troloks’a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAK) testi,
 - Gümüş Nanopartikül Bazlı Polifenollerin Antioksidan Kapasite (GNPAK) testi,
- Ekstreler üzerinde α -glukozidaz ve α -amilaz enzim inhibisyonu araştırılması.

alışmalar kapsamında gerçekleştirilen fitokimyasal incelemeler ve biyolojik aktivite değerlendirilmeleri neticesinde O. argyroleuca türünün içeriği ve farmakolojik potansiyeli ilk kez açıklanmıştır.

2 KAYNAK BİLGİSİ

2.1 Fabaceae Familyası Genel Bilgileri

Fabaceae familyası yaklaşık 770 cins ve 19.500 tür içermekte, Antarktika ve yüksek Arktik alanlar dışında dünya genelindeki hemen her biyomda bulunmaktadır. Bu bitki ailesi, bitki türleri açısından Asteraceae ve Orchidaceae'den sonra üçüncü sırada yer alır. Böyle geniş çeşitlilik, ailenin ekosistemlerdeki rolünün yanı sıra tarımsal önemi konusunda da önemli ipuçları sunmaktadır (Maroyi, 2023).

Fabaceae familyası, dünya genelinde geniş bir yayılım alanına sahip olup bitki çeşitliliği açısından oldukça zengindir. Türkiye'de ise bu familya, yaklaşık 1.144 tür ile temsil edilmektedir ve ülkemizdeki en büyük ikinci bitki familyasıdır. Bu çeşitlilik, Türkiye'nin farklı iklimsel ve coğrafi özellikleriyle desteklenmiştir. Fabaceae türleri, ekolojik, tarımsal ve ekonomik anlamda önemli bir yere sahiptir. Özellikle toprakta azot birikimini sağlamaları, yem bitkisi olarak kullanılmaları ve çeşitli gıda ürünlerinin hammaddesi olmaları nedeniyle dikkat çekerler (Erkul & Aytac, 2013).

Fabaceae familyası, altı ana alt familyaya ayrılmaktadır: Caesalpinioideae (148 cins ve 4400 tür), Cercidoideae (12 cins ve 335 tür), Detarioideae (84 cins ve 760 tür), Dialioideae (17 cins ve 85 tür), Duparquetioideae (tek bir cins içerir) ve Faboideae (veya Papilionoideae) (503 cins ve 14.000 tür). Bu familya üyeleri, ağaçlar, çalılar, alt çalılar, odunsu sarmaşıklar, tırmanıcı tek yıllık bitkiler, otlar ve su bitkileri gibi çeşitlilik gösterir. Çiçekler, genellikle asimetric, bilateral simetric veya radyal simetric olup, yarasalar, kuşlar ve böcekler tarafından tozlaşır. Fabaceae familyasına ait çoğu bitkinin yaprakları bileşik, çift bileşik veya üç yapraklıdır. Ayrıca, bazen şişmiş bir yaprak tabanı, bir lokuluslu üstün yumurtalık ve nadiren etli meyve özellikleri gösterir (Maroyi, 2023).

Fabaceae familyası, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, yüksek protein ve mikro besin içeriği sunarak sağlık ve geçim kaynakları açısından önemli bir yer tutar. Ayrıca, bu bitkiler, farklı ortamlarda kolonize olabilme yetenekleri ve azot sabitleyici bakterilerle kurdukları simbiyotik bağlar sayesinde ekolojik açıdan da büyük bir öneme sahiptir (Gomes vd., 2018).

Familya üyeleri, köklerinde bulunan *Rhizobium* bakterileri aracılığıyla atmosferdeki azotu, bitkiler tarafından kullanılabilir amonyağa dönüştürür. Bu süreç, doğal gübre kaynakları olarak büyük değer taşır ve bu bitkilerin tarımdaki önemini artırır. Ayrıca,

çeşitli yaşam formlarını ve farklı habitatları işgal edebilme yetenekleri, Fabaceae familyasını ekosistemlerde önemli kılar (Sprent, Ardley, & James, 2013).

2.2 *Oxytropis* DC. Cinsi Taksonomik Bilgileri

Oxytropis cinsi Flora of Turkey and East Aegean Island adlı eserin 3. Cildinde yer almaktadır (Davis,1970). Fabaceae familyasına bağlı *Oxytropis* DC. cinsinin, dünya genelinde çeşitli kaynaklara göre 450 ila 587 türü ve alt taksonu bulunur. Bu türler, özellikle Rusya, Avrupa'nın büyük kısmı, Kuzey Amerika, Kanada ve Orta, Batı ve Merkezi Asya'nın çeşitli bölgelerinde yayılım gösterir. Orta ve Kuzey Asya, Sibirya, Qinghai-Tibet Platosu ve Himalayalar *Oxytropis* türlerinin kökeni ve dağılımının merkezi olarak kabul edilir ve türlerin yaklaşık %90'ının yetiştiği ve bunların yaklaşık %30'unun endemik olduğu yerdir (Malyshev, 2008). *Oxytropis* cinsinin dünya üzerinde yayılımı Görsel 2.1'de gösterilmiştir. Cinsin taksonomik pozisyonu şu şekilde gösterilir:

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Superdivision	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Subclass	Rosidae
Order	Fabales
Family	Fabaceae
Genus	<i>Oxytropis</i> DC.

Görsel 2.1

Oxytropis Cinsinin Dünya Üzerindeki Yayılımı



Oxytropis cinsinin dünya üzerinde çeşitli bölge ve ülkelerdeki dağılımı toplam tür sayısı ve endemik tür sayısı Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1

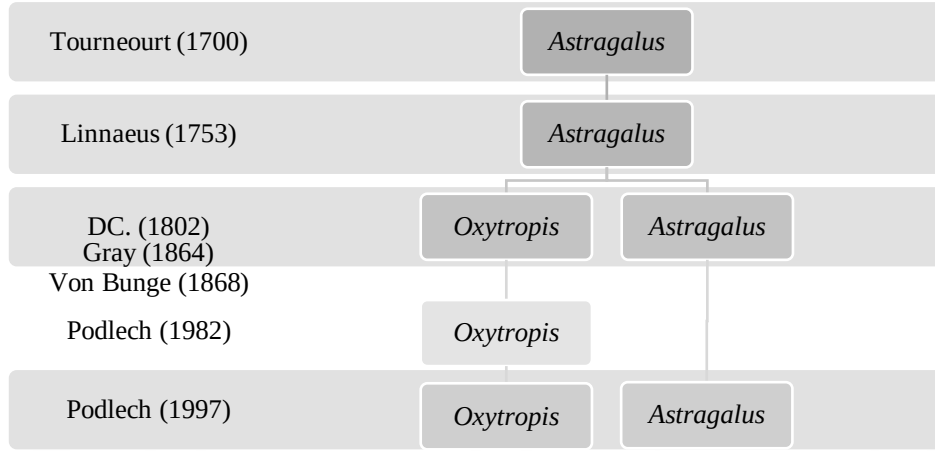
Oxytropis Cinsinin Dünya Üzerindeki Dağılımı

Bölge	Ülke	Toplam Tür Sayısı	Endemik Tür Sayısı
Asya Kıtası	Türkiye	11	1
	Çin	113	70
	Nepal	4	0
	Afganistan	81	33
	İran	41	19
	Pakistan	19	5
	Irak	4	0
U.S.S.R	Rusya	276	205
Avrupa	İtalya	11	4
	Fransa	9	0
	İsviçre	7	0
	Avusturya	7	0
	Yugoslavya	6	0
	İspanya	5	0
	Arnavutluk	5	0
	Romanya	5	0
	Çekoslovakya	4	0
	Polonya	4	0
	Bulgaristan	3	0
	İsveç	3	0
	Norveç	3	0
	İngiltere	2	0
	Almanya	2	0
	Finlandiya	2	0
	Yunanistan	1	0
	Macaristan	1	0
Amerika Kıtası	Kuzey Amerika	26	0

Oxytropis cinsinin özellikleri, ilk kez 1874 yılında Bunge'nin *Species Generis Oxytropis* adlı eserinde açıklanmıştır. 1802 yılına kadar, bu cins *Astragalus* cinsi içinde yer almıştır. Ancak aynı yıl, De Candolle bu iki cinsi birbirinden ayırmıştır (Bunge, 1874; Erkul & Aytac, 2013). *Oxytropis* cinsini *Astragalus*'tan ayıran en önemli özellikler, kayıkçıkta yer alan gaga yapısı, gaganın ucuna kadar uzanan iletim demetleri ve yaprakçık tabanının eğik (oblik) olmasıdır (Şekil 2.1) (Lewis vd., 2005).

Şekil 2.1

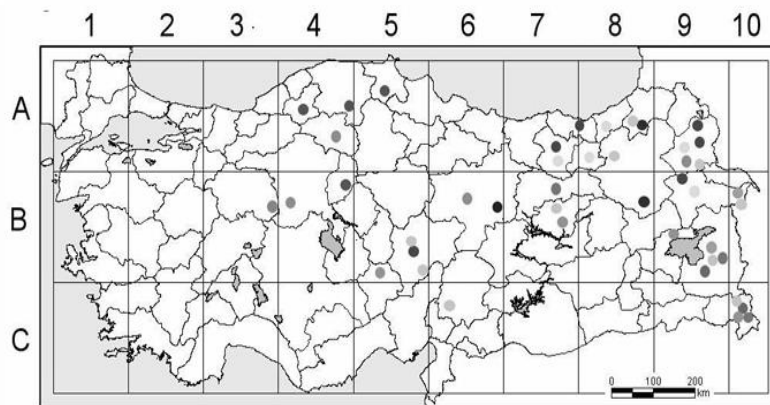
Oxytropis ve *Astragalus* Cinslerinin Birbirinden Ayrılmasının Kronolojisi



Oxytropis cinsi, Türkiye'de en fazla Doğu Anadolu Bölgesi'nde yayılım göstermektedir. Tür çeşitliliği açısından ise Akdeniz, Batı Karadeniz ve Orta Anadolu bölgelerinde daha az zenginlik bulunmaktadır. *Oxytropis* cinsinin en fazla tür çeşitliliğine sahip iller ise Erzincan, Van ve Hakkari olarak öne çıkmaktadır. *Oxytropis* cinsinin Türkiye'deki yayılımı Görsel 2.2'de gösterilmiştir.

Görsel 2.2

Oxytropis Türlerinin Türkiye'de Yayılışı



Bu cins Flora of Turkey'de 13 tür ile temsil edilmektedir. Türkiye'deki *Oxytropis* cinsi revizyonunu Karaman ve Aytaç (2013) tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmada çeşitli

morfolojik karakterleri değerlendirerek cinsin taksonomik durumunu revize edilmiş ve bazı türlerin sinonim olduğunu ifade edilmiştir. Bu nedenle Türkiye'deki *Oxytropis* tür sayısı 13'ten 11'e dşmştir. Endemik tür sayısı ise 3'ten 1'e dşmştir. Endemik *Oxytropis* olarak *O. argyroleuca* türü bildirilmiştir (Erkul & Aytac, 2013). Türkiye'de bulunan *Oxytropis* türleri aşağıda sıralanmıştır.

1. *O. kotschyana*
2. *O. pallasii*
3. *O. pilosa*
4. *O. savellanica*
5. *O. persica*
6. *O. albana*
7. *O. lazica*
8. *O. argyroleuca*
9. *O. aucheri*
10. *O. karjaginii*
11. *O. lupinoides*

Türkiye'de bulunan *Oxytropis* türleri, *Euoxytropis* Boiss. ve *Phacoxytropis* Bunge olmak üzere iki alt cinsten sınıflandırılmaktadır.

2.3 *Oxytropis argyroleuca* Bornm. Morfolojik zellikleri

O. argyroleuca Bornm. türü kalın odunsu dallı sapsız, çok yıllık bodur bir bitkidir (Görsel 2. 3). Yapraklar 5-7 ift yaprakçıklı, 2,5-3 cm uzunluğunda, yaprak sapı dahil saptan daha kısa veya daha uzun. Yaprakçıklar eliptik, 5-6 x 3 mm, her iki yüzeyinde de yoğun seröz indumentum bulunur. Sapı dik, 3-5 cm ykseklindedir. Çiçeklenme gevşek, 5-8 iekli, çiçekler meyvede hafifçe uzar. Kaliks yaklaşık 7 mm, dişler tüpten daha kısa, yayılan tüylüdür. Korolla mor; standart 15 mm uzunluğunda; kanatlar 14 mm; 1 mm uzunluğunda gaga dahil omurga yaklaşık 12 mm. Bakla 25-30 mm x yaklaşık 4 mm, yaklaşık 7 mm uzunluğunda bir boğum dahil, sarkık olarak tanımlanmıştır (Davis, 1975).

Görsel 2.3

Oxytropis argyroleuca



Türkiye'nin *Oxytropis* DC. (Leguminosae) cinsinin üzerinde revizyon çalışması kapsamında tür anahtarı üzerindeki eksiklikler giderilerek yeniden düzenleme 2009 yılında yapılmıştır (Karaman, 2009). Pelit ve Celep tarafından detaylı anatomik özellikleri ortaya konulmuştur (Pelit & Celep, 2016). Tekpınar ve ark. tarafından (2016) yürütülen çalışmada içinde *O. argyroleuca*'da bulunan 13 *Oxytropis* türü filogenetik özellikler açısından araştırılmıştır (Tekpınar vd., 2016). Martin ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada *Oxytropis* cinsinin taksonlar içindeki karyolojik çalışması, kök uçlarının meristematik hücreleri üzerinde gerçekleştirilmiştir (Martin, Erkul & Aytaç, 2015). Ceter ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada içinde *O. argyroleuca*'da bulunan Türkiye'de yayılış gösteren *Oxytropis* DC cinsine ait 11 türün polen morfolojisi ışık (LM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Bu çalışmanın bulguları, *Oxytropis* cinsindeki benzerlik ve ilişkileri anlamada polen morfolojisinin taksonomik etkilerini göstermektedir (Ceter, 2013). Erkul ve ark. (2015) yaptığı çalışmada içinde *O. argyroleuca* dahil olmak üzere 13 *Oxytropis* DC. türünün tohumları ışık ve taramalı elektron mikroskobu kullanılarak incelenmiştir (Erkul, 2015).

2.4 *Oxytropis* Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Oxytropis cinsine ait bazı türler, otlayan hayvanlar üzerinde oluşturdıkları etkiler nedeniyle "locoweed" (deli ot) veya "crazyweed" (çılgın ot) olarak adlandırılır. Etnobotanik araştırmalar ışığında, *Oxytropis* türlerinin biyolojik aktivite çalışmalarına dair bilgiler aşağıda yer alan Tablo 2.2’de sunulmuştur.

Tablo 2.2

Oxytropis Türleri İle İlgili Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Biyolojik Etki	<i>Oxytropis</i> türü	Kullanılan Kısım	Kaynak
Antienflamatuar	<i>O. falcata</i> Bunge	Toprak üstü	(Guang-Ming, vd., 2010) (Dong, vd., 2010)
	<i>O. myriophylla</i> (Pall) DC.	Toprak üstü	(She, Sun, & Liu, 2012)
	<i>O. bicolor</i> Bge.	Toprak üstü	(Jia vd., 2022)
	<i>O. aciphylla</i>	Toprak üstü	(Qian vd., 2024a)
Anti bakteriyel	<i>O. falcata</i>	Herba	(Jiang, Hu, vd., 2009)
	<i>O. hirta</i> Bunge	Kök	(Shengwei vd., 2022)
	<i>O. glabra</i> DC.	Toprak üstü	(Ren, Wang, & Chen, 2020)
Antioksidan	<i>O. pseudoglandulosa</i> Gontsch. ex Grubov	Toprak üstü	(Narangerel vd., 2021) (Narangerel vd., 2022)
	<i>O. falcata</i>	Toprak üstü	(Dong vd., 2010)
	<i>O. pilosa</i> (L.) DC.	Kök, Sap, Yaprak	(Miladinović, Miladinović, & Najman, 2011)
	<i>O. myriophylla</i> (Pall.) DC.	Toprak üstü	(She, Sun, & Liu, 2012)
Antiviral	<i>O. gansuensis</i>	Toprak üstü	(Song vd., 2019)
	<i>O. ochrocephala</i> Bunge	Toprak üstü	(Zhang vd., 2024)
Sitotoksik	<i>O. pseudoglandulosa</i>	Toprak üstü	(Narangerel vd., 2022)
Antifungal	<i>O. ochrocephala</i>	Toprak üstü	(Fu vd., 2024)
	<i>O. hirta</i> Bunge.	Kök	(Shengwei vd., 2022)
İmmunomodülatör	<i>O. glabra</i> DC	Çiçek, meyve, yaprak, kök	(Mehtab vd., 2018)
Antiplazmodial	<i>O. lanata</i> DC	Toprak üstü	(Ariefta vd., 2024)
Antiprotozoal	<i>O. lanata</i>	İzole edilen lignan ve izoflavonitler	(Murata & Batkhuu, 2021)
Antidiyabetik	<i>O. falcata</i> .	Toprak üstü	(Yang vd., 2017)
Antitümör	<i>O. falcata</i> .	Toprak üstü	(Lou vd., 2009)
	<i>O. falcata</i>	Uçucu Yağ	(Guang-Ming vd., 2013)
Antikanser	<i>O. ochrocephala</i>	Toprak üstü	(C.-j. Tan vd., 2016)
Antihipoksik	<i>O. ochrocephala</i>	Toprak üstü	(Zhang vd., 2016)
AChE enzim İnhibisyonu	<i>O. glabra</i>	Toprak üstü	(Zhi-yan vd., 2017)

O. myriophylla (Pall) DC., Çin'in güneydoğu ve kuzeybatı bölgelerinde yaygın olarak yetişen önemli bir Moğol ilacıdır. Geleneksel olarak çeşitli kızamıkçık ve grip hastalıklarını tedavi etmek için kullanılmış ve şişlik ve boğaz ağrısına, ayrıca farklı kanama türlerine uygulanmıştır. Bu bitki üzerinde yapılan farmakolojik araştırmalar antioksidan ve anti-inflamatuar özellikler göstermiştir.

Bu cinsin bazı temsilcileri, örneğin *O. oxiphylla* Boiss. ve *O. strobilacea* Bunge., ilaç endüstrisi için umut verici olduklarını kanıtlamıştır. Rinit tedavisi için antihipoksik, analjezik ve anti-enflamatuar etkiye sahip ve ayrıca etkilenen dokuların restorasyonuna katkıda bulunan "Oxophil" preparatının temelinde biyolojik olarak aktif flavonoid bileşikler içeren ekstre, *O. oxiphylla*'nın toprak üstü kısmından elde edilmiştir.

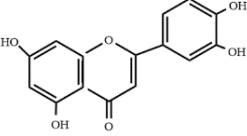
Oxytropis türlerinden izole edilen swainsonin antikanser ve antitümör etkileriyle dikkat çeken bir bileşiktir. 1985 yılında, Hino ve ekibi tarafından yapılan çalışmalarda, swainsonin'in tümör hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını engelleyebildiği gösterilmiştir (Hino vd., 1985). Sonraki araştırmalar, swainsonin'in lenf kanseri, kolorektal kanser, insan karaciğer tümörü (hepatoma) ve lösemi gibi farklı kanser türleri üzerindeki etkilerini incelemiş ve olumlu tedavi sonuçları elde edildiğini rapor etmiştir. Swainsonin'in tümör hücreleri üzerindeki etkilerinin bir kısmı, bağışıklık sistemini destekleme kapasitesine dayandırılmaktadır. Bu özellik, bağışıklık fonksiyonlarını artırarak tümör hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını dolaylı yoldan engelleyebilir. Geleneksel antikanser ilaçlardan farklı olarak swainsonin, bağışıklık sistemini güçlendirebilir ve bağışıklık hücrelerinin işlevlerini daha etkili bir şekilde yerine getirmesini sağlayabilir. Ayrıca, kemik iliği hücrelerinin çoğalmasını destekleyerek tümör tedavisinde önemli bir role sahip olabileceği düşünülmektedir (Ren vd., 2017). Swainsonin, golgi kompleksinde bulunan α -mannosidaz II enzimi üzerinde güçlü bir inhibitör etki gösterir. Bu özelliği sayesinde, hücre içinde çeşitli karbonhidratların, glikoproteinlerin ve glikolipidlerin sentezini bozarak tümör hücrelerini yok eder.

2.5 *Oxytropis* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Araştırmalar

Yaygın kullanımlarına rağmen, *Oxytropis* türleri üzerinde, özellikle kimyasal bileşimleri açısından son derece sınırlı araştırma yapılmıştır. Bugüne kadar *Oxytropis*'te tanımlanan başlıca biyoaktif bileşenler flavonoidler ve saponinler olmakla birlikte, diğer bileşenler hakkında daha az araştırma yapılmıştır. Bu bölümde, *Oxytropis* türlerinde tespit edilen bu bileşikler, kimyasal gruplarına göre sınıflandırılarak açıklanmıştır (Tablo 2.3).

Tablo 2.3

Oxytropis Türlerinde Tespit Edilen Fenolik Bileşikleri

<i>Oxytropis</i> türü	Bileşik	Kaynak
	(Luteolin) 	
<i>O. falcata</i> Bunge	Daidzein	(Guo vd., 2022)
	Pinosembrin	(Guo vd., 2022)
	7-Hidroksiflavon	(Guo vd., 2022)
	Isolikuiritigenin	(Guo vd., 2022)
	2,4,4'-Trihidroksidihidroalkon	(Guo vd., 2022)
	Strobopinin	(Guo vd., 2022)
	Sakuranetin	(Guo vd., 2022)
	Formononetin	(Guo vd., 2022)
	Bryaflavan	(Guo vd., 2022)
	Luteolin	(Guo vd., 2022)
	Genistein	(Guo vd., 2022)
	Naringenin	(Guo vd., 2022)
	Hispidulin	(Guo vd., 2022)
	Glisitein	(Guo vd., 2022)
	2',4'-Dihidroksikalkon	(Guo vd., 2022)
	Mikuelianin	(Guo vd., 2022)
	İzorannetin	(Guo vd., 2022)
	Lilalin	(Guo vd., 2022)
	Kamferol 3-glukuronid	(Guo vd., 2022)
	Maackianin	(Guo vd., 2022)
	4''-Asetilsagittatin A	(Guo vd., 2022)
	Brosimakutin C	(Guo vd., 2022)
	Floretin	(Guo vd., 2022)
	(S)-Equol	(Guo vd., 2022)
	İzovulubilin	(Guo vd., 2022)
	Astragalin	(Guo vd., 2022)
	Ramnetin	(Guo vd., 2022)
	Skrofulin	(Guo vd., 2022)
	İzokersetin	(Guo vd., 2022)
	İzomukronulatol	(Guo vd., 2022)
	Rutin	(Guo vd., 2022)
	Ramnositrin	(Jiang, 2008)
	Ramnetin, 2',4'-dihidroksikalkon	(Jiang, 2008)
	2',4', β-Trihidroksi-dihidroalkon	(Jiang, 2008)
<i>O. lanata</i>	Astragalin	(Iriste & Blinova, 1972)
<i>O. microphylla</i> (Pall.) DC	7-Hidroksiflavon	(Xia vd., 2022)
	Krisin	(Xia vd., 2022)
	Apigenin	(Xia vd., 2022)
	Luteolin	(Xia vd., 2022)
	5,7-Dihidroksi-4'-metoksi isoflavon	(Xia vd., 2022)
	5,7,2'-Trihidroksi-4'-metoksi flavon	(Xia vd., 2022)
	Pinosembrin	(Xia vd., 2022)
	Pinosembrin-glukozit	(Xia vd., 2022)
	7-Hidroksi-4'-metoksi dihidroflavon	(Xia vd., 2022)
	5-Hidroksi-7-metoksi dihidroflavon	(Xia vd., 2022)

Tablo 2.3 (Devam) *Oxytropis* Türlerinde Tespit Edilen Fenolik Bileşikleri

<i>Oxytropis</i> türü	Bileşik	Kaynak
<i>O. microphylla</i> (Pall.) DC	İzobavakin	(Xia vd., 2022)
	Kersetin	(Xia vd., 2022)
	Ramnositrin	(Xia vd., 2022)
	Dihidrokamferol	(Xia vd., 2022)
	5,7-Dimetoksi-2',4'-dihidroksi izoflavan	(Xia vd., 2022)
	7,2',3'-Trihidroksi-4'-metoksi izoflavan	(Xia vd., 2022)
	(6R,9R)-Roseosit	(Lu vd., 2004)
	(6R,9S)-Roseosit	(Lu vd., 2004)
	Adenosin	(Lu vd., 2004)
	Miriofillosid B Kersetin-7-O- α -L-ramnopiranozil-3-O-(60-p-kumaroil)- β -D-glukopiranozid-(1 $\rightarrow$ 2)-ksilopiranozit	(Lu vd., 2004)
	Miriofillozit C	(Lu vd., 2004)
	Miriofillozit D	(Lu vd., 2004)
	Miriofillozit E	(Lu vd., 2004)
	Miriofillozit F	(Lu vd., 2004)
<i>O. myriophylla</i> (Pall.) DC.	Kamferol 7-O- α -L-ramnopiranozil-3-O-[O- β -L-ramnopiranozil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glukopianozit] veya Oksitrozit Kamferol 3-rutinozit Kamferol 3-O-glukozit Kamperol 7-O-rhamnozit	(Blinova & Tkhan', 1976)
	Siringin	(Lu vd., 2002)
	Miriofillozit A veya 2-metoksi-4-(30-hidroksi-n-butil)-fenol-1-O- β -D-glukopiranozit	(Lu vd., 2002)
<i>O. campestris</i> (L.) DC. kompleksi (<i>O. cusicki</i> , <i>O. jordalii</i> ssp. <i>jordalii</i> , <i>O. monticola</i> ssp. <i>mpnticola</i> , <i>O. varians</i>)	Apigenin glikozitleri (7-O-glukozit, 7-O-diglukozit, 7-O-ksilosilglukozit, 7-O-neohesperidozit, 7-O-rutinozit, 7-O-arabinosilglukozit) Luteolin glikozitleri (7-O-glukozit, 7-O-diglukozit, 7-O-rutinozit, 3'-O-glukozit, Krisoeriol glikozitleri (7-O-glukozit, 7-O-rutinozit, 7-O-diglukozit), Kaempferol glikozitleri (3-O-glukozit, 3-O-ksilosilglukozit, 3-O-rutinozit), Kersetin glikozitleri (3-O-glukozit, 3-O-diglukozit, 3,7-O-diglukozit, 3-O-ksilosilglukozit, 3-O-rutinosit)	(Elisens & Denford, 1982)

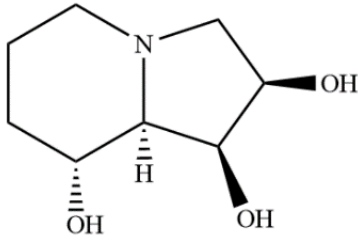
Literatür taraması *Oxytropis* cinsinin ana bileşenlerinin flavonlar olduğunu göstermektedir. Apigenin, krizin, luteolin (flavonlar), kamferol, kersetin, miresetin, ramnetin, isoramnetin, ramnazin ve ramnositrin (flavonoller) bu maddelerin başlıca aglikonlarıdır. D-Glikoz, L-ramnoz, D-galaktoz, L-arabinoz ve D-ksiloz birincil glikozitlerdir; hepsi oksijen bağlarıyla aglikonlara bağlıdır. Son birkaç yılda, flavon da

dahil olmak üzere çok sayıda yeni bileşik (yaklaşık 73) izole edilmiştir. *O. bicolor* Bunge., *O. falcata* Bunge., *O. campestris* var. *jordalii*, *O. varians*, *O. monticola* ve diğer türlerden yeni flavonlar ve flavonoit glikozitleri elde edilmiştir. Flavonon, kalkon, izoflavon, izoflavanon ve dihidro-izoflavanon tipi bileşikler çoğunlukla *O. falcata*'dan elde edilmiştir.

Alkaloitlerin bazı gruplarının aksine, indolizidin alkaloitleri doğada yaygın olarak bulunmaz. En bilinen iki örneği swainsonin ve swainsonin-N-oksit'tir (Şekil 2.2). Bu bileşikler ilk olarak Avustralya'ya özgü tatlı bezelye (*Swainsona*) bitkisinde keşfedilmiş ve aynı zamanda *Oxytropis* ve *Astragalus* cinslerinde rastlanmaktadır.

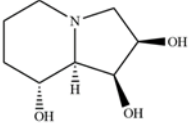
Şekil 2.2

Swainsonin Kimyasal Yapısı



Oxytropis locoweed bitkilerinin uzun süreli tüketimi, genellikle öldürücü olan bir hastalık olan locoism'e neden olduğu yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur. Locoism'in hücresel düzeydeki etkileri oldukça karmaşıktır ve bu etkilerin ortaya çıkarılması hala araştırılmaktadır. Swainsonin alkaloiti, mannozidaz adı verilen önemli bir enzimi inhibe ederek, bunun sonucunda mannoz şekerinin sinir hücrelerinde birikmesine yol açar. Bu durum, beyin dokusunun onarılamaz şekilde zarar görmesiyle sonuçlanmaktadır (Osalo, Maassoumi, & Murakami, 2003). Yapılan literatür taraması sonucunda *Oxytropis* türlerinde tespit edilen alkaloit grubu bileşikler aşağıda Tablo 2.4'te özetlenmiştir.

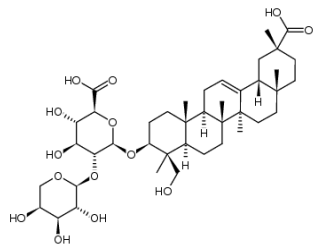
Tablo 2.4*Oxytropis* Türlerinde Tespit Edilen Alkaloid Grubu Bileşikleri

<i>Oxytropis</i> türü	Bileşik	Kaynak
	 (Swainsonin)	
<i>Oxytropis</i> türü	Bileşik	Kaynak
<i>O. microphylla</i> (Pall.) DC	3-Hidroksi-N-benzoil indol	(Xia vd., 2022)
	3-Hidroksi-N-(3-hidroksibenzoil) indol	(Xia vd., 2022)
	3-Hidroksi-N-(<i>p</i> -hidroksibenzoil) indol	(Xia vd., 2022)
	3-Hidroksi-N-(3-izopentenil-4-hidroksibenzoil)	(Xia vd., 2022)
<i>O. ochrocephala</i> Bunge	Soforidin, izosoforidin, Matrin, soforamin, 7,11-dehidromatrin, sofokarpin, lupanin, (+)-9 α -hidroksimatrin, (-)-9 α -hidroksisofokarpin, swainsonin	(Meng, Hu, & Zhang, 1994)
	Sparteın, termopsin	(C.-j. Tan vd., 2016)
	Okrosefalamin A, Okrosefalamin B, Okrosefalamin C, Okrosefalamin D, Okrosefalamin E, Okrosefalamin F	(Banzragchgarav vd., 2016; Liu vd., 2016)
	(+)-(14)-14-Etilmatridin-15-on	(C. J. Tan vd., 2016)
<i>O. falcate</i>	Oksitopin A, Oksitropin B, Oksitopin C	(Zhang vd., 2016)
<i>O. glacialis</i> Benth ex Bge	2,2,6,6-Tetrametil-4-piperidon	(Gardner, Molyneux, & Ralphs, 2001; Tan, Wang, & Li, 2002)
<i>O. sericea</i> (white locoweed)	Swainsonin	(Gardner, Molyneux, & Ralphs, 2001)
<i>O. lambertii</i>	Swainsonin	(Wang vd., 2011)
<i>O. ochrocephala</i> Bunge	Swainsonin	(Wang vd., 2011)

İriste tarafından, aglikonları ilk kez *O. lanata*'dan soyasapogenol B olarak tanımlanan çok sayıda triterpenoidler izole edilmiştir. Bu cinsten, çok sayıda pentasiklik triterpenoid ve tetrasiklik triterpenoidler dahil olmak üzere 24 bileşik izole edilmiştir. Literatür taraması sonucunda elde edilen bilgiler Tablo 2.5'te özetlenmiştir.

Tablo2.5

Oxytropis Türlerinde Tespit Edilen Saponin Grubu Bileşikleri

Oxytropis türü	Bileşik	Kaynak
	 (Azukisapogenol)	
<i>O. bicolor</i> Bunge	16-O-[β-δ-Glukopiranozil(1→3)-β-D-glukopiranozil]-(20S,24S)-3β,16β,20,24,25-pentahidroksi-9-19-siklolanostan	(Xia vd., 2022)
	16-O-[β-D-Glukopiranozil(1→3)-β-D-glukopiranozil-20-O-α-l-arabinopiranozil-(20S,24S)-3β,16β,20,24,25-pentahidroksi-9,19-siklolanostan	(Xia vd., 2022)
<i>O. hirta</i> Bunge	3-O-β-D-Galaktopiranozil-(1→2)-β-D-(60-O- <i>n</i> -butik)-glukuronopiranozid	(Ye vd., 2023)
	3-O-β-D-(60-O- <i>n</i> -Butil)-glukuronopiranozil azukisapogenol 29-O-β-D-glukopiranozil ester	(Ye vd., 2023)
	Azukisapogenol 3-O-β-D-(60-O- <i>n</i> -butyl)-glukuronopiranozit	(Ye vd., 2023)
	Pinorezinol 4-O-β-D-ksilopiranozil (1→4)-β-D-glukopiranozit	(Ye vd., 2023)
	3-O-β-D-Glukuronopiranozil azukisapogenol 29-O-β-D-glukopiranozil-(1→2)-β-D-glukopiranozil ester	(Ye vd., 2023)
	Azukisapogenol 3-O-β-D-glukuronopiranozit	(Ye vd., 2023)
	3-O-β-D-Glukuronopiranozil azukisapogenol 29-O-β-D-glukopiranozil ester	(Ye vd., 2023)
	azukisapogenol 3-O-β-D-6-O-metil glukuronopiranozid	(Ye vd., 2023)
<i>O. chiliophylla</i> Royle	azukisapogenol triterpen glikozitleri: oksichiliotriterpenozit A-E, oksichiliotriterpenozit E-glukuronik asit metil ester, miriozit B-glukuronik asit metil ester, miriosid B	(Wang, vd., 2018)
<i>O. falcata</i>	Abrisapogenol E, Azukisapogenol	(Chen, Qi, & Shi, 2009)
<i>O. aciphylla</i>	Azukisapogenol, 3-O-[β-D-glukopiranozil(1↓2)-β-D-glukuronopiranosil] azukisapogenol metil ester	(Qian vd., 2024b)
<i>O. lanata</i>	Azukisaponin V, Caraganin B	(J. Wang vd., 2018)

Tablo 2.5 (Devam) *Oxytropis* Türlerinde Tespit Edilen Saponin Grubu Bileşikleri

Oxytropis türü	Bileşik	Kaynak
<i>O. lanata</i>	3-O-[α -L-Ramnopiranozil(1 $\rightarrow$)- β -D-glukopiranozil(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukuronopiranozil]-3 β ,24-dihidroksiolean-12-en-22-okso-29-oik asit, 3-O-[β -D-glukopiranozil(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukuronopiranozil]-3 β ,22 β ,24-trihidroksiolean-12-en-29-oik asit, 3-O-[α -L-ramnopiranozil(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukopiranosil(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukuronopiranozil]-[3'-hidroksi-2'-metil-5',6'-dihidro-4'-piron(6' $\rightarrow$)]-3 β ,22 β ,24-trihidroksiolean-12-en	(Buyankhishig vd., 2020)
<i>Oxytropis</i> sp. (tür belirtilmemiştir)	3-O-[α -l-ramnopiranozil (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glukopiranosil(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glukuronopiranozil]soyasapogenol B, 3-O-[β -D-glukopiranozil(1 $\rightarrow$ 2)- β -d-glukuronopiranosil]azukisapogenol, saponin 3-O-[β -d-glukopiranozil(1 $\rightarrow$ 2)- β -[spd-glukopiranozil]-25-O- α -l-ramnopiranozil-(20S,24S)-3 β ,16 β ,20,24,25-Pentahidroksi-9,19-siklolanostan	(Rong-Qi, Zhong-Jian, & Dong-Liang, 1991)
<i>Oxytropis hirta</i>	likorisesaponin G2 glisirizik acid likorisesaponin J2	(Jia vd., 2022)
<i>Oxytropis racemosa</i> (SZ) <i>Oxytropis bicolor</i> (ES)	kiisanozit	(Jia vd., 2022)
<i>Oxytropis hirta</i> (YM) <i>Oxytropis racemosa</i> (SZ) <i>Oxytropis bicolor</i> (ES) <i>Oxytropis myriophylla</i> (DY)	soyasaponin I, soyasaponin III, dehidrosoyasaponin I, pedunsaponin A/azukisaponin III, tragopogonsaponin A	(Jia vd., 2022)
<i>Oxytropis racemosa</i> (SZ)	3 β -(β -D-glu)oleana-12-ene-28,30-dioik asit 30-metil ester	(Jia vd., 2022)
<i>Oxytropis racemosa</i> (SZ) <i>Oxytropis myriophylla</i> (DY)	triterpenoit-glu-gluA	(Jia vd., 2022)
<i>Oxytropis racemosa</i> (SZ) <i>Oxytropis bicolor</i> (ES)	amaranthussaponin I	(Jia vd., 2022)

Flavonoitlerin yanı sıra, *Oxytropis* türlerinde triterpenik saponinler de rapor edilmiştir. Triterpenoit saponinlerin çoğu oleanan tipi bileşikler, 3-O süstitüentleri bulunmaktadır, ve şeker olarak yapılarında glukoz ve ramnoz taşımaktadırlar. Uçucu bileşenler içinde bulunan mono- seski- veya diterpenler *Oxytropis* türleri için kısıtlı sayıda çalışmalarda rapor edilmiştir (Tablo 2.6).

Tablo 2.6

Oxytropis Türlerinde Tespit Edilen Terpen Grubu Bileşikleri

<i>Oxytropis</i> türü	Bileşik	Kaynak
<i>O. falcata</i>	Falkatin A, Falkatin B, 3-Oksi-azukisapogenol, Melilotigenin B, Melilotigenin C	(Chen, Qi, & Shi, 2009)
<i>O. glabra</i>	Oksitropiol A-K	(Tan vd., 2022)
<i>O. kuchanensis</i> Vassilcz	Karyofillen oksit, Selenin	(Salarbashi vd., 2014)
<i>O. pseudoglandulosa</i>	Fokienol, Pogostol	(Narangerel vd., 2021)

Oxytropis türlerinde karbonhidrat sınıfı bileşikleri çoğunlukla diğer sekonder metabolitlerin (saponin, flavonoit glikozitleri) yapısında yer aldığı için rapor edilmiştir. Çok az sayıda çalışmalarda *Oxytropis* türlerinde polisakkaritler ekstre edilerek yapısal özellikleri açıklanmıştır (Tablo 2.7).

Tablo 2.7

Oxytropis Türlerinde Tespit Edilen Karbonhidrat Grubu Bileşikleri

<i>Oxytropis</i> türü	Bileşik	Kaynak
<i>O. myriophylla</i> (Pall.) DC.	D-Glukoz, L-Ramnoz	(Blinova & Tkhan', 1976)
<i>O. ambigua</i> (Pall.) DC.	Galaktomannan D-Mannopiranoz ve D-Glukopiranoz (1.39 : 1), 1,4-β-D-Mannopiranoz α-D-Glaktoz	(Mestechkina vd., 2001)
<i>O. lanata</i> Pallas DC.	Galaktomannan	(Olennikov & Rokhin, 2010)

Oxytropis cinsine ait türlerde yapılan fitokimyasal analizler, bu bitkilerin önemli miktarda sterol bileşikleri içerdiğini ortaya koymuştur. Özellikle stigmasterol, kampesterol ve stigmastane-3,5-dien gibi steroller, bu türlerin hem toprak üstü kısımlarında (herba) hem de köklerinde tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin içerik düzeyleri türe ve bitkinin kısmına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Gaz kromatografisi-Kütle Spektrometrisi analizlerine göre *O. lanata* ve *O. myriophylla* gibi türlerin lipid fraksiyonlarında özellikle stigmasterol ve kampesterol miktarlarının belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Steroller, bitkisel hücre zarlarının önemli yapısal bileşenleri olmasının yanı sıra, insan sağlığı açısından da dikkate değer biyoaktivitelere sahiptir. Antioksidan, antiinflamatuvar ve hipokolesterolemik etkileriyle bilinen bu fitosteroller, *Oxytropis* türlerinin potansiyel farmakolojik değerine katkıda bulunmaktadır (Tablo 2.8).

Tablo 2.8

Oxytropis Türlerinde Tespit Edilen Sterol Grubu Bileşikleri

<i>Oxytropis</i> türü	Bileşik	Kaynak
<i>O. falcata</i> Bunge	Lupeol, Stigmasterol, 23,24-Dihidrostigmasterol, β -Sitosterol, Daukosterol	(Jiang, Hu, & Liu, 2006; Li vd., 2012)
<i>O. microphylla</i> (Pall.) DC	Lupeol, Stigmasterol, β -Sitosterol	(Li vd., 2012)
<i>O. glabra</i>	Daukosterol	(Li vd., 2012)
	β -Sitosterol	(Mehtab vd., 2018)
<i>O. myriophylla</i>	6,9-Epoksi-ergosta-7,22-dien-3-ol, Daukosterol	(She, Sun, & Liu, 2012)
<i>O. ochrocephala</i>	3 β -Hidroksi-5a,8a-epidioksi-ergosta-6,22-dien, Stigmast-5-en-3 β -ol-7-on	(Wang vd., 2020)
<i>O. hirsuta</i> Bunge	Stigmast-4-ene-3,6-dien	(Hu vd., 2019)
<i>O. caespitosa</i> , <i>O. lanata</i> , <i>O. myriophylla</i> , <i>O. squammulosa</i>	Stigmastane-3,5-diene, Kampesterol, Stigmasterol	(Tykheev vd., 2022)
<i>O. aciphylla</i>	Daukosterol, β -sitosterol	(Qian vd., 2024b)
<i>O. rosea</i>	β -Sitosterol, Stigmasterol, β -Stigmasterol-3-O-glukozit, β -Sitosterol-3-O-glukozit	(Sulaymonov vd., 2023)

Kaynak taraması neticesinde, *Oxytropis* türlerinde yaygın olarak bulunan başlıca doymuş yağ asitleri: palmitik asit (16:0), stearik asit (18:0), lignoserik asit (24:0) ve behenik asit (22:0) olarak rapor edilmiştir. Bu bileşiklerin toplam oranı tür ve organ bazında

değişmekle birlikte, %36–%57 arasında değişmektedir. Özellikle kök fraksiyonlarında 22:0 ve 24:0 oranlarının belirgin şekilde yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 2.9). Doymamış yağ asitleri olarak *Oxytropis* türleri için linoleik (18:2, ω -6), oleik (cis-18:1, ω -9), gadoleik (20:1) asitleri rapor edilmiştir.

Tablo 2.9

Oxytropis Türlerinde Tespit Edilen Lipit Grubu Bileşikleri

Oxytropis türü	Bileşik	Kaynak
Lipofilik bileşikler (Yağ asitleri ve esterleri, Yağda çözünen vitaminler)		
<i>O. falcata</i> Bunge	Eikosanoik asit	(Wang vd., 2024)
<i>O. serioopetala</i>	Hekzakosanol eikosanoik asit ester	(Wang vd., 2024)
<i>O. caespitosa</i> , <i>O. lanata</i> , <i>O. myriophylla</i> , <i>O. squammulosa</i>	Doymuş yağ asitleri: 6:0, 7:0, 8:0, 12:0, Nonanedioik asit, 14:0, i-15:0, a-15:0, 15:0, i-16:0, 16:0, 17:0, 18:0, 19:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0, 24:0, 25:0, 26:0, 28:0, 2-OH-14:0, 3-OH-14:0, 2-OH-16:0, 2-OH-23:0, 2-OH-24:0. Doymamış yağ asitleri: 15:1(10), 16:1(9), 17:1(10), 18:2(9,12), cis-18:1(9), trans-18:1(9), 20:2(11,14), 20:1(11), 22:2(13,16), 22:1(11), 24:1(15)	(Tykheev vd., 2022)
<i>O. glabra</i>	Tetradekanoik asit, pentadekanoik asit, hekzadekanoik asit, 9,12-oktadekadienoik asit, 9-Oktadesenoik asit, oktadekanoik asit, eikosanoik asit, heneikosanoik asit, dokosanoik asit, trikosanoik asit, tetrakosanoik asit, hekzakosanoik asit, oktakosanoik asit	(Mehtab vd., 2018)
<i>O. aciphylla</i>	Tetrakosanoik asit	(Qian vd., 2024b)
<i>O. pseudoglandulosa</i>	Hekzadekanoik asit, Tetradekanoik asit	(Narangerel vd., 2021)
<i>O. scheludjakova</i>	Doymuş yağ asitleri: 14:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0, 24:0. Doymamış yağ asitleri: 18:3(9,12, 15)	(Филиппова vd., 2024)
<i>O. strobilacea</i>	Doymuş yağ asitleri: 14:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0, 24:0. Doymamış yağ asitleri: 18:3(9,12,15)	(Филиппова vd., 2024)
<i>O. caespitosa</i> , <i>O. lanata</i> , <i>O. myriophylla</i> , <i>O. squammulosa</i>	α -Tokoferol	(Tykheev vd., 2022)

2.6 Antioksidanların Önemi

Oksidatif stres, hücresel düzeyde reaktif oksijen türleri gibi serbest radikallerin birikmesi sonucu hücresel bileşenlerde bozulmaya neden olabilen bir durum olarak tanımlanabilir. Antioksidan etkili maddeler, bu reaktif oksijen türlerinin etkilerini nötralize veya stabilize

ederek hücrel hasarın önlenmesini veya sınırlanmasını sağlayan kimyasal bileşiklerdir. Biyokimyasal olarak, antioksidanlar oksidatif stresin neden olduğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırarak veya yavaşlatarak hücrel bileşenlerin lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi yapısal bütünlüğünü korumaya yardımcı olurlar.(Narangerel vd., 2021) Antioksidanlar, sağlığın korunması ve çeşitli hastalıkların önlenmesi açısından büyük öneme sahiptir. Antioksidanlar, özellikle kanser, kardiyovasküler, nörodejeneratif ve metabolik sendromlar gibi kronik sağlık sorunları ile ilişkilendirilen serbest radikal hasarını sınırlama potansiyeline sahiptirler.

Elektronlar, atomlarda "orbital" olarak adlandırılan üç boyutlu bölgelerde yer alır. Atomlar arasında gerçekleşen etkileşimler, kimyasal bağların oluşmasına ve moleküler yapıların meydana gelmesine neden olur. Serbest radikaller, biyolojik sistemlerde oksidatif strese neden olabilir. Bu da hücre yapısına zarar verebilir ve çeşitli hastalıklara (yaşlanma, kanser, diyabet, nörolojik bozukluklar vb.) yol açabilir. Bu yüzden antioksidanlar, serbest radikallerin etkilerini dengeleyerek vücut için koruyucu bir rol oynar (Abdollahi vd., 2004; Halliwell, 1984).

Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikallerin başında oksijen kaynaklı olanlar gelir. Serbest radikal biyokimyasında kilit bir rol oynayan bileşikler arasında O_2 , O_2^- , H_2O_2 , $\bullet OH$, $ROO \bullet$, $HOCL$ bulunmaktadır. Bu tür bileşikler, organizmada hem normal metabolik süreçler sırasında doğal olarak oluşabilir hem de çevresel faktörlerin etkisiyle meydana gelebilir (AKKUŞ, 1995), 1995).

Organizmada reaktif oksijenin birikimi, vücutta bulunan ya da besinler yoluyla alınan antioksidanlar tarafından dengelenmediğinde "oksidatif stres" adı verilen durum ortaya çıkar. Oksidatif stresin yol açtığı zararlı etkileri önlemek amacıyla, vücut antioksidan savunma sistemleri geliştirmiştir. Radikal temizleyici antioksidan mekanizmalar sayesinde serbest radikaller etkisiz hale getirildiğinde toksisite oluşmaz. Disbalans durumu mutasyonlara yol açabilecek genetik değişiklikler ve bağışıklık sistemi bozuklukları gibi durumlara neden olabilecek radikalik zincir reaksiyonları oluşur. Bu süreç, DNA ve hücre zarları gibi biyolojik olarak kritik yapılarda oksidatif hasara yol açabilir (Evelson vd., 2001; Halliwell & Aruoma, 1991).

İnsan vücudu, serbest radikallerin neden olabileceği oksidatif stresin etkilerini azaltmada en etkili araç olarak antioksidanlara sahiptir. Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek hücre hasarını önleyebilen bileşiklerdir. İnsan vücudunda antioksidanlar ya doğal

olarak üretilir ya da dışarıdan destek şeklinde alınır. Hem vücudun ürettiği (endojen) hem de dışarıdan alınan (eksojen) antioksidanlar, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek işlev görür. Bu özellikleri sayesinde savunma sistemini güçlendirir ve hastalık riskini azaltmaya yardımcı olurlar. Antioksidanlar, normal hücrel metabolizma sırasında oluşan toksik serbest radikalleri etkisizleştirerek vücutta koruyucu bir rol üstlenir (Karabulut & Gülay, 2016).

Gıda maddelerinin bozulmasında oksijenin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu süreç "oksidasyon" olarak adlandırılırken, gıdalardaki bileşenlerin hava ile kendi kendine reaksiyona girmesi "otooksidasyon" olarak tanımlanır. Antioksidanlar, oksidatif ve otooksidatif süreçlerin başında devreye girerek oksidasyonu engelleyebilir ve bu süreçlerin yol açabileceği kötü koku ve tat oluşumunu önleyebilir.

2.6.1 Reaktif Oksijen Türleri

Eşleşmemiş elektronlarından dolayı serbest radikaller son derece kararsızdır ve moleküllerle tepkimeye girerler. Zincirleme reaksiyonların başlamasına yol açabilirler (Halliwell, Gutteridge, & Cross, 1992).

Serbest radikaller, vücutta gerçekleşen fizyolojik süreçlerin bir parçası olarak sürekli oluşur. Bu oluşumun nedenleri çeşitli faktörlere bağlıdır. Radyasyon, UV ışınları, sigara dumanı, ilaçlar ve pestisitler gibi dış etkenler bu faktörlerden bazılarıdır. Ayrıca, enzim reaksiyonları, oksidatif süreçler ve mitokondriyal aktiviteler gibi organizma içinde gerçekleşen olaylar da serbest radikal oluşumuna katkı sağlayabilir (Annakkaya, 2012).

Vücut dokularında gerçekleşen reaksiyonlar, serbest radikal üretimini tetikleyerek dokularda hasara yol açabilir. Serbest radikaller, hücre içindeki çeşitli aktiviteleri etkileyerek hücrel tahribata neden olabilir. Ayrıca, bu radikallerin etkisiyle kontrolsüz zincir reaksiyonları ortaya çıkarak yeni serbest radikallerin oluşmasına yol açabilir (Arman).

Oksidatif stres, hücre zarlarının tahrip olması, lipid peroksidasyonu gibi zararlara yol açar ve bu süreçler ilerledikçe hipertansiyon, bağışıklık sistemi zayıflığı ve kanser gibi hastalıkların gelişmesine neden olabilir. Yapılan araştırmalar, birçok hastalığın oksidatif stresle ilişkili olduğunu göstermektedir (Çakatay & Kayalı, 2006).

2.6.2 Antioksidan Maddeler

Antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Bu sınıflandırma, kaynaklarına ve işlevlerine göre yapılır. Endojen antioksidanlar, vücut tarafından doğal olarak üretilen ve hücrel süreçlerde serbest radikallerle mücadele eden moleküller iken, eksojen antioksidanlar, dışarıdan alınan ve genellikle besinler yoluyla vücuda kazandırılan maddelerdir. Her iki grup da oksidan/antioksidan dengesini korumak için önemli bir rol oynar (Karabulut & Gülay, 2016).

2.6.2.1 Endojen antioksidanlar

Endojen kaynaklı antioksidanlar, vücut tarafından üretilen ve serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı önlemek için görev yapan doğal bileşiklerdir. Bu antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere iki alt gruba ayrılır.

2.6.2.2 Enzimatik antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar, vücutta oksidatif stresle mücadelede hayati bir rol oynayan savunma enzimleridir. Bu enzimler, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücrel hasarı önler. Öne çıkan enzimatik antioksidanlar şunlardır:

Süperoksit dismutaz (SOD); SOD, vücutta oluşan oksidatif stresin kontrol edilmesinde ilk savunma hattıdır. Eksikliği ya da işlev bozukluğu durumunda, süperoksit radikalleri birikerek DNA, protein ve hücre zarlarına zarar verebilir.

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px); Glutasyon Peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan önemli bir enzimdir. Bu enzim, glutasyon (GSH) kullanarak hidroperoksitleri suya (H_2O) ve alkol türevlerine dönüştürür, böylece hücrel yapıların oksidatif hasardan korunmasını sağlar.

Glutasyon S-Transferaz (GST); Glutasyon S-Transferaz özellikle lipid peroksitlerine karşı koruma sağlayarak oksidatif stresin etkilerini azaltır. GST, selenyumdan bağımsız olarak GSH-Px benzeri bir aktivite sergiler ve bu sayede araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri gibi bileşikler nötralize eder (Kasapçopur Özel & Birdane, 2014).

Katalaz (CAT); Hücre içi antioksidan savunma sisteminin önemli bir parçası olan ve özellikle peroksizomlarda yüksek miktarda bulunan bir enzimdir. Bunun yanı sıra sitozol ve mikrozomal fraksiyonlarda daha düşük seviyelerde bulunur. Bu enzim, toksik etkileri

olan hidrojen peroksiti (H_2O_2), su (H_2O) ve oksijene (O_2) dönüştürerek hücreleri oksidatif hasardan korur (Valko vd., 2007).

2.6.2.3 *Nonenzimatik antioksidanlar*

Enzimsel olmayan antioksidanlar bileşenler içinde glutatyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin gibi maddeler bulunur (Karabulut & Gülay, 2016).

Glutatyon; hemen hemen tüm ökaryotik hücrelerde sentezlenen ve hücrede yüksek yoğunluklarda bulunan önemli bir tripeptit bileşigidir. Bu molekül, vücutta antioksidan olarak temel bir rol oynar ve hücrelerin oksidatif hasara karşı korunmasında kritik bir işlev üstlenir. Sadece bir antioksidan olarak görev yapmakla kalmaz; aynı zamanda hücrenin redoks dengesini sağlamak, detoksifikasyon süreçlerinde rol almak, eikosanoidlerin sentezini gerçekleştirmek, hücre içi sinyal iletim mekanizmalarını düzenlemek, gen ekspresyonunu kontrol etmek ve apoptoz (hücre ölüm) süreçlerini modüle etmek gibi birçok biyolojik işlevi de vardır (Townsend, Tew, & Tapiero, 2003).

Melatonin; vücutta önemli bir antioksidan işlevi gören bir hormondur. Serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltarak hücre düzeyinde korunma sağlar. Melatonin, tüm hücre içi bölümlerdeki makromolekülleri oksidatif hasardan korur ve bu sayede hücrelerin yapısal bütünlüğünü sağlar.

Melatonin, özellikle proteinler ve lipitler üzerinde koruyucu etkiler gösterirken, aynı zamanda genetik materyal üzerinde de önemli bir koruma sağlar. Hem çekirdek DNA'sı hem de mitokondriyel DNA üzerinde oksidatif stresin yol açabileceği zararı engeller (RJ, 2001).

Ürik asit; vücutta purin metabolizmasının bir atık ürünü olarak oluşur. Yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu, ürik asit kristalleşebilir ve bu durum, böbrek taşları ve gut artriti gibi sağlık sorunlarına yol açabilir. Bununla birlikte, ürik asit aynı zamanda önemli bir antioksidan olarak görev yapar. Kanın toplam antioksidan kapasitesinin yaklaşık yarısının ürik asit tarafından sağlandığı düşünülmektedir. Bu, serbest radikallerin zararlı etkilerini nötralize etme işleviyle vücudun oksidatif stresle savaşmasına yardımcı olur (Kumar vd., 2015).

Bilirubin; esas olarak ömrünü tamamlayan eritrositlerin (kırmızı kan hücreleri) parçalanması sonucu ortaya çıkar. Yalnızca bir atık ürün olmanın ötesinde, aynı zamanda

güçlü bir antioksidan işlevi de görür. Peroksil radikallerini etkileyerek, bu zararlı moleküllerin zincir reaksiyonlarını kırar ve oksidatif hasarın yayılmasını engeller. Bu zincir kırıcı etki, hücreler için koruyucu bir mekanizma sunar (Gutteridge, 1995).

Koenzim Q10; güçlü bir antioksidan olup, serbest radikalleri süpürerek vücudu oksidatif strese korur. Bu bileşik, lipid ve proteinlerin peroksidasyonunu engelleyerek hücre zarlarının ve protein yapıların zarar görmesini önler. Koenzim Q10'un indirgenmiş formu olan ubiquinol (CoQH_2), lipofilik bir antioksidan olarak görev yapar. Ubiquinol, elektron taşıma sistemi içinde elektron ve proton taşıyarak hücresel enerji üretimine katkıda bulunur. Ubiquinol, oksidanları nötralize etmek için elektron vererek güçlü bir antioksidan aktivitesi gösterir. Bu süreç, özellikle H_2O_2 (hidrojen peroksit) ve O_2^- (süperoksit radikali) gibi toksik reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı hücreleri korur. Böylece koenzim Q10, hücrelerin oksidatif hasara karşı korunmasında etkin bir rol oynar ve genel sağlık üzerinde koruyucu bir etki yaratır (Gürkan & Bozdağ-Dündar, 2005).

2.6.2.4 Eksojen antioksidanlar

Eksojen antioksidan olarak vücuda dışarıdan, yani besinler veya takviyeler yoluyla alınan antioksidanlar tanımlanır. Bu grubun içinde farklı fiziko-kimyasal özelliklere sahip olan bileşikler yer alırlar: vitaminler (A, E, C), provitaminler (β -karoten), sentetik ve doğal fenolik bileşikler, lignanlar

Vitamin E; güçlü bir antioksidan olan ve yağda çözünebilen bir vitamindir. İnsan vücudunda en biyoaktif formu α -tokoferol olarak kabul edilir. α -Tokoferol, serbest radikallerin yol açtığı hücresel hasarı engelleyerek hücre zarlarını korur. Bunun yanı sıra, α -tokoferolün temel antioksidan fonksiyonu, lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlamaktır. Lipid peroksidasyonu, hücre zarlarının oksidatif stres sonucu zarar görmesine yol açar; α -tokoferol, bu süreci engelleyerek hücrelerin bütünlüğünü ve fonksiyonlarını korur (Aydın, Sayal, & Işımer, 2001).

Vitamin C; askorbik asit olarak da bilinen **Vitamin C**, suda çözünebilen bir vitamindir ve birçok biyolojik fonksiyonu vardır. Kollajen, karnitin ve nörotransmitterlerin biyosentezi için gerekli olan bu vitamin, vücutta güçlü bir antioksidan rolü oynar. Vitamin C, serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri (ROS) ile etkileşime girerek bu zararlı molekülleri etkisiz hale getirir (Carr & Frei, 1999).

β-Karoten; karotenoid ailesinin bir üyesi olup, yağda çözünebilen bir bileşiktir. Karotenoidler, bitkilerde bulunan ve aynı zamanda vücutta provitamin A olarak görev yapan bileşiklerdir. Yani, β-karoten vücutta A vitaminine dönüşerek, vücudun A vitamini ihtiyacını karşılar. Ayrıca, β-karoten güçlü bir antioksidan olarak görev yapar ve özellikle singlet oksijen ($^1O_2$) gibi reaktif oksijen türlerini etkili bir şekilde temizler. Bu özelliği sayesinde, β-karoten hücrel düzeyde oksidatif hasarı engeller ve vücudu serbest radikallerin zararlarından korur (Pham-Huy, He, & Pham-Huy, 2008).

2.6.3 Antioksidan aktivite tayinleri

Antioksidan aktivite tayinleri, dayalı olan tepkimelere bağlı olarak iki ana grup altında değerlendirilmektedir: elektron transferi (ET) ve hidrojen atomu transferi (HAT) tabanlı yöntemler. ET tabanlı analizler, bir antioksidanın, indirgenebilir bir oksidanı indirgeme kapasitesini ölçer. Renk değişiminin derecesi, numunedeki antioksidan konsantrasyonları ile doğru orantılıdır. Bu tür analizler arasında Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenol ölçümü, Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAK), ferrik iyon indirgeme antioksidan gücü (FRAP), Cu(II) kompleksi ile yapılan toplam antioksidan kapasite tayini ve DPPH radikal giderim yöntemi yer alır (Huang, Ou, & Prior, 2005)

HAT tabanlı analizlerde ise, genellikle antioksidan ve substratın, azo bileşiklerinin ayrışması sonucu oluşan peroksil radikalleriyle rekabet ettiği bir reaksiyon mekanizması kullanılır. Bu tür analizlere örnek olarak, indüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otoksidasyonunun engellenmesi, oksijen radikal emme kapasitesi (ORAC), toplam radikal yakalama antioksidan parametresi (TRAP) ve krosin ağartma yöntemleri verilebilir (Huang, Ou, & Prior, 2005).

2.6.3.1 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürme Testi (DPPH)

Test kapsamında, kararlı bir serbest radikal olan 2,2-difenil-β-pikrilhidrazil (DPPH) kullanılarak antioksidan aktivite belirlenir. Testin temel prensibi, antioksidan bileşiklerin DPPH radikaline karşı süpürme kapasitesinin ölçülmesine dayanır. DPPH molekülündeki nitrojen atomunun tek elektronu, antioksidan bileşiklerden hidrojen atomu alarak indirgenir ve karşılık gelen hidrazin formuna dönüşür. Bu reaksiyon sonucunda, DPPH'nin mor rengi açılarak soluk sarıya dönüşür ve absorpsiyon değeri 517 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür (Kedare & Singh, 2011).

2.6.3.2 Trolox'a eşdeğer antioksidan kapasitesi testi (TEAK)

TEAK testi flavonoidler, hidroksisinnamatlar, karotenoidler ve plazma antioksidanları dahil olmak üzere hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanlar için uygulanabilen bir renk giderme deneyi olarak antioksidan aktivitenin taranması için uygun bir yöntemdir. Deneyin temel prensibi ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) bileşiğinin potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) varlığında oksitlenerek $ABTS^+$ ($ABTS$ radikal katyonu) oluşturulmasına dayanır. $ABTS^+$ radikal katyonu güçlü bir mavi-yeşil renge sahip olup, 734 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon gösterir (Re vd., 1999).

2.6.3.3 Gümüş nanoparçacık antioksidan kapasite testi (GNPAK)

R. Apak ve ekibi (Özyürek vd., 2012) tarafından geliştirilen GNPAK testi, sodyum sitrat ile stabilize edilmiş gümüş çekirdekleri kullanarak polifenoller (flavonoidler, basit fenoller ve hidroksisinnamik asitler) tarafından Ag^+ iyonlarının indirgenmesi esasına dayanan hassas bir kolorimetrik yöntemdir. Bu testte, gümüş çekirdeklerinin, trisodyum sitrat ve $AgNO_3$ konsantrasyonları değiştirilerek, kararlı süspansiyonun rengi kontrol edilir. Testin temel prensibinde, polifenoller, Ag^+ iyonlarını indirgeyerek bunları gümüş nanopartiküllere (GNP'ler) dönüştürür. Bu işlem sırasında, 423 nm dalga boyunda gümüş nanopartiküllerin yüksek yoğunlukta bir yüzey plazmon rezonansı (YPR) emilim bandı üretmesi sağlar (Bedlovičová vd., 2020).

Askorbik asit, standart bir antioksidan bileşik olarak kullanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturulur. Bu eğri, absorpsiyon ve molar konsantrasyon arasındaki ilişkiye dayanır. Bunun yanı sıra, troloks ve klorojenik asit gibi diğer bileşikler de standart olarak kullanılabilir.

Her bir antioksidan için, GNPAK yönteminin molar absorptivitesi (ϵ), ilgili kalibrasyon eğrisinin eğiminden elde edilir. Test edilen numunelerin toplam antioksidan kapasite değerleri, GNPAK testinin belirli koşulları altında ölçülen antioksidan değerinin, askorbik asit ile karşılaştırılması sonucu hesaplanır (Özyürek vd., 2012).

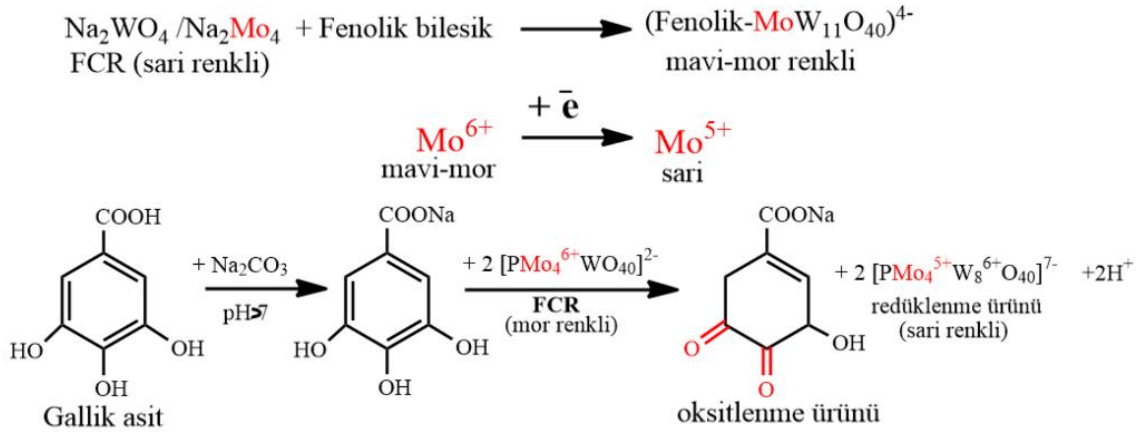
2.7 Toplam Fenolik Madde Miktarı

Bitkisel ekstraktlarda bulunan toplam fenolik bileşiklerin miktarı, Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak belirlenebilir. Deneyin mantığı, fenolik bileşiklerin varlığında FCR'nin indirgenmesi ve bunun sonucunda molibden-tungsten mavisinin oluşmasına dayanır. Reaksiyon alkali ortamda gerçekleşir, bu amaçla Na_2CO_3 kullanılır. Tepkime

sırasında elektron transferi gerçekleşir. Tepkime sonucunda Mo^{6+} Mo^{5+} 'e kadar redüklenir, fenolik bileşikler ise oksitlenir (Şekil 2.3).

Şekil 2.3

Fenolik Bileşiğin Folin-Ciocalteu Reaktifi ile Tepkimesi



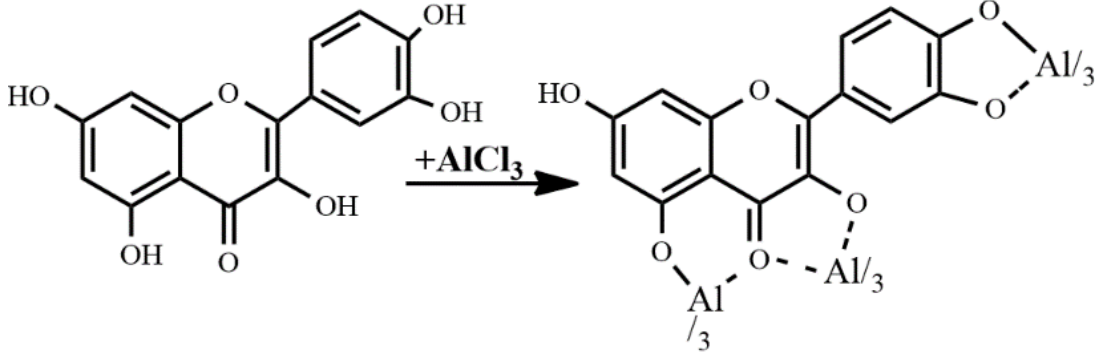
Oluşan bileşenin yoğunluğu, 760 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür. Yoğunluk, ortamdaki fenoliklerin konsantrasyonu ile doğrusal olarak artar. Elde edilen sonuçlar, gallik asit eşdeğerleri (GAE) cinsinden hesaplanır (Vl, 1999).

2.8 Toplam Flavonoit Madde Miktarı

Bitkisel ekstrelerde bulunan toplam flavonoit miktarının tayini, alüminyum klorür (AlCl_3) reaktifi ile gerçekleştirilen bir reaksiyona dayanmaktadır. Bu yöntem, flavonoit bileşiklerinin AlCl_3 ile kompleks oluşturarak karakteristik bir renk değişimi göstermesi prensibine dayanır. Reaksiyon sonucunda, flavonoitlerin yapısına bağlı olarak sarı veya yeşil renkli şelat kompleksleri meydana gelir (Şekil 2.4).

Şekil 2.4

Flavonoit Tipi Bileşiğin $AlCl_3$ ile Şelat Oluşturma Tepkimesi



Deney sırasında oluşan renkli komplekslerin yoğunluğu, 415 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülerek belirlenir. Numunedeki toplam flavonoit miktarı, elde edilen absorbans değerlerinin kersetin veya rutin eşdeğerleri (QE veya RE) cinsinden hesaplanmasıyla ifade edilir.

2.9 Antidiyabetik Araştırmaların Önemi

Diyabet, tıbbi olarak *Diabetes mellitus* olarak adlandırılır. Bu hastalık, insülinin yetersiz üretimi veya hiç üretilmemesi nedeniyle gelişir ve vücutta yüksek kan şekeri seviyeleri (hiperglisemi) ile kendini gösterir (Akyurt, 2014).

Şeker hastalığı günümüzde görülen en önemli küresel sağlık sorunlarından birisidir ve bitkisel materyaller ve bunlardan elde edilen ilaçlar da diyabet tedavisinde önemli bir yer teşkil eder.

Bitkiler diyabet tedavisinde kullanılmaya yönelik bitkisel kaynaklı ürünler farklı yollardan etkisini gösterebilir: insüline hassasiyeti arttırabilirler, karbohidrat absorpsiyonunu engelleyebilirler (Akyurt, 2014).

Şeker hastalığının tedavisinde en çok kabul gören hipotez ise anahtar enzim aktivitesinin inhibisyonu aracılığıyla karbohidrat absorpsiyonunun engellenmesidir. Bu yöntemde kullanılabilecek enzimler arasında en çok tercih edilenleri ise α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleridir (Kwon, Apostolidis, & Shetty, 2008). Bu enzimler nişastanın parçalanmasında ve kan glukoz seviyesinin artmasında anahtar enzimler olarak bilinir, bu nedenle bu enzim aktivitelerinin inhibisyonu DM tedavisinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu doğrultuda, DM tedavisi için enzim inhibitörü olarak görev yapacak bazı ilaçlar

geliştirilmektedir. Örneğin, akarboz ve miglitol DM'de kan glukoz seviyesini yönetmek için kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların hepatotoksisite, gastrointestinal rahatsızlıklar ve ishal gibi yan etkileri olduğu bildirilmektedir (Etxeberria vd., 2012). Bu yüzden DM tedavisinde kullanılabilecek yan etkisi ya da istenmeyen etkisi olmayan veya daha az olan doğal inhibitörlere ihtiyaç duyulmaktadır ve bu durum da bu konudaki çalışmaların önemini ve devam etmesini gerektğini göstermektedir.

2.9.1 α -Amilaz enzim inhibisyonu

α -Amilaz enzimi, nişastayı disakkaritlere dönüştüren bir enzimdir. Proteaz grubuna ait bu enzim, enzimatik çalışmalarda en yaygın olarak kullanılan ikinci enzim türüdür. Nişastanın, kandaki şekerin başlıca kaynaklarından biri olarak, parçalanması α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin birlikte çalışmasıyla sağlanır (Hanhineva vd., 2010). α -Amilaz enzim inhibitörleri, karbonhidratların sindirilmesini yavaşlatarak glukozun emilimini engeller. Bu etki, kan şekerinin düşmesine yardımcı olur. Akarboz, amino şekerlerden biri olup, pankreatik α -amilaz üzerinde güçlü bir inhibe edici etkiye sahiptir ve bu özelliği ile tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan önemli bir bileşiktir (Karabaş, 2016).

α -Amilaz enzim inhibitörleri, diyabet tedavisinde kullanılan bileşiklerin etkinliğini test etmek için *in-vitro* ortamda değerlendirilebilir. Bu test için genellikle potasyum iyodür (KI), nişasta çözeltisi ve α -amilaz enzimi kullanılır. α -Amilaz enzimi, nişasta moleküllerini oligomerlere kadar hidroliz eder. Bu hidroliz reaksiyonunun sonucu olarak iyot eklediğinde, normalde iyodun nişastayla oluşturduğu kompleksin renginin değişmesi beklenir. Ancak, α -amilaz enzim inhibitörü ortamda bulunduğunda, nişastanın parçalanması engellenir ve dolayısıyla iyodun rengi değişmez. Bu durum, spektrum fotometrik yöntemlerle ölçülerek, α -amilaz enzim inhibisyonunun derecesi belirlenir. Absorbans değerleri plak okuyucuda 630 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülerek belirlenir (Yang vd., 2012).

2.9.2 α -Glukozidaz enzim inhibisyonu

α -Glukozidaz enzimleri, ince bağırsakta bulunan ve kompleks karbonhidratların hidrolizinden sorumlu enzimlerdir. Bu enzimler, oligo- ve disakkaritleri monosakkaridlere dönüştürür (Mai vd., 2007).

α -Glukozidazlar, α -glukozidik bağların hidrolizini katalize ederek en önemli karbonhidrat parçalayıcı enzimler arasında yer alırlar. Testin mantığı 4-nitrofenil α -D

glukopiranozit'in α -glukozidaz enzimi ile tepkimesine dayanır. Bu reaksiyon karışımı 37°C'de 30 dakika inkübe edilir ve ardından sodyum karbonat çözeltisi eklenerek reaksiyon sonlandırılır. Substratın enzimatik hidrolizi, 410 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülerek belirlenir. α -Glukozidazın inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formül ile değerlendirilir:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[1 - \frac{Absorbans_{numune}}{Absorbans_{kontrol}} \right] \times 100 \quad (2.1)$$

3 MATERYAL VE METOT

Çalışma kapsamında *O. argyroleuca* bitkisinin fitokimyasal bileşenleri ve biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Bitki üzerinde genel teşhis reaksiyonları uygulanmış, kök ve toprak üstü kısımlarından farklı polaritede çözücülerle ekstratlar elde edilmiş, tohum ve herbasından sabit yağ asitleri incelenmiş, çiçek uçucu bileşenleri incelenmiş, bitkinin meyvesi üzerinde vitamin analizi yapılmış, toprak üstü kısımlarından polisakkaritleri incelenmiştir. Bununla beraber, ekstratlar biyolojik aktivite testlerine tabi tutulmuş. Ekstre ve uçucu yağ bileşenleri çeşitli kromatografik ve spektroskopik yöntemlerle analiz edilerek kimyasal profilleri araştırılmıştır.

3.1 Bitkisel Materyal

Tez materyali olarak *O. argyroleuca* bitkisi kullanılmıştır. Bitki örneği çiçeklenme döneminde Türkiye, Eskişehir-Sivrihisar yolu, Beylikova kavşağı yol kenarları, 39°20'74" N, 31°35'31" E koordinat bölgesinden 15 Haziran 2023 tarihinde toplanmıştır (Görsel 3.1). Bitki toplanması ve botanik teşhisi Dr. Ömer Koray YAYLACI tarafından yapılmıştır. Bitki herbayum örneği Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariumuna kayıt edilmiştir (ESSE 15901) (Görsel 3.2). Taze bitki gölge, serin ve havadar bir ortamda kurutulmuştur. Kuru bitki toprak üstü, kök ve meyve olarak üç kısma ayrılıp uygun koşullarda kapalı ortamda muhafaza edilmiştir.

Görsel 3.1

Oxytropis argyroleuca Bitkisinin Doğadaki Görünümü



Görsel 3.2

Oxytropis argyroleuca Bitkisinin Hebaryum Örneği



3.2 Kimyasal Maddeler

Tez kapsamında yürütülen fitokimyasal ve biyolojik aktivite araştırmalarında kullanılan kimyasal maddeler aşağıda Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1

Kimyasal Madde ve Çözücü Bilgileri

Kimyasal Madde	Menşei
Akarboz	Sigma-Ald., Fransa
Alüminyum klörür	Merck, Almanya
α -Amilaz enzimi	Sigma-Ald., Fransa
α -Glukozidaz enzimi	Sigma-Ald., Almanya
Anisaldehit	Merck, Almanya
Amonyum sülfat	Sigma- Ald., Almanya
Asetik asit	Sigma- Ald., Almanya
Anilin ftalat	Sigma-Ald., Fransa
2,2’-Azino-bis(3-etilbenztiyazolin-6-sülfonik asit) - ABTS	Merck, Almanya
Bakır (II) Klorür	Sigma- Ald., Almanya
Baryum karbonat	Sigma-Ald., Fransa
4-Nitrofenil α -D glukopiranozit	Sigma-Ald., Fransa
Borontriflorid	Merck, Almanya
1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)	Sigma-Ald., Fransa
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Merck, Almanya
Disodyum fosfat	Sigma-Ald., Polonya
Etanol	Merck, Almanya
Etil asetat	Merck, Almanya
Folin-Ciocalteu reaktifi	Sigma-Ald., Fransa
Formik asit	Merck, Almanya
Gallik asit	Sigma-Ald., Fransa
Gümüş nitrat	Merck, Almanya
n-Hekzan	Merck, Almanya
Hidroklorik asit	Merck, Almanya
İyot	Merck, Almanya
Kersetin	Sigma-Ald., Almanya
Rutin	Sigma-Ald., Almanya
Kloroform	Sigma-Ald., Polonya
Metanol	Merck, Almanya
Magnezyum metali	Merck, Almanya
Nişasta	Sigma-Ald., Almanya
Polietilen glükol-4000	Sigma-Ald., Fransa
Potasyum iyodür	Merck, Almanya
Potasyum persulfat	Sigma-Ald., Almanya
Sodyum dihidrojen fosfat	Merck, Almanya
Sodyum hidroksit	Sigma-Ald., Polonya
Sodyum karbonat	Merck, Almanya
Sodyum klörür	Riedel de Haen, Almanya
Sülfürik asit	Merck, Almanya
Toluen	Merck, Almanya
Trisodyum sitrat	Merck, Almanya
Trolox	Sigma-Ald., Almanya

3.3 Cihazlar ve Apareyler

Araştırma kapsamında kullanılan cihazlar ve apareyler Tablo 3.2’de listelenmiştir. Organik çözücüler, düşük basınç altında döner buharlaştırıcı (rotavapor) ile uzaklaştırılmıştır. Sulu ekstrenin kurutulması liyofilizatör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bitki çiçekleri uçucu bileşenleri MBD-KFME düzeneği ile elde edilmiştir. Uçucu bileşiklerin kromatografik ayrımı gaz kromatografik sistemi ile Innowax ve HP-5 kolonlarında gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin kalitatif/kantitatif analizi için KS ve AİD dedektörleri kullanılmıştır. Mikrotiter ve dilüsyon analizlerinde Eppendorf Explorer otomatik pipetör kullanılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler mikropalak okuyucu ile yapılmıştır. Ekstrelerin kimyasal bileşim analizleri için KS-KS/KS sıvı kromatografi sistemi tercih edilmiştir. Vitamin bileşiklerin ayrımı için UBBK sistemi ve InertSustainSwift C₁₈ kolonu kullanılmıştır. Bileşiklerin teşhis ve miktar tayini için FDD dedektörü kullanılmıştır. Biyolojik aktivite değerlendirmeleri için düz tabanlı 96-kuyucuklu mikropalakları kullanılmıştır.

Tablo 3.2

Kullanılan Cihaz ve Aparey Bilgileri

Cihaz	Cihaz Bilgileri
Buzdolabı (-20 -+4 C)	Arçelik
ELISA mikropalak okuyucusu	Biotek Powerwave XS
GK/AİD	Agilent 6890N (SEM Ltd, İstanbul, Türkiye)
GK/MBD	Agilent 5975 (USA; SEM Ltd., İstanbul, Türkiye)
Hassas terazi	Metler Toledo, NewClassic MS
SK-ESI-KS/KS	Shimadzu, Nexera
Liyofilizatör (Freeze Dryer)	Labconco Freezone 6 Plus
Manyetik karıştırıcı	IKO KS260 pH Metre, WTW series, InoLab, pH720
Otomatik pipetör,	8-12 kanallı Eppendorf Research plus
pH metre	WTW series, InoLab, pH720
Reaktif püskürtücü	Biostep SG e1 DESAGA technology
Rotavapor sistemi	Heidolph Instrument, Laborota 4010-Digital
Santrifüj	Eppendorf, 5804
Ultrasonik su banyosu	Elma, S100H
UBBK	USA-Waters; LiKrom A.Ş., İstanbul, Türkiye
UV spektrofotometre,	SHIMADZU UV-1601, Japonya
Vorteks	ISOLAB Laborgeräte GmbH MX-S

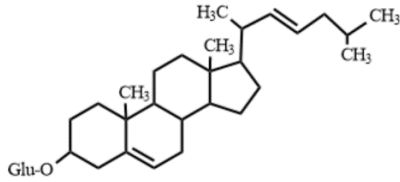
3.4 Temel Teşhis Reaksiyonları

3.4.1 Saponin glikozitlerin tanımlanması

Saponinler, birçok farklı bitki türü tarafından sentezlenebilen sekonder metabolitlerdir. Sulu çözeltileri çalkalandıklarında sabun benzeri stabil köpük oluşturmalarını sağlayan yüzey aktif madde özellikleri taşırlar. Antimikrobiyal, anti-tümör, anti-insektisit hepatoprotektif, hemolitik ve anti-enflamatuvar aktiviteler dahil olmak üzere birçok tıbbi kullanımları vardır (Bink vd., 2011; Dixon & Sumner, 2003). Ayrıca kan kolesterol seviyesini düşürürler ve aşılarda adjuvan olarak kullanılabilirler (Hu vd., 2003). Birçok saponin hemolitik aktivite gösterir, acı bir tada sahiptir ve balıklar için toksiktir (Sezgin & Artık, 2010). Steroidal saponinler 6 halkadan oluşan 27 C'lu bileşiklerdir (Şekil 3.1). Triterpenoid saponinler ise 30 C atomundan oluşan bileşiklerdir (Okumuş & Temiz, 2022).

Şekil 3.1

Saponin Glikozit Molekülü



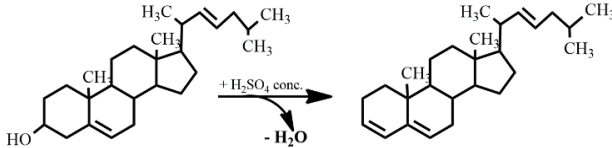
Saponin teşhis reaksiyonu için bitkisel materyal olarak toz edilmiş kök ve toprak üstü kısımlar kullanılmıştır. Kök ve toprak üstü materyalden 0.5 g tartılıp cam test tüpüne alınmıştır. Üzerine 5 mL % 3'lük H_2SO_4 eklenmiş ve bek alevinde 3 dakika kaynatılarak hidroliz edilmiştir. Karışım sıcakken süzölmüş ve süzöntü 5 mL kloroform ile ekstre edilmiştir. Kloroformlu kısım cam pipet ile ayrılarak başka bir tüpe alınır (Moghimpour & Handali, 2015).

Salkowski reaksiyonunu için, ayrılmış olan kloroformlu kısımdan otomatik pipetör ile 2 mL alınıp üzerine 1-2 damla derişik H_2SO_4 eklenerek tabakalandırılmıştır. Başlangıçta açık sarı bekledikçe koyu sarı-turuncu renk değişimi hem kök hem toprak üstü materyalde gözlemlenmiştir (Halilu, 2024). Salkowski reaksiyonunda, derişik H_2SO_4 etkisi ile steroidal çekirdek bir H_2O molekülünü kaybeder. Dehidratasyon

sonucunda molekül yapısında ikinci çifte bağ yer alır. Sonuç olarak kırmızı renkli markır madde kolesterilen oluşur (Şekil 3.2).

Şekil 3.2

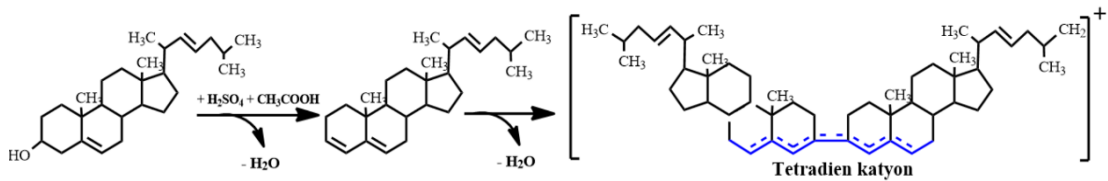
Salkowski Tepkimesinin Mekanizması



Lieberman-Burchard reaksiyonu için ayrılmış olan kloroformlu kısımdan otomatik pipetör ile 2 mL alınıp porselen kapsül içine aktarılmıştır. Kapsül su banyosun üzerinde kuruluğa kadar uçurulduktan sonra üzerine 1 mL glasiyel asetik asit eklenerek bakiye çözündürülmüştür. Çözelti deney tüpüne alınıp üzerine 1-2 damla derişik H_2SO_4 eklenerek tabakalandırılmıştır. 10 dk bekletildikten sonra toprak üstü numune test tüpünde iki tabakanın temas yüzeyinde açık sarı-yeşil, kök numune test tüpünde temas yüzeyinde iste açık pembe-mor halka gözlemlenmiştir (Halilu, 2024). Liebermann-Burchard testinde, hidroksi grupları ve steroidler içeren doymamış triterpenler pozitif sonuç verirler. Derişik H_2SO_4 ve glasiyel asetik asit etkisiyle iki H_2O molekülünün kaybının ardından, iki triterpen molekülü birleşerek bir dimer molekülünü oluştururlar. Dimerin yapısında konjuge polien sistemi yer alır (Şekil 3.3).

Şekil 3.3

Liebermann-Burchard Tepkimesinin Mekanizması

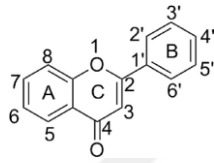


3.4.2 Flavon glikozitlerinin tanımlanması (Shibata reaksiyonu)

Flavonoidler, güçlü antioksidan ve metal iyonu bağlayıcı (şelatlayıcı) özellikleriyle bilinen, düşük moleküler ağırlıklı fenolik bileşiklerdir (Çelik & Ayran, 2020; Heim, Tagliaferro, & Bobilya, 2002). Bu bileşikler, yapısal olarak altı karbon atomuna sahip A, B ve üç karbonlu C halkalarından oluşan heterosiklik bir iskelete sahiptir (Şekil 3.4). Flavonoidlerin farklı türlere ayrılmasında, merkezi heterosiklik halkanın oksidasyon durumu belirleyici faktördür. Flavonoidlerin yapısı aglikon veya glikozit şeklinde olup daha çok glikozit yapıda bulunurlar. Kuşburnu, elma, kırmızı üzüm, kakao ve yeşil çayda bol miktarda bulunurlar. Flavonoidlerin en önemli biyolojik aktivitesi serbest radikalleri temizleyerek yüksek antioksidan aktivite göstermesidir (Bener, 2009).

Şekil 3.4

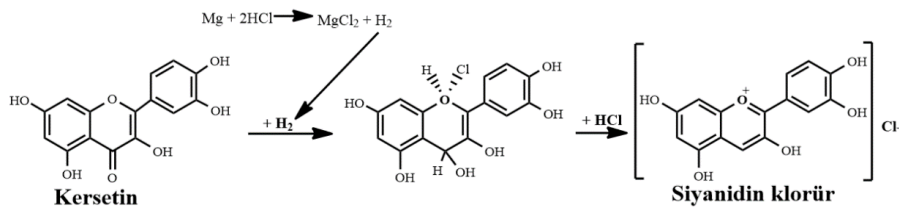
Flavonoid Molekülü



Shibata Reaksiyonu: Flavonoidler hidrojen etkisi (metalik Mg ve HCl tepkimesi sonucu oluşan) ile redüklenir ve pembe-kırmızı veya turuncu renkli antosiyanidin verirler (Şekil 3.5). Flavon varlığında turuncu kırmızı, flavonol varlığında kiraz kırmızısı, flavanon varlığında menekşe kırmızısı renk meydana gelir. Kalkon ve izoflavonlar bu reaksiyonu vermezler.

Şekil 3.5

Shibata Tepkimesi Mekanizması



Flavon glikozitlerinin teşhisi için 1 g toz haline getirilmiş kök ve toprak üstü bitkisel materyal test tüplerine alınmıştır. Örnekler üzerine 10 mL metanol eklenerek 5 dakika boyunca çalkalanmış ardından karışım süzölmüştür. Süzöntülerin 2 mL'si alınıp, üzerlerine 1 mL derişik HCl ve 5-6 tane magnezyum metali konulmuştur. Kök ekstresinde açık sarı, toprak üstü ekstresinde ise yeşil- sarı renk gözlemlenmiştir (MAT & EROĞLU).

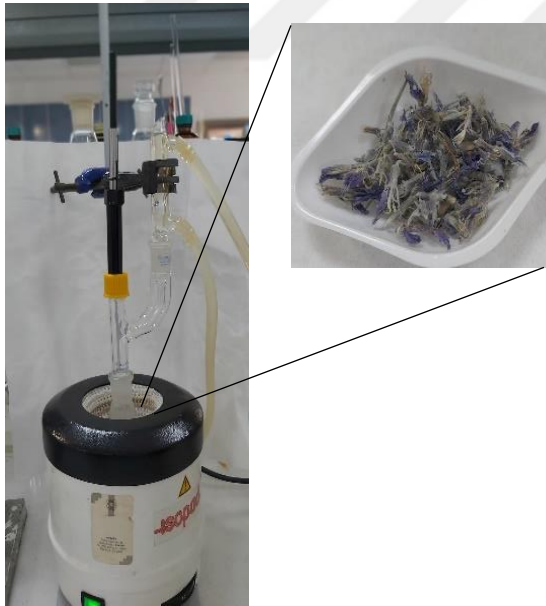
3.5 Ekstraksiyon İşlemleri

3.5.1 Uçucu bileşenlerin mikro buhar-distilasyonu katı faz mikroekstraksiyonu (MBD-KFME)

O. argyroleuca çiçeklerinin uçucu bileşenlerin MBD-KFME tekniğı ile eldesi için kullanılan düzenek Görsel 3.3'te gösterilmiştir (Özek vd., 2025).

Görsel 3.3

O. argyroleuca Çiçekleri Uçucu Bileşeni MBD-KFME Ekstraksiyonu



Ekstraksiyon işlemi için bitkisel materyal (0.5 gr), Klaisen distilasyon başlığı ile donatılmış ve geri çeviren soğutucu bağı cam balon içine 4 mL distile su ile birlikte konmuştur. Kaynama gerçekleşmeye başladığı andan itibaren ekstraksiyon süresi kaydı başlatılmıştır (3 dak). Süre sonunda KFME ucu Gaz Kromatografisi sistemi enjeksiyon

portuna takılıp termal desorbsiyona tabi tutulmuştur. KFME fiber ucu (65 µm, PDMS-DVB) (Supelco, ABD) kullanılmıştır.

3.5.2 Sabit yağ asitlerin mikroekstraksiyonu

Bu işlem için Sabit Yağ Asitleri Ekstraksiyon Kiti kullanılmıştır (Möller vd., 2019). Sabit yağ asitlerini elde etmek için bitkinin herba kısmı ve meyvesinden elde edilen tohumlar kullanılmıştır. Deneyde, toz haline getirildikten sonra 0.5 g toz materyal cam tüpe alınıp üzerine kloroform-metanol ekstraksiyon çözeltisi (3 mL) eklenmiştir. Karışım homojenizatörde homojenize edilip (15.000 rpm, 5 dk) üzerine 0.5 mL tampon çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen karışım vortex cihazında iyice çalkalandıktan sonra faz ayrımının tam olarak gerçekleşmesi için 5 dk dinlendirilmiştir. Süre sonunda lipid karakterli bileşikler içeren kloroformlu faz, tampon sulu fazından ayrılmıştır. Elde edilen ekstre kit içinde bulunan özel enjektör yardımıyla kartuş filtresinden geçirilerek sadece lipid içeren berrak bir çözelti elde edilmiştir (Görsel 3.4).

Görsel 3.4

O. argyroleuca Sabit Yağ Asitleri Mikroekstraksiyonu ve Transesterifikasyonu



Ekstredeki sabit yağ asitleri analiz işleminden önce trans-esterifikasyona tabi tutulmuştur. Bunun için, ekstreten 200 µL alınıp azot gazı altında kurutulmuş ve üzerine 100 µL

Boron Triflorür reaktifi (BF₃) ve 300 µL *n*-hekzan eklenerek geri çeviren soğutucu altında 95°C'de 1 saat ısıtılmıştır. Süre sonunda karışım üzerine 100 µL *n*-hekzan ve 100 µL distile su eklenip ile karıştırıldıktan sonra 1 dak bekletilmiş ve yeniden bir faz ayrımı oluşturulmuştur. Trans-esterifikasyon süreci sonunda elde edilen yağ asit metil esterlerini içeren organik faz pipetör ile amber cam kaba aktarılıp +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.5.3 Yağda çözünen vitaminlerin mikroekstraksiyonu

Yağda çözünen vitaminler *O. argyroleuca* bitkisinin tohum kısmından ekstre edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi Qi ve ark. tarafından yayımlanmış yöntemle göre gerçekleştirilmiştir (Qi vd., 2016). Bu amaçla, 2.0 gr bitkisel materyal ekstraksiyon işleminden hemen önce karanlık ortamda dövülerek test tüpüne alınmıştır. Bitkisel materyalin üzerine 5.0 mL etanol, 1.0 mL KOH çözeltisi (%50) ve 1.0 mL askorbik asit (%10) çözeltisi ilave edilmiş ve 1 dk boyunca homojenize edilmiştir (10000 rpm). Tüp 30 dakika 80°C'de su banyosunda tutulmuştur, her 5 dakikada bir çıkarıldı ve 15 saniye boyunca tekrar vortex ile çalkalanmıştır. Karışım soğuk suda soğutulduktan sonra üzerine 10 mL dietil eter eklenerek 1 dakika vortex ile karıştırılmıştır. Karışım bir ayırma hunisine aktararak faz ayrımı gerçekleştikten sonra eterli faz başka ayırma hunisine alınmıştır. Sulu faz tekrar üç kez eter ile sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Ayrılan eterli fazlar birleştirilmiş ve alkali kalıntısı kalmayacak şekilde su ile yıkanmıştır. Elde edilen eterli ekstreden çözücü düşük basınç altında döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılmıştır. Kuru kalıntı uygun miktar metil tert-butil eter (MTBE) içinde çözülmüş ve 0,22 µm gözenek çapına sahip naylon enjektör filtresi ile süzülerek UBBK tekniği ile analiz için hazırlanmıştır. Enjeksiyon öncesi ekstre karanlıkta -10° C'de muhafaza edilmiştir.

3.5.4 Total ekstrelerin eldesi

O. argyroleuca bitkisinin profilinin değerlendirmesi amacı ile herba ve kök kısımlarından polar ve apolar karakterli ham ekstreler elde edilerek kimyasal içerikleri silil türevleri üzerinden değerlendirilmiştir. Bu amaçla, herba ve kök kısımları ayrı ayrı önce *n*-hekzan ve daha sonra %80 etanol ise maserasyona (oda sıcaklığında, 24 saat) tabi tutulmuştur. Elde edilen ham ekstreler kurutulup daha sonra sililleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Silil türevlerinin kimyasal bileşimleri GK-KS/AİD sistemine enjekte edilerek analiz edilmiştir.

3.5.5 Polar ekstrenin hazırlanması ve fraksiyonlaması

O. argyroleuca toprak üstü kısımları kurutulup uygun boyuta getirildikten sonra maserasyona tabii tutulmuştur (3 saat $\times$ 2). Ekstraksiyon işleminde çözücü olarak %80'lik etanol kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemini hızlandırmak ve verimi arttırmak amacıyla maserasyon işlemi sıcak su banyosunda 40 °C'de gerçekleştirilmiştir.

Toplamda 210 g toprak üstü bitki materyali kullanılmış ve bitki materyali 3'e bölünerek 3 ayrı balonda ekstraksiyon işlemi başlatılmıştır. Her bir balondaki çözücü 3 saatte bir tazelenmiştir. Toplanan süzüntüler birleştirilerek toplam 20 litre sıvı ekstre elde edilmiştir. Çözücü düşük basınç altında, 45°C'de döner buharlaştırıcı kullanılarak yoğunlaştırılmıştır (Görsel 3.5). En son kalan sulu kısım liyofilizatör kullanılarak tamamen kurutulmuştur.

Görsel 3.5

Bitkisel Materyal Maserasyonu ve Ekstrenin Evaporasyonu



O. argyroleuca toprak üstü kısımlarının maserasyon yöntemiyle elde edilen ve tamamen kurutulan total ekstresi (OHTE) farklı polaritedeki çözücülerle sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutularak fraksiyonlara ayrılmıştır (Görsel 3.6). Bunun için kuru ekstrenin 10 gr'ı 50 mL ılık su içinde çalkalanarak disperse edilmiştir. Sulu karışım ayırma hunisi kullanılarak sırasıyla petrol eteri, kloroform, etil asetat ve butanol ile ekstre edilmiştir. Elde edilen petrol eterli, kloroformlu, etil asetatlı, butanollu fraksiyonlar (OHPE, OHKE, OHEE, OHBE) düşük basınç altında rotavapor kullanılarak yoğunlaştırılmış ve kuru ekstreler üzerinden verim hesabı yapılmıştır. Geriye kalan sulu ekstre (OHSE) liyofilizatör kullanılarak yoğunlaştırılmış ve kuru ekstre üzerinden verim hesabı yapılmıştır.

Görsel 3.6

Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu İşlemleri



3.5.6 Suda çözünen polisakkaritlerin ekstraksiyonu

Suda çözünen polisakkaritler (SÇPS), *O. argyroleuca* bitkisinden su ile ekstre edilerek ve ardından alkolle çöktürme yöntemiyle izole edilmiştir. Çöken tortu santrifüj edilerek ayrılmıştır. Daha sonra alkolle yıkanarak kurutulmuştur. Elde edilen bakiye açık kahverengi, amorf bir toz olmuştur. Pektin maddesi ekstraksiyonu oksalik asit ve amonyum oksalat çözeltileri ile muamele edilerek çöktürülmüştür. Hemiselüloz eldesi için KOH çözeltisi ile muamele edilerek AcOH (%80) ile çöktürme yapılmıştır (Siddikova vd., 2024; Филиппов, 1988).

Polisakkaritlerin Tam Asidik Hidrolizi İşlemi: 100 mg SÇPS, 3–4 mL 1N'lik sülfürik asit çözeltisi ile hidrolize edilmiştir (100 °C'de 8 saat). Süre sonunda, hidrolizat BaCO₃ ile nötralize edilmiş; oluşan çökelti filtre edilmiştir. Filtrat, H⁺ formundaki KU-2 katyon değiştirici reçine ile deiyonize edilmiştir. Katyonit ayrıldıktan sonra, hidrolizat 1 mL hacmine kadar buharlaştırılmıştır. Bu şekilde edilen bakiye kağıt kromatografisi yöntemiyle analiz edilmiştir.

3.6 Kromatografik Analizler

3.6.1 Uçucu bileşen ve sabit yağ asitleri gaz kromatografik (GK-AİD/KS) analizi

Uçucu bileşenlerin analizi için GK-KS/AİD sistemi kullanılmıştır (Görsel 3.7). Uçucu yağ sisteme enjekte edilmeden önce hekzanlı çözeltisi hazırlanmıştır (%10, v/v). Gaz kromatografik analiz şartları daha önce yayımlanmış çalışmaya göre uygulanmıştır (Schepetkin vd., 2022).

Maddelerin kantitatif analizi için alev iyonlaşma dedektöründen (FID) elde edilen piklerin yüzde alanları normalizasyon işlemi uygulanmadan kullanılmıştır.

Maddelerin tanımlanması için kütle spektrumları, alıkonma zamanı (Rt, dakika) ve relatif tutunma indisi (RRI) değerleri standart bileşiklere ve literatür bilgilerine paralel olarak değerlendirilmiştir. Bileşiklerin spektrum taramasında çeşitli kütüphanelere başvurulmuştur: Wiley GK/KS Library (Wiley, New York, NY, USA), MassFinder software 4.0 (Dr. Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg) (Joulain, König, & Hochmuth, 2001), Adams Library (Adams, 2005) ve Başer Library of Essential Oil Constituents (Başer & Özek, 2012).

Görsel 3.7

Gaz Kromatografisi Sistemi



3.6.2 Silil türevlerinin gaz kromatografik (GK-AİD/KS) analizi

O. argyroleuca bitkisinden elde edilen ekstreler ve alt fraksiyonlar öncelikle türevlendirme işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla, kuru ekstre örneği (2.0 mg) üzerine 80 µL piridin ve 80 µL BSTFA reaktifi (%1 TMCS içeren) eklenerek karıştırılmıştır ve kapalı vial içinde kum banyosunda inkübe edilmiştir (95°C, 60 dak). Süre sonunda karışım soğutulup gaz kromatografik sistemine enjekte edilmiştir.

Polar ve apolar ekstrelerden elde edilen silil türevi bileşenlerin analizi için Agilent 7890A GK sistemi ile 5975C Inert MBD with Triple-Axis dedektör'den oluşan kromatografik sistemi kullanılmıştır. Kromatografik ayırım için HP-5 FSC kolonu (30 m × 0,25 mm, 0,25 µm) kullanılmıştır. Gaz akış hızı 0,8 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Fırın sıcaklığı gradient sıcaklık programı şu şekilde oluşturulmuştur: dakikada 3°C artışla 100°C'den 320°C'ye yükselmiş ve 16,67 dk boyunca bu sıcaklıkta tutulmuştur. Örnek

enjeksiyonunda split uygulanmamıştır. Enjeksiyon portu sıcaklığı 250°C'de, FID dedektör sıcaklığı 300°C'de tutulmuştur. Kolonda ayrılan her bir bileşiğin kütle spektrumları 70 eV ve 35-1050 m/z kütle aralığında alınmıştır.

Maddelerin tanımlanması için kütle spektrumları, alıkonma zamanı (R_t , dakika) ve relatif tutunma indisi (RRI) değerleri standart bileşiklere ve literatür bilgilerine paralel olarak değerlendirilmiştir. Bileşiklerin spektrum taramasında standart maddelerin silil türevleri için oluşturulan “Özek Silil Türev Kütüphanesi” ve Wiley GK/KS Library (Wiley, New York, NY, USA) verilerine baş vurulmuştur.

3.6.3 Fenolik bileşenlerin ince tabaka kromatografisi (İTK) analizi

Ham ekstreden elde edilen fraksiyonların genel profillerini incelemek üzere ince tabaka kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, fraksiyonlar uygun çözücülerde çözülerek Silikajel kaplı plak üzerinde kromatografik ayırımı sağlanmıştır. İTK analiz şartları şu şekilde uygulanmıştır: Mobil faz olarak etil asetat: formik asit: asetik asit: su (100:11:11:26) karışımı ve hareketsiz faz olarak Silikajel kullanılmıştır. Belirteç olarak kullanılan reaktifler: a) $Ce(SO_4)_2$ ve b) NPR reaktifi + Macroglol. Ayrıca, fraksiyonlara Shibata testi uygulanmıştır.

3.6.4 Fenolik bileşenlerin sıvı kromatografik (YÇ-YBSK) analizi

Numune analizi için kütle spektrometresi ile birleştirilmiş bir Shimadzu-Nexera model Ultra Yüksek Başarımli Sıvı Kromatografisi sistemi (YBSK) kullanılmıştır. Ters fazlı YBSK, bir otomatik örnekleyici (SIL-30AC modeli), bir kolon fırını (CTO-10ASvp modeli), ikili pompalar (SK-30AD modeli) ve bir degaser (DGU-20A3R modeli) ile donatılmıştır. Kromatografik şartlar, numunedeki bileşikler için optimum ayırmayı elde etmek ve baskılama etkilerinin üstesinden gelmek için optimize edilmiştir. Analiz şartları daha önce yayımlanmış çalışmaya göre uygulanmıştır (Yılmaz, M.A., 2020).

Çarpışma enerjileri (collision energies, CE), istenen ürün iyonlarının optimum parçalanmasını ve maksimum iletimini sağlamak için optimize edilmiştir. MS çalışma koşulları şu şekilde uygulanmıştır: kurutma gazı (N_2) akışı, 15 L/dak; nebulizasyon gazı (N_2) akışı, 3 L/dak; DL sıcaklığı, 250 °C; ısı bloğu sıcaklığı 400 °C ve arayüz sıcaklığı 350 °C.

Numune analizi için yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi sıvı kromatografisi (KS-YÇKS) tekniği kullanılmıştır. Sıvı kromatografisi analiz şartları şu şekilde uygulanmıştır (Tablo 3.3):

Hareketli Faz A : %1 Formik asit - H₂O

Hareketli Faz B : %1 Formik asit - MeOH

Akış Hızı : 0,35 mL/dk

Hareketsiz faz /Kolon : Troyasil C₁₈ HS- 150 × 3 mm 3.5 µm

Tablo 3.3

SK-YÇKS Analizlerinde Uygulanan Mobil Faz Gradyen Programı

Zaman, dk	% B
0,00	50
1,00	50
3,00	100
6,00	100
7,00	50
15,00	50

Kütle Spektrometrenin şartları daha önce yayımlanmış çalışmaya göre uygulanmıştır (Yılmaz, M.A., 2020).

3.6.5 Yağda çözünen vitaminlerin ultra performans birleşim (UBBK) kromatografisi analizi

Bitkinin tohumlarında yağda çözünen vitaminlerin profili Ultra Başarımli Birleşim Kromatografisi (UBBK) ile Foto Diyot Dizisi (FDD) dedektör sistemi (Görsel 3.8) kullanılarak belirlenmiştir (Chen, Yang, & McCauley, 2013; Qi vd., 2016). Bu amaçla, hazırlanan numune ve yağda çözünen vitamin standartları (şahitleri) metil tert-butil eter içerisinde uygun derişimlerde çözülmüştür.

Görsel 3.8

Ultra Performans Birleşim Kromatografisi (UBBK-FDD) Sistemi (ACQUITY UBBK modeli)



Standart beş vitamin ve β -karoten'in stok çözeltileri (1,0 mg/mL) olarak MTBE içinde hazırlanmıştır. Standart stok çözeltileri -29 °C'de muhafaza edilmiştir ve deney öncesi kalibrasyon eğrisini oluşturmak üzere MTBE ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

Deneyde, standart vitaminlerin dilüsyonları ayrıca çözeltiler numune yöneticisinde 10°C'de tutulmuş ve analiz için 1 μ L sisteme enjekte edilmiştir. InertSustainSwift C₁₈ (100 mm $\times$ 3 mm $\times$ 1.9 μ m) kolon sıcaklığı 30° C'de tutulmuştur. Geri basınç 2500 psi'a ayarlanmıştır. Mobil faz olarak süperkritik akışkan CO₂ (A) - Asetonitril (B) 1 mL/dk akış hızında kullanılmıştır. Analiz çalışmasında uygulanan gradyen program Tablo 3.4'te açıklanmıştır.

Tablo 3.4 UBBK-FDD Sistemi ile Vitamin Analizi Gradyen Programı

Süre, dk	CO ₂ (A), %	Asetonitril (B), %
0.00	98	2
2.00	98	2
2.50	80	20
3.50	80	20
3.75	98	2

Bireysel stok çözeltilerinin özdeş alikotları karıştırılarak yaklaşık 0,1 mg/mL'de tüm şahitleri içeren standart bir çözelti hazırlanmıştır ve analiz edilerek kromatografik ayırımı elde edilmiştir. Ayrıca, her bir şahit için beş artan konsantrasyonda bir kalibrasyon eğrisi çizilerek denklemi ve kalibrasyon eşitlikleri r^2 değerleri de elde edilmiştir.

3.6.6 Suda Çözünebilen Polisakkaritlerin Analizi

O. argyroleuca bitkisinden elde edilen suda çözünebilen polisakkaritler (SÇPS) kağıt kromatografisi yöntemiyle analiz edilmiştir. Bu amaçla, kromatografi işlemi FN 12 (Almanya) tipi kromatografi kağıdında aşağı akışlı yöntemi ile 18 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Kullanılan hareketli faz sistemi: *n*-butanol -piridin -su (6:4:3). Referans olarak bilinen monosakkaritler (şahitler) kullanılmıştır. İlerletme işleminden sonra kromatogram kurutulmuş ve asidik anilin ftalat ile muamele edilip yeniden kurutulmuş ve 105–110 °C sıcaklıkta 3–4 dakika boyunca etüvde bekletilmiştir. Lekeler görünür hale getirilmiştir (Erkulov, Malikova, & Rakhmanberdyeva, 2011; Eshbekov, Rakhmanberdyeva, & Malikova, 2019).

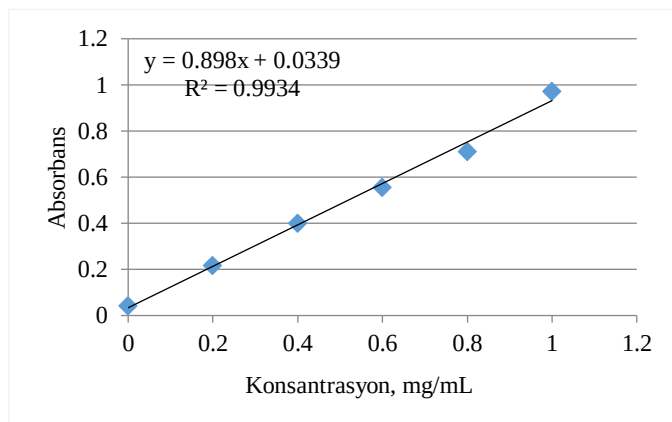
3.7 Spektrofotometrik Miktar Tayinleri

3.7.1 Toplam fenol miktar tayini

O. argyroleuca ekstralarında toplam fenol miktarının tayini için Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmış ve spektrofotometrik analiz gerçekleştirilmiştir. Standart olarak kullanılan gallik asitten (1 mg/mL) dilüsyon yöntemi ile 0.8, 0.6, 0.4, 0.2 ve 0.1 mg/mL derişimlerinde çözeltileri metanolde (%10 DMSO) hazırlanmıştır. Gallik asit kalibrasyon eğrisi Şekil 3.6'da gösterilmiştir. Deney, daha önce yayımlanmış çalışmadaki şartlara göre gerçekleştirilmiştir. Toplam fenoliklerin miktarı gallik asit eşdeğeri (mg) olarak hesaplanmıştır (Koşar, Göger, & Can Başer, 2008, 1999).

Şekil 3.6

Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi

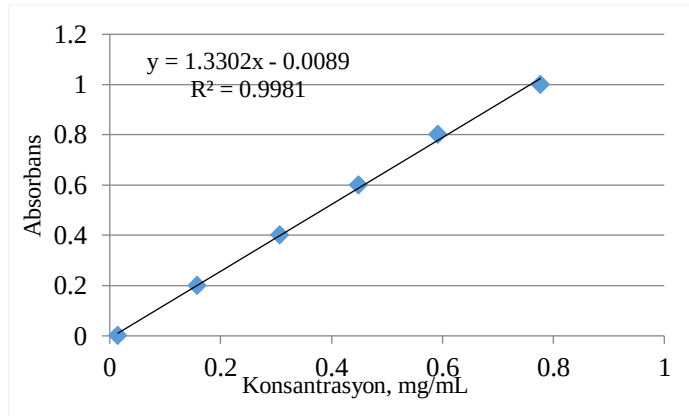


3.7.2 Toplam flavonoit miktar tayini

O. argyroleuca ekstrelerindeki toplam flavonoit miktarını belirlemek için $AlCl_3$ reaktifi kullanılarak spektrofotometrik analiz uygulanmıştır (Koşar, Göger, & Can Başer, 2008; Miliauskas, Venskutonis, & Van Beek, 2004). Standart olarak kersetin çözeltisi 1 mg/mL konsantrasyonda metanolde (%10 DMSO) hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisi eldesi için kersetinden 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 mg/ mL konsantrasyonlarında dilüsyonları hazırlanmıştır. Kersetin kalibrasyon eğrisi Şekil 3.7’de gösterilmiştir. Deney sırasında, 96 kuyucuklu derin mikropalak kuyucuklarına 12 kanallı otomatik pipetör yardımıyla sırasıyla 80 μ L numune (ekstre veya kersetin standardı), 80 μ L $AlCl_3$ çözeltisi ve 1840 μ L absölü etanol eklenmiştir. Kontrol grubundaki numuneler için $AlCl_3$ yerine 10 μ L %99,8 asetik asit ilave edilmiştir. Karışımlar iyice homojenize edildikten sonra, karanlık ortamda 40 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin tamamlanmasının ardından, her kuyucuktan 300 μ L alınarak standart 96 kuyucuklu mikropalağa transfer edilmiştir. Numunelerin absorbans değerleri, spektrofotometrik plak okuyucu kullanılarak 415 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar, kersetin eşdeğeri (mg) cinsinden hesaplanmıştır.

Şekil 3.7

Rutin Kalibrasyon Eğrisi



Reaktiflerin hazırlanması:

- Rutin çözeltisi: 1 mg/mL olarak metanolde (%10 DMSO) hazırlanmıştır.
- Asetik asit çözeltisi: 15 mL asetik asit üzerine distile su eklenerek 100 mL'ye tamamlanmıştır (%15 v/v).

c) Alüminyum klorür çözeltisi: 2 g $AlCl_3$ tartılıp 100 mL suda çözülmüştür.

3.8 Biyolojik Aktivite Testleri

Bitkisel materyalden elde edilen ekstraler (petrol eteri, kloroform, etil asetat, butanol, su) biyolojik aktivite testleri için metanolde (%10 DMSO içeren) çözündürülüp 5 dk 5.000 rpm santrifüj edilerek konsantrasyonu 10 mg/mL olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.8.1 Serbest radikal süpürücü etkinin değerlendirilmesi (DPPH testi)

Bu çalışmada, *O. argyroleuca* bitkisinden hazırlanmış ekstrelerin (petrol eteri, kloroform, etil asetat, butanol, su) serbest radikal süpürücü etkileri spektrofotometrik yöntemle in vitro koşullarda değerlendirilmiştir. Analizlerde, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) stabil serbest radikali çözeltisi kullanılmıştır (Krishnaiah, Sarbatly, & Nithyanandam, 2011). Deney sürecinde, 96 kuyucuklu mikropalak kullanılmıştır. DPPH çözeltisinin hazırlığı için 2 mg DPPH, 25 mL metanol içerisinde çözülerek karanlık ortamda muhafaza edilmiştir. Bitki ekstreleri 2 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanmıştır. Her kuyucuğa 8 kanallı pipetör kullanılarak 100 µL numune (ekstre ve standart antioksidan) eklenmiş, ardından 100 µL DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. Numunelerin antioksidan kapasitesini değerlendirmek amacıyla dilüsyon tekniği uygulanmıştır. Standart antioksidan olarak gallik asit (0,1 mg/mL) çözeltisi kullanılmıştır. Karışımlar, karanlık ortamda yarım saat süreyle inkübe edilmiştir. Süre sonunda, 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek numunelerin serbest radikal süpürücü aktiviteleri belirlenmiştir. %50'nin üzerinde inhibisyon gösteren numuneler için IC_{50} değerleri SigmaPlot programı kullanılarak hesaplanmıştır.

Reaktiflerin hazırlanması:

- a) DPPH çözeltisi: 2 mg DPPH %10'luk DMSO içeren metanol ile 25 mL'ye tamamlanıp, vortexde karıştırılır, ışıktan korunarak muhafaza edilmiştir.
- b) Standart antioksidan çözeltisi: Gallik asit %10'luk DMSO içeren metanol içinde 0,1 mg/mL olarak hazırlanmıştır.

3.8.2 Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasitenin değerlendirilmesi (TEAK)

Troloks'a eşdeğer antioksidan kapasite (TEAK) değerlendirmesi için Re ve ark. tarafından yayımlanan yöntem uygulanmıştır (Re vd., 1999). Standart antioksidan olarak Trolox'un absölu etanolde hazırlanan çözeltisi kullanılmıştır. Deney için, 96- derin kuyucuklu mikropalak kuyucuklarına 10 µL numune (Trolox /ekstre) çözeltisi eklenmiş ve üzerine 990 µL ABTS⁺ çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım, oda sıcaklığında ve karanlık koşullarda 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Süre sonunda, 12 kanallı otomatik pipetör yardımıyla her kuyucuktan 300 µL örnek alınarak standart 96-kuyucuklu mikropalağa aktarılmıştır. Absorbans değerleri 734 nm dalga boyunda ölçülmüştür. İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır:

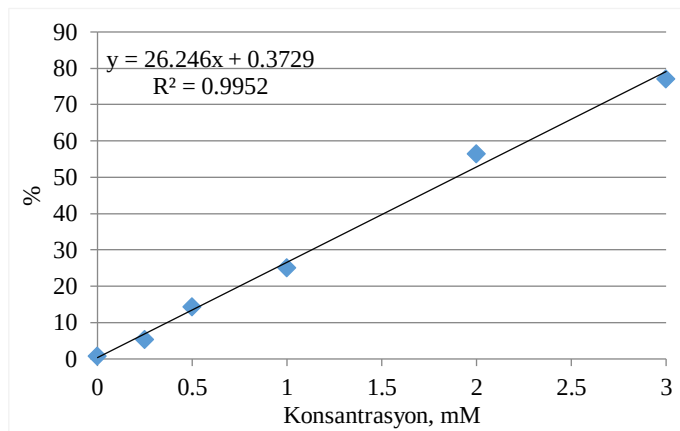
$$\% \text{ Inh} = \frac{Abs_{\text{kontrol}} - Abs_{\text{sample}}}{Abs_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (3.1)$$

Abs_{kontrol} : Kontrol için 734 nm'de ölçülen absorbans değeri; Abs_{numune}: Numune için 734 nm'de ölçülen absorbans değeri.

Kalibrasyon eğrisi, aynı şartlarda test edilen Trolox'un dilüsyonları (3,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 mM) üzerinden oluşturulmuş olup doğrusal denklem ve r² elde edilmiştir (Şekil 3.8). Numunelerin 30. dakika sonunda gösterdiği Trolox eşdeğer antioksidan kapasite değerleri denkleme (y=26,246 ×X +0,3729) göre hesaplanmıştır.

Şekil 3.8

Trolox Kalibrasyon Eğrisi



3.8.3 Gümüş nanopartikül antioksidan kapasitenin değeriendirmesi (GNPAK)

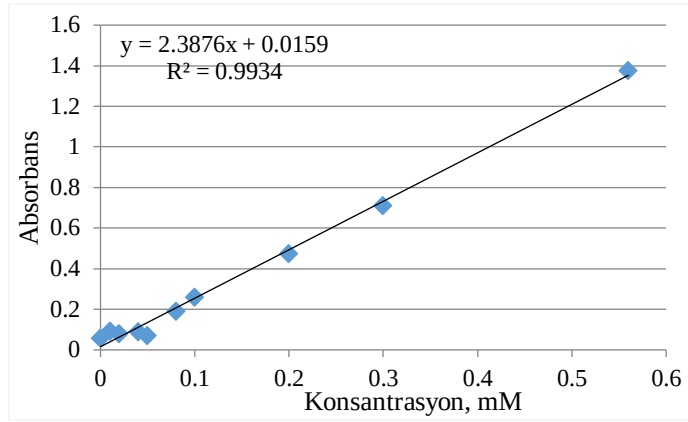
Gümüş nanopartikül antioksidan kapasite değeriendirmesi için Özyürek ve ark. tarafından geliştirilen yöntem uygulanmıştır (Özyürek vd., 2012). Başlangıç gümüş nanopartiküller (GNP'ler), GNP yüzeyine kaplanmış trisodyum sitratın bir stabilizatör olarak kullanılan kimyasal indirgeme yöntemi ile hazırlanmıştır. Bu yöntemde, 50,0 mL 1,0 mM AgNO₃ çözeltisi 10 dakika boyunca kaynama noktasına kadar ısıtılmıştır. Çözeltiye 5,0 mL % 1,0'lik trisodyum sitrat damla damla ilave edilmiştir. İşlem sırasında çözelti kuvvetlice karıştırılmıştır. Çözelti, renk değişimi soluk sarı olarak belirginleşene kadar ısıtılmıştır. Bu şekilde hazırlanmış “başlangıç GNP çözeltisi” daha sonra karıştırılarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur.

Deneyde, GNPAK test reaksiyon karışımı, son hacimde şu bileşenleri içermiştir: 200 µL başlangıç SGP çözeltisi, 40 µL numune (standart antioksidan /test numune) çözeltisi ve 40 µL saf su. Reaksiyon karışımları 25 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon sırasında kolloidal çözeltinin rengi kademeli olarak değişti ve bu da Ag⁺ iyonlarının azaldığını ve çekirdek-kabuk yapısının oluştuğunu göstermiştir.

Reaktif blankının (A₀) absorbansı antioksidanların varlığında artar, absorbans artışı (ΔA) antioksidan konsantrasyonuyla orantılıdır. Antioksidanların neden olduğu absorbans artışı (ΔA), 30 dakikanın sonunda reaktif blankına karşı 423 nm'de kaydedilmiştir. Absorbans artışı test numunenin GNPAK reaktivitesini yansıtmaktadır. Askorbik asit bir standart antioksidan olarak kullanılmıştır. Askorbik asidin 0.56-0.05 mM arasında dilüsyonları hazırlanarak aynı şartlarda test edilmiştir ve elde edilen absorbans değerlerine karşı gelen derişimler üzerinden kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.8). Kalibrasyon eğrisi kullanılarak test numunelerin Askorbik Asite Eşdeğer Antioksidan Kapasite değerleri (AEAC, mM) hesaplanmıştır. Üç deney sonuçların üzerinden hesaplanan AEAC değeriinin ortalaması elde edilmiştir (Şekil 3.9).

Şekil 3.9

Askorbik Asit Kalibrasyon Eğrisi



3.8.4 α -Amilaz inhibisyon testi

Ekstrelerin α -amilaz enzim inhibisyonu, I_2/KI reaktifi kullanılarak spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Deney şartları daha önce yayımlanmış çalışmaya göre ayarlanmıştır (Özek, 2018). Deneyde standart madde olarak akarboz kullanılmıştır (1mg/mL). Deney sırasında, 96 kuyucuklu mikropalak kuyucuklarına otomatik pipetör yardımıyla 50 μ L numune (ekstre ve akarboz) eklenmiştir. Analizde dilüsyon yöntemi uygulanmış olup, her kuyucuğa 50 μ L α -amilaz enzim çözeltisi ilave edilmiştir. Kontrol grubu için ise enzim yerine 50 μ L tampon çözeltisi eklenerek blank hazırlanmıştır. Numunelerin α -Amilaz inhibisyon kapasiteleri aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\% Inh = \left[\frac{(Abs_{0 kontrol} - Abs_{kontrol blank}) - (Abs_{numune} - Abs_{numune blank})}{(Abs_{kontrol} - Abs_{kontrol blank})} \right] \times 100 \quad (3.2)$$

Abs_{numune} : Numune absorbans değeri, $Abs_{numune blank}$: Numunenin blankı absorbans değeri,

$Abs_{kontrol}$: Kontrol absorbans değeri, $Abs_{kontrol blank}$: Kontrol blankı absorbans değeri.

3.8.5 α -Glukozidaz inhibisyon testi

Ekstrelerin α -glukozidaz inhibisyonu 4-nitrofenil α -D glukopiranozit'in α -glukozidaz enzimi ile tepkimesi üzerinden araştırılmıştır (Mayur vd., 2010). Reaksiyon için 50 mL 0.1 M fosfat tamponu karışımı pH 7.0 olacak şekilde hazırlanmıştır. 4-nitrofenil α -D glukopiranozit 0.5 mM olacak şekilde 50 mL hazırlanmıştır. α -glukozidaz çözeltisi 0.2

mg/mL olarak 10 mL hazırlanmıştır. Deney sırasında 96 kuyucuklu mikropalak kuyucuklarına otomatik pipetör yardımıyla sırasıyla 50 uL fosfat tamponu karışımı, 25 uL 4-nitrofenil α -D glukopiranozit, 10 uL numune ve 25 uL α -glukozidaz çözeltisi eklenmiştir. Ardından mikropalak 30 dk boyunca 37°C’de karanlık ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin ardından, reaksiyon 100 uL 0,2 M sodyum karbonat çözeltisi eklenerek sonlandırılmıştır. Pozitif kontrol olarak akarboz kullanılmıştır. Son olarak reaksiyon karışımında açığa çıkan p-nitrofenol miktarı spektrofotometrik plak okuyucu kullanılarak 410 nm dalga boyunda absorbands olarak ölçülmüştür. Numunelerin α -glukozidaz inhibisyon kapasiteleri aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [1 - (\text{Abs}_{\text{numune}}/\text{Abs}_{\text{kontrol}})] \times 100 \quad (3.3)$$

$\text{Abs}_{\text{numune}}$: Numune absorbands değeri, $\text{Abs}_{\text{kontrol}}$: Kontrol absorbands değeri.

4. BULGULAR

4.1 Temel Teşhis Reaksiyonları Sonuçları

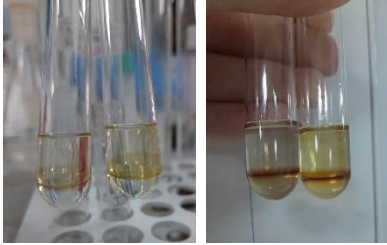
4.1.1 Saponinlerin teşhisi

Bitkisel materyalde saponin teşhisi Salkowski ve Lieberman-Burchard reaksiyonlarına göre araştırılmıştır. Salkowski reaksiyonu için kloroformlu kısım der. H_2SO_4 ile tabakalandırıldıktan sonra sarı renkli bir halka oluşur ve daha sonra çalkalamakla veya bekletmekle kloroform tabakası kan kırmızı renk alıyorsa deney sonucu pozitif demektir ve bitkisel materyalde saponin olduğu yorumu yapılır.

O. argyroleuca bitkisinin kök ve toprak üstü ekstrelerine derişik H_2SO_4 eklenmesinin ardından başlangıçta açık sarı renkli bir halka görülmüş ve 30 dk beklemenin ardından halka koyu turuncu- kahverengi renk almıştır. Renk değişimine bakılarak *O. argyroleuca* kök ve toprak üstü kısımlarında saponin bulunduğu sonucuna varılmıştır. Deney sonuçlarına ait resimler Görsel 4.1 gösterilmiştir.

Görsel 4.1

Salkowski Reaksiyonu Sonucunda Görülen Renk Değişimi

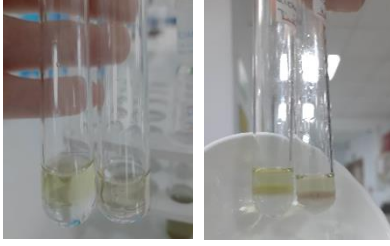


Lieberman-Burchard reaksiyonuna göre deney tüpüne alınan çözelti 1-2 damla derişik H_2SO_4 ile tabakalandırıldıktan sonra iki tabakanın temas yüzeyinde önce mor, sonra mavi bir halka görülüyorsa deney sonucu pozitif demektir (Görsel 4.2).

O. argyroleuca bitkisinin kök ve toprak üstü ekstrelerine derişik H_2SO_4 eklenmesinin ardından 10 dk bekletildikten sonra toprak üstü numune test tüpünde iki tabakanın temas yüzeyinde açık sarı-yeşil, kök numune test tüpünde temas yüzeyinde iste açık pembe-mor halka gözlemlenmiştir. 30 dk beklemenin ardından halkaların rengi belirginleştiği gözlemlenmiştir.

Görsel 4.2

Lieberman-Burchard Reaksiyonu Sonucunda Görülen Renk Değişimi



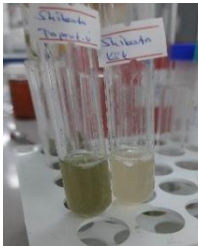
4.1.2 Flavon glikozitlerinin teşhisi

Bitkisel materyalde flavon teşhisi Shibata reaksiyonuna göre araştırılmıştır. Shibata reaksiyonuna göre flavon glikozitlerinin alkollü çözeltileri, hidroklorik asit (HCl) içeren bir ortamda magnezyum tozu ile etkileşime geçtiğinde, flavon türevinin türüne bağlı olarak pembe ile turuncu arasında değişen bir renk meydana gelir. Bu reaksiyon sonucunda, flavonlar turuncu, flavonoller ise kiraz kırmızısı ve flavononlar mor-kırmızı bir renk alır (Görsel 4.3).

O. argyroleuca bitkisinin kök ve toprak üstü ekstrelerine magnezyum metali eklendikten sonra kök ekstresinde açık sarı, toprak üstü ekstresinde ise pembemsi- sarı renk gözlemlenmiştir. 15 dakika beklemenin ardından renklerin korunduğu tespit edilmiştir.

Görsel 4.3

Shibata Reaksiyonu Sonucunda Görülen Renk Değişimi



4.2 Ekstrelerin Tipleri ve Verimi

O. argyroleuca toprak üstü bölümünden %80 etanol-su karışımıyla elde edilen toplam ham ekstre (OHTE) üzerine uygulanan sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle farklı polaritede çözücülerle alt fraksiyonlar; petrol eterli, kloroformlu, etil asetatlı, butanollü ve sulu (OHPE, OHKE, OHHE, OHBE, OHSE) elde edilmiştir. Elde edilen alt fraksiyonlar

vakum altında önce rotavaporda ve ardından liyofilizatörde kurutulmuştur. Kuru fraksiyonlar amber cam kavanozlara konularak ağzı kapalı şekilde + 4°C’de fitokimyasal ve biyolojik aktivite deneyleri öncesi muhafaza edilmiştir. *O. argyroleuca* çiçeklerinden mikro buhar distilasyonu-katı faz mikroekstraksiyon yöntemi ile uçucu bileşenleri ele edilmiştir (OF-KFME). Tohum ve herba kısımlarından ayrı ayrı yağ asitleri (OS-YAME ve OH-YAME, sırasıyla) mikroölçekli yöntemlerle ekstre edilmiştir. Meyvelerinden elde edilen tohumlardan yağda çözünen vitaminler (OS-VİT) mikroölçekli yöntemle ekstre edilmiştir. Ham ekstre edildikten sonra kalan posadan önce maserasyon ve daha sonra çöktürme yöntemi ile suda çözünen polisakkaritler (SÇPS) fraksiyonu elde edilmiştir.

O. argyroleuca bitkinin toprak üstü kısımlarından %80 etanol-su ile elde edilen sıvı ekstre kurutulularak ham ekstre edilmiştir. İşlem sonunda kuru ekstre (33,440 gr) üzerinden ekstraksiyon verimi hesabı yapılmıştır. Bu şekilde elde edilen ekstreden sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile alt fraksiyonlar elde edilmiştir: petrol eterli, kloroformlu, etil asetatlı, butanollü ve sulu. Elde edilen tüm ekstratlarının verimleri kuru bitki baz üzerinden % (a/a) hesaplanarak verim bilgileri Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.1

O. argyroleuca Bitkisinden Elde Edilen Ekstre Türleri ve Verim Bilgileri

Kod	Ekstre tipi	Ekstre Miktarı, g	Verim, %	Yöntem
OHTE	%80 etanol-su karışımı total ekstre	33,440	15,924	Maserasyon
OHPE	Petrol eterli fraksiyon	0,987	2,951	Sıvı-sıvı ekstraksiyonu
OHKE	Kloroformlu fraksiyon	0,950	2,840	Sıvı-sıvı ekstraksiyonu
OHEE	Etil asetatlı fraksiyon	0,861	2,574	Sıvı-sıvı ekstraksiyonu
OHBE	Butanollü fraksiyon	1,242	3,714	Sıvı-sıvı ekstraksiyonu
OHSE	Sulu fraksiyon	2,244	6,710	Sıvı-sıvı ekstraksiyonu
OF-KFME	Çiçek Uçucu Bileşenleri	-	-	MBD-KFME
OS-YAME	Tohum sabit yağ asitleri	-	-	Mikroölçekli ekstraksiyon
OH-YAME	Herba sabit yağ asitleri	-	-	Mikroölçekli ekstraksiyon
OS-VİT	Tohum vitaminleri	-	-	Mikroölçekli Sıvı-sıvı ekstraksiyonu
O-SÇPS	Suda Çözünen Polisakkaritler	-	-	Maserasyon→ Çöktürme→ Hidroliz

4.3 Kromatografik Analizlerin Sonuçları

4.3.1 Uçucu bileşen kimyasal kompozisyonu

O. argyroleuca bitkisinin çiçeklerinden MBD-KFME yöntemiyle elde edilen uçucu bileşiklerin kimyasal bileşimi, gaz kromatografisi (GK-KS/AİD) tekniği ile incelenmiştir. Bileşiklerin kalitatif analizinde mass-spektrometri dedektörü, kantitatif analizinde ise alev iyonlaşma dedektörü kullanılmıştır. Teşhis edilen uçucu bileşikler, relatif tutunma indis değerleri (RRI) ve relatif yüzde değerleri ile birlikte polar HP-Innowax kapiler kolonundan çıkış zamanlarına göre Tablo 4.2’de sıralanmıştır. Uçucu bileşiklerin sınıf dağılımı Tablo 4.3’de sunulmuştur.

Tablo 4.2

O. argyroleuca Uçucu Bileşen Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%	Madde sınıfı
1	1194	Heptanal	2,5	Alifatik aldehit
2	1232	(E)-2-Hekzenal	0,3	Alifatik aldehit
3	1255	γ -Terpinen	0,3	Monoterpen hidrokarbon
4	1280	p-Simen	0,4	Monoterpen hidrokarbon
5	1296	Oktanal	0,4	Alifatik aldehit
6	1335	(E)-2-Heptenal	0,2	Alifatik aldehit
7	1348	6-Metil-5-hepten-2-one	1,1	Alifatik keton
8	1360	Heksanol	0,3	Alifatik alkol
9	1400	Nonanal	2,3	Alifatik aldehit
10	1410	4,8-Dimetil-1,3,7-nonatrien	e	Alkan
11	1444	Dimetil tetradekan	3,3	Alkan
12	1450	trans-Linalool oksit (<i>Furanoit</i>)	2,1	Oksijenli monoterpen
13	1452	1-Okten-3-ol	5,6	Alifatik alkol
14	1463	Heptanol	e	Alifatik alkol
15	1467	6-Metil-5-hepten-2-ol	1,7	Alifatik alkol
16	1478	cis-Linalool oksit (<i>Furanoit</i>)	1,8	Oksijenli monoterpen
17	1479	(E,Z)-2,4-Heptadienal	0,7	Alifatik aldehit
18	1496	2-Etil hekzanol	1,7	Alifatik alkol
19	1506	Dekanal	1,6	Alifatik aldehit
20	1507	(E,E)-2,4-Heptadienal	1,2	Alifatik aldehit
21	1532	Kafur	3,2	Oksijenli monoterpen
22	1541	Benzaldehit	1,4	Aromatik aldehit
23	1548	(E)-2-Nonenal	0,8	Alifatik aldehit
24	1553	Linalol	6,7	Oksijenli monoterpen
25	1556	cis-Sabinen hidrat	e	Oksijenli monoterpen
26	1562	Oktanol	0,9	Alifatik alkol

Tablo 4.2 (Devam) *O. argyroleuca* Uçucu Bileşen Kimyasal Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%	Madde sınıfı
27	1565	Linalil asetat	e	Oksijenli monoterpen
28	1571	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	e	Oksijenli monoterpen
29	1573	(<i>E,E</i>)-3,5-Oktadien-2-on	1,1	Alifatik keton
30	1582	<i>cis</i> -Krisantenil asetat	0,7	Oksijenli monoterpen
31	1590	Bornil asetat	e	Oksijenli monoterpen
32	1599	(<i>E,Z</i>)-2,6-Nonadienal	0,8	Alifatik aldehit
33	1602	6-Metil-3,5-heptadien-2-on	0,3	Alifatik keton
34	1611	Terpinen-4-ol	2,7	Oksijenli monoterpen
35	1621	2-Okten-1-ol	1,6	Alifatik alkol
36	1631	Hekzil tiglat	0,2	Ester
37	1638	Mentol	1,5	Oksijenli monoterpen
38	1638	β -Siklositral	1,3	Oksijenli monoterpen
39	1655	(<i>E</i>)-2-Desenal	0,6	Alifatik aldehit
40	1663	Fenilasetaldehid	3,0	Aromatik aldehit
41	1664	Nonanol	2,0	Alifatik alkol
42	1671	Asetofenon	e	Aromatik keton
43	1686	Lavandulol	0,6	Oksijenli monoterpen
44	1687	Metil kavikol	e	Fenilpropanoid
45	1690	Kripton	0,3	Oksijenli monoterpen
46	1706	α -Terpineol	4,9	Oksijenli monoterpen
47	1719	Borneol	3,8	Oksijenli monoterpen
48	1722	Dodekanal	0,7	Alifatik aldehit
49	1740	Geranial	e	Oksijenli monoterpen
50	1748	Piperiton	e	Oksijenli monoterpen
51	1751	Karvon	0,9	Oksijenli monoterpen
52	1764	(<i>E</i>)-2-Undesenal	0,9	Alifatik aldehit
53	1766	Dekanol	0,7	Alifatik alkol
54	1797	<i>p</i> -Metil asetofenon	0,4	Aromatik keton
55	1802	Kumin aldehid	0,7	Oksijenli monoterpen
56	1808	Nerol	0,4	Oksijenli monoterpen
57	1827	(<i>E,E</i>)-2,4-Dekadienal	0,7	Alifatik aldehit
58	1838	(<i>E</i>)- β -Damassenon	0,5	C13-norizoprenoidler (norterenoidler)
59	1857	Geraniol	0,6	Oksijenli monoterpen
60	1864	<i>p</i> -Simen-8-ol	e	Oksijenli monoterpen
61	1868	(<i>E</i>)-Geranil aseton	2,5	Oksijenli monoterpen
62	1883	2-Metil-,3-hidroksi-2,4,4-trimetilpentil propanoat*	2,9	Ester
63	1885	1-Izobutil 4-izopropil 3-izopropil-2,2-dimetil süksinat (= 2,2,4-trimetil-3-karboksi izopropil-izobutil pentanoat)	2,1	Ester
64	1902	2-Metil-2,2-dimetil-1-(2-hidroksi-1-metiletil) propil propanoat*	1,8	Ester

Tablo 4.2 (Devam) *O. argyroleuca* Uçucu Bileşen Kimyasal Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%	Madde sınıfı
65	1937	Fenil etil alkol	1	Aromatik alkol
66	1958	(<i>E</i>)- β -Ionon	2,4	C13-norizoprenoitler (norterpenoidler)
67	1973	Dodekanol	0,8	Alifatik alkol
68	2009	<i>trans</i> -b-Ionon-5,6-epoksit	0,4	C13-norizoprenoitler (norterpenoitler)
69	2051	4-Metoksi-benzaldehit (=Anisaldehyt)	0,5	Aromatik aldehit
70	2073	β -Karyofillen alkol	0,1	Oksijenli seskiterpen
71	2127	Hekzahidro-farnesilaseton	1,1	Oksijenli seskiterpen
72	2179	3,4-Dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon	1,9	Oksijenli monoterpen
73	2198	Timol	0,3	Oksijenli monoterpen
74	2228	3,4-Dimetil-5-pentil-5H-furan-2-on	0,8	Oksijenli monoterpen
75	2239	Karvakrol	1,9	Oksijenli monoterpen
76		<i>n</i> -Heksil salisilat	e	Ester
77	2256	Kadalen	e	Seskiterpen hidrokarbon
78	2296	Miristisin	e	Fenilpropanoit
79	2318	Metil dihidrojasmonat	e	Ester
80	2325	Hekzil sinnamik aldehit	e	Aromatik aldehit
81	2380	Dihidroaktinidiolit	e	Oksijenli seskiterpen
Total			92,94	

RRI: relatif tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir;* tentatif olarak WileyNIST kütle spektrum kütüphanesinden tanımlanmıştır.

Tablo 4.3

O. argyroleuca Uçucu Bileşiklerin Sınıflandırılması

Bileşik Sayısı	Bileşenler	%
2	Monoterpen hidrokarbonlar	0,7
29	Oksijenli monoterpenler	40,7
1	Seskiterpen hidrokarbonlar	0
2	Oksijenli seskiterpenler	0,1
14	Alifatik aldehitler	13,7
10	Alifatik alkoller	15,3
2	Alifatik ketonlar	1,4
2	Alkanlar	3,3
3	C13-norizoprenoitler (norterpenoitler)	3,3
6	Esterler	7
7	Aromatik aldehitler, alkol ve ketonlar	6,3

4.3.2 Sabit yağ asitleri kimyasal kompozisyonu

O. argyroleuca tohum ve herba kimyasal bileşimi ayrı ayrı GK-AİD ve GK/KS teknikleriyle aydınlatılmıştır. Tohum ve herba kısımlarından elde edilen yağ asitleri, HP-Innowax kapiler kolonunda elde edilen çıkış zamanlarına göre sırasıyla Tablo 4.4’de ve Tablo 4.5’de sırasıyla sunulmuştur. *O. argyroleuca* tohum ve herba yağ asitleri metil esterlerinin kromatografik ayırımı Şekil 4.1’de ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.4

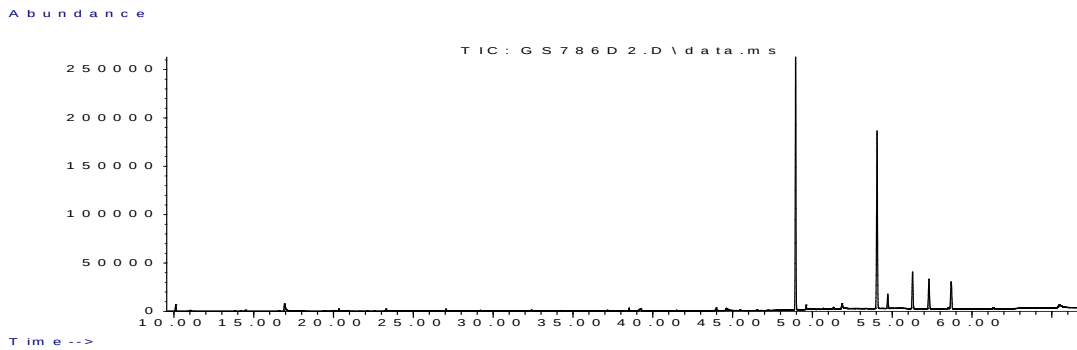
O. argyroleuca Tohum Yağ Asitleri (OS-YAME) Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1810	Metil dodekanoat (=Metil laurat)	0,4
2	2018	Metil tetradekanoat (=Metil myristat)	0,3
3	2095	Metil pentadekanoat	e
4	2223	Metil hekzadecanoat (=Metil palmitat)	40,1
5	2245	Metil (Z)-7-Hekzadesenoat	0,6
6	2259	Metil heptadekanoat	e
7	2436	Metil oktadekanoat (=Metil stearat)	34,9
8	2468	(Z)-9- Metil oktadesenoat (=Metil oleat)	2,5
9	2509	(Z,Z)-9,12- Metil oktadekadienoat (=Metil linoleat)	7,6
10	2546	Metil nonadekanoat	6,6
11	2583	Metil linolenat	6,9
Toplam			99,9

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir.

Şekil 4.1

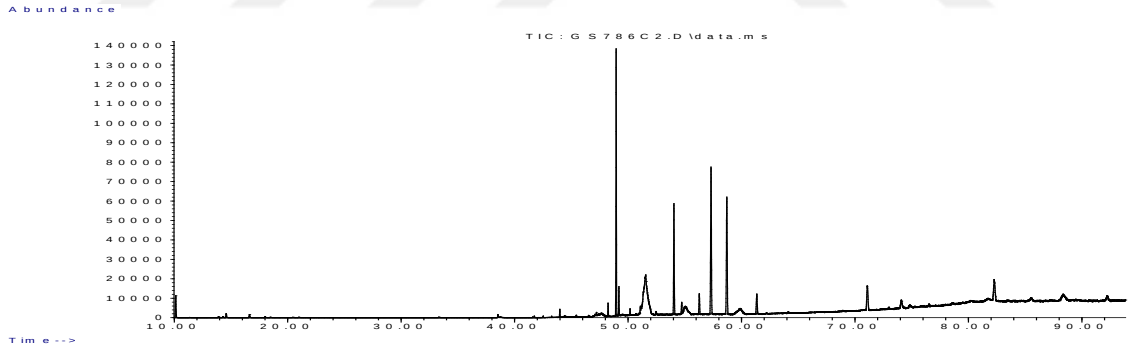
O. argyroleuca Tohum Yağ Asitleri Metil Esterlerinin (OS-YAME) Kromatografik Ayırımı



Tablo 4.5*O. argyoleuca* Herba Yağ Asitleri (OH-YAME) Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	2018	Metil tetradekanoat (=Metil myristat)	0,7
2	2223	Metil hekzadekanoat (=Metil palmitat)	24,7
3	2436	Metil oktadekanoat (=Metil stearat)	13,2
4	2468	(Z)-9-Metil oktadesenoat (=Metil oleat)	1,3
5	2509	(Z,Z)-9,12-Metil oktadekadienoat (=Metil linoleat)	2,6
6	2546	Metil nonadekanoat	22,3
7	2583	Metil linolenat	18,5
8	2634	Metil eikosanoat (=Metil arachidat)	3,3
9	2841	Metil behenat (=Metil dokozenoat)	5,7
10	3021	Metil tetrakosanoat (= Metil lignocerotat)	5,5
11	3091	Metil heksakosanoat (=Metil cerotat)	2,2
Toplam			100,0

RRI: relativ tutunma indisi; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir.

Şekil 4.2*O. argyoleuca* Herba Yağ Asitleri Metil Esterlerinin (OH-YAME) Kromatografik Ayırımı

4.3.3 Silil türevlerinin kimyasal kompozisyonu

O. argyroleuca genel profilinin değerlendirilmesi amacıyla herba ve kök kısımlarından polar ve apolar karakterli ham ekstraktlar elde edilerek kimyasal içerikleri silil türevleri üzerinden değerlendirilmiştir (Tablo 4.6 - Tablo 4.14). *O. argyroleuca* herba ham apolar ekstresinin silil türevlerinin kromatografik ayrımı Şekil 4.3 - Şekil 4.11’de gösterilmiştir.

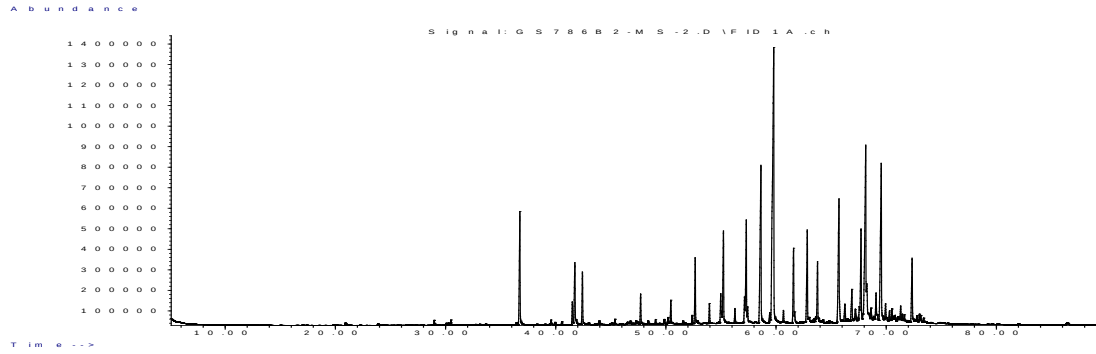
Tablo 4.6

O. argyroleuca Herba Ham Apolar Ekstresi Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	2049	Heksidekanok asit (=Palmitik acid)-TMS	4,7
2	2151	Heptadekanoik asit-TMS	0,2
3	2165	Oktadekanol -TMS	0,1
4	2217	Linoleik asit-TMS	0,8
5	2221	Oleik asit-TMS (= cis-9-Oktadekanoik asit -TMS)	2,5
6	2250	Oktadekanoik asit (=Stearik asit TMS)	1,9
7	2353	1-Eikozanol-TMS (=Araşidik alkol-TMS)	0,2
8	2448	Eikozanoik asit-TMS (=Araşidik asit –TMS)	1
9	2546	Henekozanoik asit-TMS	0,3
10	2555	1-Dokozanol-TMS	0,8
11	2600	Heksakosan	0,1
12	2648	Dokozanoik asit-TMS (=Behenik asit-TMS)	2,4
13	2656	Trikozanol -TMS	e
14	2700	Heptakozan	0,7
15	2739	Trikozanoik asit-TMS	1,1
16	2757	Tetrakozan-1-ol -TMS	3,9
17	2804	1-Monostearin -2TMS	0,5
18	2848	Tetrakozanoik asit -TMS	4,3
19	2849	1-Pentakozanol-TMS	0,6
20	2908	Nonakozan	8,9
21	2962	Heksakozanol- TMS	20,8
22	3046	Heksakozanoik asit- TMS	3,1
23	3106	Hentriakontan	3,9
24	3149	1-Oktakozanol-TMS	2,3
25	3244	Oktakozanoik asit-TMS	6,4
26	3305	Stigmasterol - TMS	1,4
27	3353	Triakontanol-TMS	3,8
28	3374	β -Sitosterol- TMS	9,8
29	3421	Lupeol-TMS (= Lup-20(29)-en-3 β -ol-TMS)	e
30	3442	Triakontanoik asit-TMS	9
31	3602	Oleanolik asit - 2TMS (=3- β -Hidroksiolean-12-en-28-oik asit -2TMS)	3
Toplam			98,5

Şekil 4.3

O. argyroleuca Herba Ham Apolar Ekstresi Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı



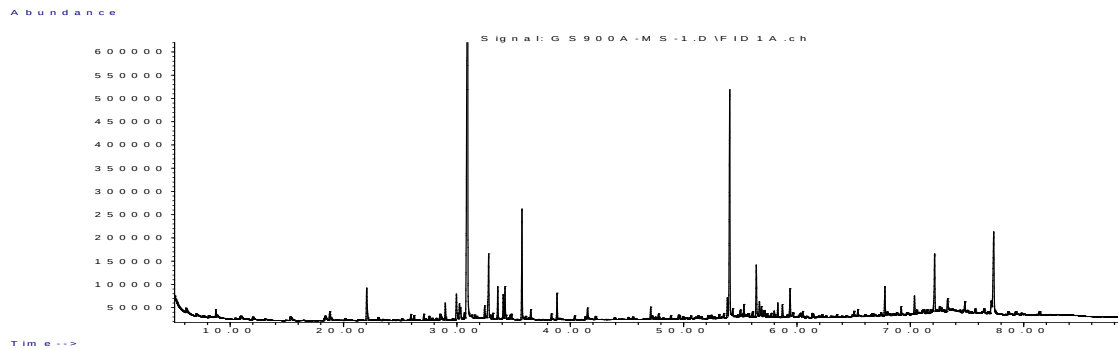
Tablo 4.7

O. argyroleuca Herba Ham Polar Ekstresi Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1808	a-D-Metilfuranosit-4TMS	1,2
2	1843	a-Fruktofuranoz - 5TMS (=D-arabino-heks-2-ulofuranoz-5TMS)	2,1
3	1870	D-(+)-Pinitol-5TMS	54,2
4	1929	a-Glukopiranoz-5TMS	5,1
5	1971	Mannitol-6TMS	1,4
6	1972	Sedoheptuloz-6TMS	1,9
7	2023	b-Glukopiranoz-5TMS	7,1
8	2713	Sukroz-8TMS	17,3
9	2820	Trehaloz- 8TMS	3,3
10	2826	Solidrosit-5TMS (=Rhodiosiy-5TMS)	e
11	2953	1-Heksakozanol-TMS (=Seril alkol-TMS)	e
12	3368	β -Sitosterol - TMS	e
13	3507	Raffinoz-11TMS (=β-D-Fruktofuranozil-TMS)	e
14	3594	Melezitoz, undeka-TMS	e
Toplam			93,6

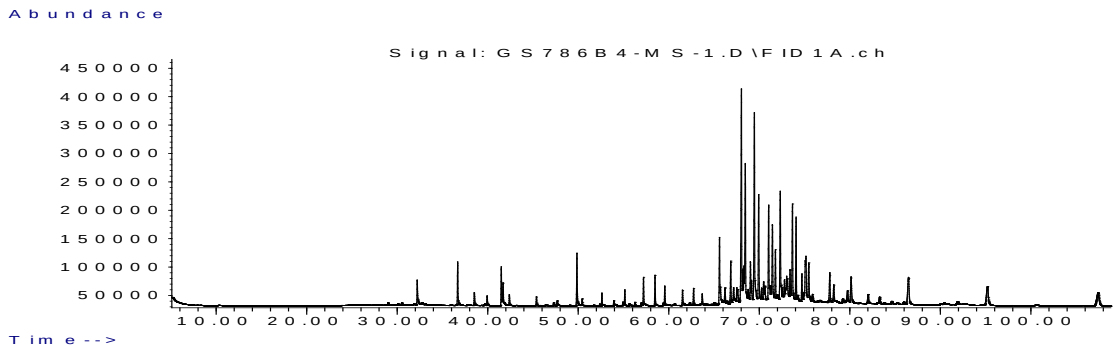
Şekil 4.4

O. argyroleuca Herba Ham Polar Ekstresi Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı



Tablo 4.8*O. argyroleuca* Kök Ham Apolar Ekstresi Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	2049	Heksadekanoik asit (=Palmitik asit)-TMS	3,2
2	2217	Linoleik asit-TMS	2,8
3	2353	1-Eikozanol-TMS (=Araşidik alkol-TMS)	e
4	2555	1-Dokozanol-TMS	e
5	2757	Tetrakozan-1-ol -TMS	e
6	2849	1-Pentakozanol-TMS	e
7	2908	Nonakosan	2,4
8	3305	Stigmasterol - TMS	4,6
9	3373	β -Amirin-TMS	e
10	3374	β -Sitosterol- TMS	21,3
11	3378	Avenasterol-TMS (=Fukosterol-TMS)	e
12	3391	Lup-20(30)-en-3-on	12,6
13	3421	Lupeol-TMS Lup-20(29)-en-3 β -ol-TMS	3,4
14	3442	Triakontanoik asit-TMS	17,9
15	3471	Stigmast-4-en-3-on	10,2
16	3532	Oktadesil <i>p</i> -kumarat, mono-TMS	e
17	3554	Friedelan-3-on	6,9
18	3602	Oleanolik asit - 2TMS (=3-b-Hidroksiolean-12-en-28-oik asit -2TMS)	10,2
19	3647	Ursolik asit - 2TMS (=3 β -3-hidroksi-urs-12-en-28-oik asit-2TMS)	e
20	3678	Oktadesil ferulat, mono-TMS	e
21	3705	Oktadesil kafeat, di-TMS	e
22	3879	Eikosil ferulat, mono-TMS	e
		Toplam	95,5

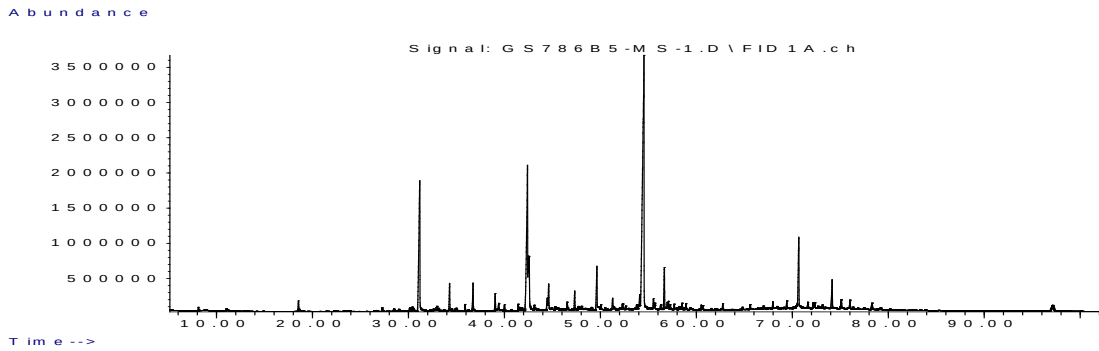
Şekil 4.5*O. argyroleuca* Kök Ham Apolar Ekstresi Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı

Tablo 4.9*O. argyroleuca* Kök Ham Polar Ekstresi Kompozisyonu

No	RRI	Bileşikler	%
1	1505	Malil asit-3TMS (=Butanedioik asit, [(trimetilsilil)oksi]-, bis(trimetilsilil) ester)	0,5
2	1797	Tagatofuranoz-5TMS (izomer-2)	e
3	1843	α -Fruktofuranoz - 5TMS (=D-arabino-heks-2-ulofuranoz-5TMS)	e
4	1852	Fruktoz - 5TMS (=β-Fruktofuranoz-5TMS)	0,2
5	1858	Fruktopiranoz - 5TMS	e
6	1870	D-(+)-Pinitol-5TMS	13,1
7	1917	Glukonolakton-4TMS	e
8	1929	α -Glukopiranoz-5TMS	0,2
9	1971	Mannitol-6TMS	1,6
10	1980	Sorbitol-6TMS # Glukitol-6TMS	0,1
11	1987	γ -Laktone Sakkarik asit-4TMS (=γ-lakton Glukarik asit-4TMS)	0,1
12	1993	Kiro-Inositol-6TMS	0,2
13	2023	β-Glukpiranoz-5TMS	0,4
14	2049	Heksahekanoik asit (=Palmitik asit)-TMS	1,8
15	2127	mio-Inositol-6TMS	1
16	2137	(Z)-9-Oktadeken-1-ol -TMS	0,4
17	2165	Oktadekanol <1->, mono-TMS	0,4
18	2256	Labd-14-en-2-one, 8,13-epoksi-, (13R)-; 2-Oksomanoil oksit	15,3
19	2331	Pimarik asit türevi TMS	1,7
20	2353	1-Eikozanol-TMS (=Araşidik alkol-TMS)	e
21	2591	Sukroz türevi - 7TMS	0,7
22	2648	Dokosanoik asit-TMS (=Behenik asit-TMS)	0,2
23	2700	Heptakozan	0,9
24	2713	Sukroz-8TMS	36,6
25	2804	1-Monostearin -2TMS	e
26	2820	Trehalo- 8TMS	2,6
27	2844	neo-Trehalo-8TMS (=α-D-Glukopiranozil-β-D-glukopiranozit-8TMS)	0,4
28	2880	Sellobioz-8TMS (=1-β-D-Glukopiranozil-4-β-D-glukopiranoz-8TMS)	0,3
29	2908	Nonakozan	e
30	3507	Raffinoz-11TMS	4,8
31	3705	Oktadesil kafeat, 2TMS	e
32	3901	Eikosil kafeat, 2TMS	e
Toplam			83

Şekil 4.6

O. argyroleuca Kök Ham Polar Ekstresi Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı



O. argyroleuca herba kısmı total polar ekstrenin farklı polaritedeki çözücüler ile fraksiyonlaması sonucu elde edilen OHPE, OHKE, OHEE, OHBE ve OHSE fraksiyonları, kimyasal kompozisyonların incelenmesi üzere türevlenerek GK-AİD/KS sistemine enjekte edilmiştir. OHPE, OHKE, OHEE, OHBE ve OHSE fraksiyonları silil türevlerinin kimyasal kompozisyonları sırasıyla Tablo 4.7 – Tablo 4.11’de sunulmuştur. Tablolarda bileşikler HP-5 kolondan çıkış sırasına göre listelenmiştir. Her bir tespit edilen bileşik için RRI değeri C₇-C₄₀ alkan serisi kullanılarak hesaplanmıştır. Ayrıca, bileşiklerin kromatografik ayırımını gösteren kromatogramlar Şekil 4.7 – Şekil 4.11’de sunulmuştur.

Tablo 4.10

O. argyroleuca Petrol Eterli Fraksiyonun (OHPE) Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1843	α -Fruktofuranoz - 5TMS	0,4
2	1855	Tetradeknok asit- TMS (= <i>Miristik asit</i> -TMS)	0,2
3	1870	D-(+)-Pinitol - 5TMS	1,4
4	2023	β -D-Glukopiranozit-5TMS	0,2
5	2049	Hekسادekanoik asit-TMS (= <i>Palmitik asit</i> -TMS)	6,4
6	2182	Fitol-mono - TMS	2,7
7	2217	Linoleik asit -TMS (= <i>(Z,Z)</i> -9,12-Oktadekadienoik asit-TMS)	2,7
8	2221	Oleik asit-TMS (= <i>cis</i> -9-Oktadekanoik asit - TMS)	13,5
9	2250	Oktadekanoik asit (= <i>Stearik asit</i>) -TMS	2,9
10	2360	1-Eikozanol-mono-TMS	0,7
11	2443	1-Eikozanoik asit-mono-TMS	0,9
12	2552	1-Dokozanol-mono-TMS	0,7

Tablo 4.10 (Devam) *O. argyroleuca* Petrol Eterli Fraksiyonun (OHPE) Kompozisyonu

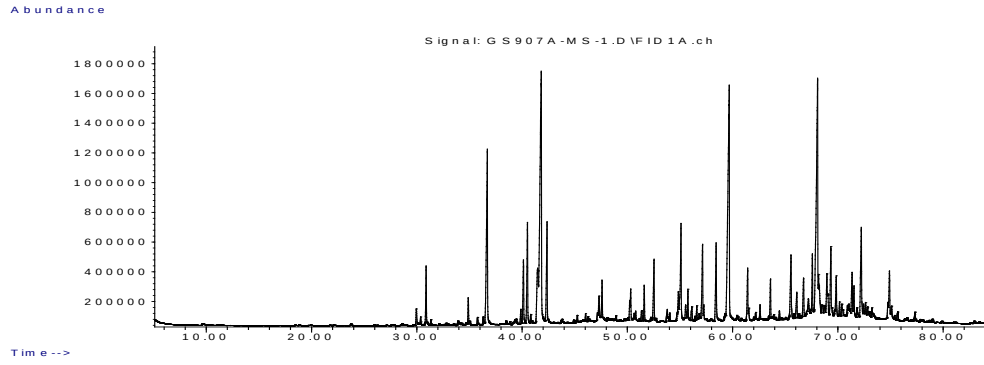
No	RRI	Bileşik	%
13	2570	2-Monopalmitin di-TMS	0,2
14	2594	α -Gliseril-palmitelaidat di - TMS	0,4
15	2604	1-Monopalmitin di - TMS	0,8
16	2648	Dolozanoik asit-TMS (= <i>Behenik asit</i> -TMS)	1,7
17	2700	Heptakozan	0,4
18	2706	Sukroz okta-TMS	0,2
19	2741	Trikozanoik asit mono-TMS	1,1
20	2757	Tetrakozan-1-ol - TMS	3,2
21	2770	α -Gliseril linoleat di- TMS	0,3
22	2804	1-Monostearin -2TMS (= (2 <i>S</i>)-2,3-Dihidroksypiopil oktadekanoik asit-2TMS)	0,5
23	2817	Trehalose-8TMS	0,1
24	2844	Tetrakozanoik asit-TMS	2,1
25	2847	1-Pentakozanol mono-TMS	0,3
26	2900	Nonakozane	2,3
27	2953	Heksakozan-1-ol-TMS (= <i>Ceryl alkol</i> - TMS)	11,5
28	3046	Heksakozanoik asit - TMS	1,3
29	3100	Hentriacontane	0,4
30	3149	1-Octakozanol-TMS	1,1
31	3244	Octakozanoik asit- TMS	2,3
32	3275	Kampesterol - TMS (=Kampesterol (24 <i>R</i> -metilcholest-5-en-3 β -ol-TMS)	0,9
33	3305	Stigmasterol - TMS (=Silane, trimetil[[(3- β -22 <i>E</i>)-stigmasta-5,22-dien-3-yl]oxi]-TMS)	1,2
34	3353	Triakontanol-TMS	1,6
35	3368	β -Sitosterol- TMS (=Silan, trimetil[[(3 β)-stigmast-5-en-3-yl]oxi]-TMS)	12,3
36	3378	Stigmastanol- TMS (=24(<i>R</i>)-24-Etil-5a-kolestan-3 β -ol-TMS)	0,9
37	3421	Lupeol-TMS (=Lup-20(29)-en-3 β -ol-TMS)	1,1
38	3431	Sikloartenol- TMS	1,4
39	3442	Triakontanoik asit-TMS	2,1
40	3471	Stigmast-4-en-3-on (=4-Sitosterol-3-one)	1,2
41	3602	Oleanolik asit- 2TMS (=3- β -Hidroksiolean-12-en-28-oik asit - 2TMS)	3,1
42	3613	Betulinik asit- 2TMS (=3- β -Hidroksi-lup-20(29)-en-28-oik asit- 2TMS)	0,4
43	3630	5- α -Stigmastan-3,6-dion *	0,3
Toplam			89,4

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir;

* Wiley NIST kütüphanesi mass spektrum veri üzerinden teşhis

Şekil 4.7

O. argyoleuca Petrol Eterli Fraksiyonunun (OHPE) Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı



Tablo 4.11

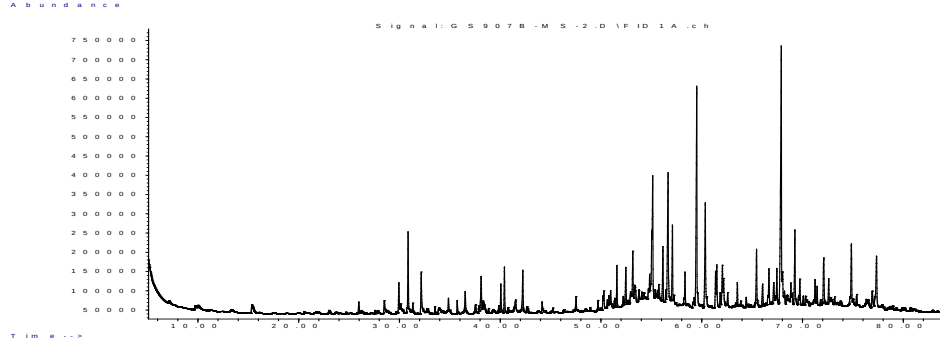
O. argyoleuca Kloroformlu Fraksiyonunun (OHKE) Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1842	Neofiltadien (= 7,11,15-Trimetil,3-metilen-1-heksadeken)	2,1
2	1870	D-(+)-Pinitol - 5TMS	4,3
3	2023	b-D-Glukopiranosit-5TMS	0,8
4	2049	Heksadekanoik asit (=Palmitik asit)-TMS	1,5
5	2167	Etil 9,12,15-oktadekatrienoat (=Etil 9 α -linolenat)	1,7
6	2182	Fitol-mono - TMS	2,5
7	2250	Oktadekanoik asit (=Stearik asit) -TMS	2,8
8	2648	Dokozanoik asit-TMS (= Behenik asit-TMS)	2,6
9	2804	1-Monostearin -2TMS (= (2S)-2,3-Dihidroksipropil oktadekanoik asit-2TMS)	3,1
10	2844	Tetrakozanoik asit-TMS	4,5
11	2953	Heksakozan-1-ol-TMS (= Seril alkol - TMS)	14,7
12	3046	Heksakozanoik asit - TMS	2,1
13	3100	Apigenin - 2TMS	7,4
14	3244	Oktakozanoik asit - TMS	3,2
15	3305	Stigmasterol - TMS (=Silan, trimetil[[(3- β -22E)-stigmasta-5,22-dien-3-yl]oksi]-TMS)	2,2
16	3368	β -Sitosterol - TMS (=Silane, trimetil[[(3 β)-stigmast-5-en-3-yl]oksi]-TMS)	21,1
17	3442	Triakontanoik asit-TMS	4,1
Toplam			80,7

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; %: miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir.

Şekil 4.8

O. argyoleuca Kloroformlu Fraksiyonun (OHKE) Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı



Tablo 4.12

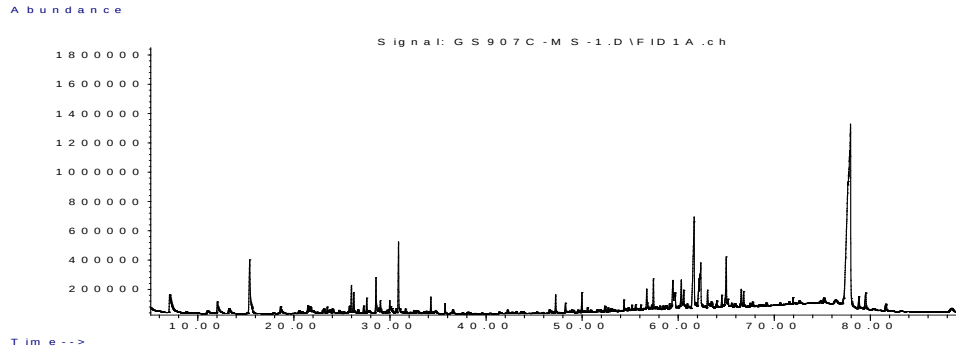
O. argyoleuca Etilasetatlı Fraksiyonunun (OHEE) Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1320	Suksinik asit - 2TMS (= Butanedioik asit, bis- TMS)	0,9
2	1363	Salisilik asit -TMS	0,6
3	1418	Karbonhidrat - TMS*	6,3
4	1506	Malik asit - 3TMS	0,5
5	1590	2-Trimetilsililoksi-1,3-butadien*	0,4
6	1647	2,3,5-Tri-o-Trimetilsilil-arabino-1,5-lakton*	0,3
7	1729	Levoglukoza - 3TMS	1,2
8	1795	Per-trimetilsilildehidro derivative of glukoz*	2,3
9	1809	Arabinofuranoz, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimetilsilil)-*	0,7
10	1843	α -Fruktofuranoz - 5TMS	0,6
11	1852	β -D-Fruktofuranoz - 5TMS	e
12	1870	D-(+)-Pinitol - 5TMS	3,9
13	1971	Sedoheptuloz-6TMS (= D-altro-heptuloz-6TMS)	0,8
14	2023	β -D-Glukopiranosit-5TMS	0,6
15	2826	Solidrosit-5TMS # 2-(4-Hidroksifenil)etil -D-glukopiranozit-5TMS	1,1
16	2947	Izomaltos, okta-TMS, izomer 1	2
17	2985	Genistein, di-TMS	1,6
18	3004	β -Izomaltos-8TMS (= 6-O- α -D-glukopiranozil- β -D-glukopiranoz-8TMS)	1,1
19	3050	Naringenin türevi*	10,6
20	3213	Kersetin, tetra-TMS	3,2
21	3884	Flavonoit glikozit türevi*	52
Toplam			77,5

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir; * mass spektrum benzerliğinden tentatif teşhis

Şekil 4.9

O. argyoleuca Etilasetatlı Fraksiyonun Bileşiklerinin (OHEE) Kromatografik Ayırımı



Tablo 4.13

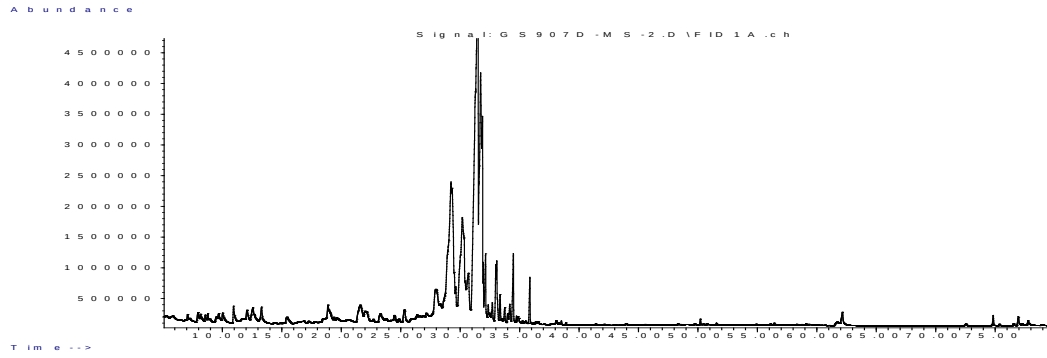
O. argyoleuca Butanolü Fraksiyonunun (OHBE) Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1281	Gliserol - 3TMS	0,6
2	1320	Suksinic asit - 2TMS (= Butanedioik asit, bis- TMS)	0,4
3	1355	(E)-2-Butenedioik asit-2TMS	0,7
4	1517	3,7-Dioksa-2,8-disilanonan, 2,2,8,8-tetrametil-5-[(trimetilsilil)oksi]-	1,4
5	1531	Eritritol Per-TMS	0,2
6	1593	(E) -1-Buten, 1-fenil-3-TMS	1,7
7	1753	Ksilitol-5TMS	0,7
8	1779	D-Psikofuranoz-5TMS (izomer 1)	4
9	1816	Mannonik asit, 4-TMS, lakton*	12,1
10	1843	α -Fruktofuranoz- 5TMS	8,7
11	1851	Fruktoz- 5TMS	1,2
12	1852	β -D-Fruktofuranoz- 5TMS	3,5
13	1870	D-Pinitol - 5TMS	30,2
14	1885	α -D-glukofuranoz- 5TMS	5,4
15	1892	D-Glukuronic asit -4TMS	12,8
16	1917	Glukonolakton-4TMS	0,6
17	1923	β -D-Talopiranoz-5TMS	0,7
18	1929	α -Glukopiranoz-5TMS (= α -D-Glukopiranosit-5TMS)	2,1
19	1935	α -D-Galaktopiranoz-5TMS	1,6
20	1939	β -Galaktopiranoz -5TMS (= β -Galaktose-5TMS)	1,2
21	1942	β -Mannopiranoz- 5TMS	0,7
22	1979	Etil 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimetilsilil)-D-glukopiranozit	1,8
23	1980	Sorbitol-6TMS (= Glucitol-6TMS)	0,6
24	1993	D-chiro-Inositol-6TMS	0,1
25	2023	β -D-Glukopiranozit-5TMS	1
26	2127	myo-Inositol-6TMS	e
Toplam			72,2

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir.

Şekil 4.10

O. argyoleuca Butanolü Fraksiyonu (OHBE) Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı



Tablo 4.14

O. argyoleuca Sulu Fraksiyonunun (OHSE) Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1506	Malik asit-3TMS	0,6
2	1608	D-(-)-Eritroz-MEOX-3TMS (izomer 1)	2,3
3	1726	Ribitol -5TMS	0,2
4	1753	Xylitol-5TMS	0,3
5	1809	D-Lyxofuranoz-4TMS*	0,3
6	1843	α -Fruktofuranoz- 5TMS	6,1
7	1852	β -D-Fruktofuranoz- 5TMS	1,3
8	1870	D-Pinitol- 5TMS	50,6
9	1885	α -D-glukofuranoz- 5TMS	1,4
10	1917	Glukonolakton-4TMS	1,1
11	1929	α -Glukopiranoz-5TMS (= α -D-Glukopiranozit-5TMS)	4,4
12	1942	β -Mannopiranoz- 5TMS	0,4
13	1971	Mannitol-6TMS	1,5
14	1972	Sedoheptuloz-6TMS (=D-altro-heptuloz-6TMS)	1,1
15	2023	β -D-Glukopiranozit-5TMS	8,9
16	2046	Glukonik asit-6TMS (= Maltonik asit-6TMS)	0,5
17	2113	Metoksisikloloheksanepentol, <izomer 3> -5TMS	0,4
18	2127	myo-Inositol-6TMS	1,6
19	2365	Gliseril-glikozit TMS*	0,3
20	2426	D-Glukuronik asit- 5TMS*	0,9
21	2565	2-O-Gliserol-a-D-galaktopiranozit, 6-TMS*	0,2
22	2706	Sukroz 8-TMS (=1- α -D-Glukopyranozil-2- β -D-fruktofuranozit-8TMS)	2,2
23	2781	α -D-Arabinopiranoz-4TMS	0,2
24	2795	D-Galaktopiranoz-5TMS (izomer 2)	0,2

Tablo 4.14 (Devam) *O. argyoleuca* Sulu Fraksiyonunun (OHSE) Kompozisyonu

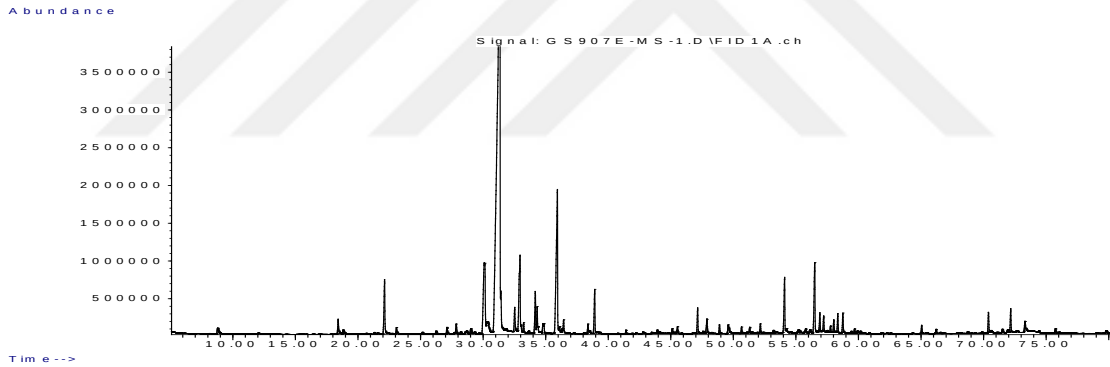
No	RRI	Bileşik	%
25	2817	Trehaloz-8TMS	3,1
26	2826	Solidosit 5TMS	0,7
27	2845	Maltoz- 8TMS (izomer 1)*	0,6
28	2869	D-Mannopiranoz-5TMS*	0,2
29	2881	α -D-Mannopiranozit- 4TMS*	0,5
30	2895	Melibiose-8TMS*	0,7
31	2914	Laktoz-8TMS*	0,8
32	3507	Raffinoz-11TMS	0,7
33	3594	Aucubin-6TMS*	0,8
34	3657	Panoz -11TMS	0,7
Toplam			92,1

RRI: relativ tutunma indisi; e: eser; % miktarları FID dedektör verilerine göre verilmiştir;

* mass spektrum benzerliğinden tentatif teşhis

Şekil 4.11

O. argyoleuca Sulu Fraksiyonu (OHSE) Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı

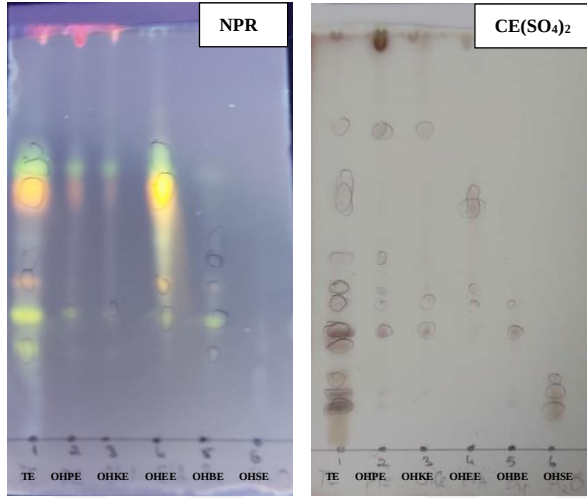


4.3.4 Fenolik bileşenlerin kimyasal kompozisyonu

Total ekstreten sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen fraksiyonların fenolik bileşimi İTK tekniği ile ön taramaya tabi tutulmuştur. İTK kromatografik ayırım sonucu Görsel 4.4'te gösterilmiştir. NPR reaktifi ve Macrogol uygulama sonucunda UV ışığı altında incelenen plak üzerinde mavi, sarı, turuncu flöresans veren spotlar tespit edilmiştir. En yoğun sarı-turuncu flöresan veren spotlar OHSE içinde görülmüştür. Bu durum flavonoit yapısındaki bileşenler için karakteristiktir. Ayrıca, etilasetatlı fraksiyon (OHSE) üzerine uygulanan Shibata testine pozitif sonuç alınmıştır (Görsel 4.5).

Görsel 4.4

O. argyroleuca Fraksiyonlarının İTK ile İncelemesi



TE: total ekstre; OHPE: petrol eterli fraksiyon; OHKE: kloroformlu fraksiyon;
OHEE: etilasetatlı fraksiyon; OHBE: butanolü fraksiyon; OHSE: sulu fraksiyon.

Görsel 4.5

O. argyroleuca Etilasetatlı Fraksiyonun (OHEE) Shibata Testi Sonucu



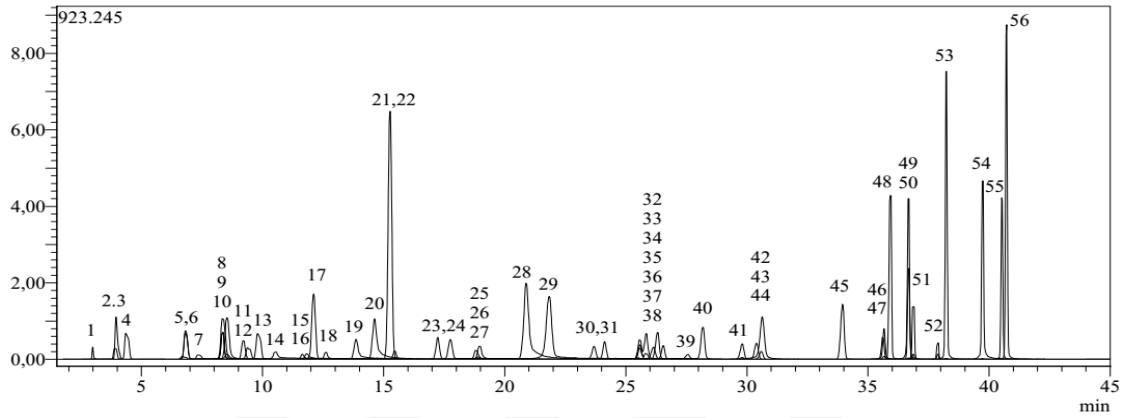
O. argyroleuca bitkisinin herba kısmına ait polar ekstresinin etil asetatlı fraksiyonun kimyasal bileşimi yüksek çözünürlüklü sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (HR-YBSK-MS) tekniği kullanılarak incelenmiştir. Bu amaçla kurutulmuş fraksiyon uygun konsantrasyonda metanol içinde çözülerek HR-YBSK-MS sistemine enjekte edilmiştir.

Fenolik bileşiklerin teşhisi, elde edilen kütle spektrumları ve alıkonma sürelerinin (Rt, dakika) ticari standart fenolik bileşiklerle karşılaştırılması esas alınarak

gerçekleştirilmiştir. Toplam 56 farklı fenolik asit ve flavonoid standart bileşiğin kromatografik ayrımı Şekil 4.12’de sunulmuştur. Aynı şartlarda analiz edilen *O. argyroleuca* etil asetatlı fraksiyonunun bileşiklerin kromatografik ayrımı Şekil 4.13’de gösterilmiştir.

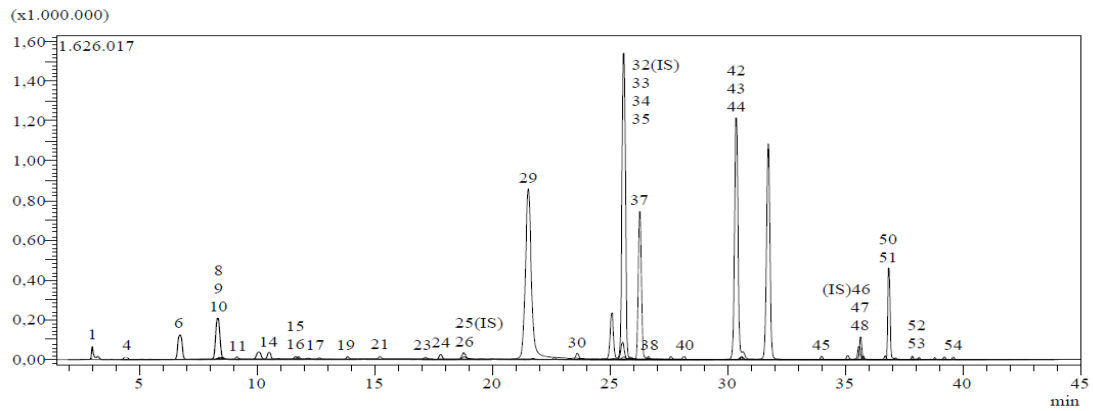
Şekil 4.12

Standart Fenolik Bileşiklerin Kromatografik Ayrımı (YBSK)



Şekil 4.13

O. argyroleuca Polar Ekstrenin Etilasetatlı Fraksiyonunun Bileşiklerin Kromatografik Ayrımı (YBSK)



Yapılan kalitatif analizlerin ardından, standart fenolik bileşiklerin farklı konsantrasyonlarına karşılık gelen pik alanları yardımıyla kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Bu eğriler temel alınarak, numunede tespit edilen fenolik bileşiklerin kantitatif analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar mg/g_{kuru ekstre} biriminde saptanmıştır. *O. argyroleuca* etilasetatlı fraksiyonunda tespit edilen fenolik bileşikler, alıkonma sürelerine göre sıralanmış şekilde Tablo 4.15’te verilmiştir. Ayrıca, uygulanan SK-KS/KS analiz yöntemine ait doğrulama (validasyon) parametreleri — doğrusal aralık,

doğrusal regresyon katsayısı (r^2), dedeksiyon limiti (LOD) ve miktar belirleme limiti (LOQ) Tablo 4.16’da detaylı biçimde raporlanmıştır.

Tablo 4.15

O. argyroleuca Etilasetatlı Fraksiyonun Kimyasal Bileşimi (YBSK)

No	Bileşik	Miktar, mg/g _{kuru ekstre}
1	Kuinik asit	0,134
2	Fumarik asit	-
3	Akonitik asit	-
4	Gallik asit	0,271
5	Epigallokateşin	-
6	Protokateşik asit	4,444
7	Kateşin	-
8	Gentisik asit	6,641
9	Korojenik asit	0,156
10	Protokateşik aldehit	0,187
11	Tannik asit	0,061
12	Epigallokteşin gallat	-
13	Sinarin	-
14	4-OH Benzoik asit	1,827
15	Epikateşin	0,757
16	Vanilik asit	0,569
17	Kafeik asit	0,245
18	Şirinjik asit	-
19	Vanilin	0,160
20	Şirinjik aldehit	-
21	Daidzin	0,027
22	Epikateşin gallat	-
23	Piceid	0,028
24	p-Kumarik asit	0,734
25	Ferulik asit-D3-IS ^h	-
26	Ferulik asit	0,431
27	Sinapik asit	-
28	Koumarin	-
29	Salisilic asit	5,597
30	Siranosid	0,193
31	Miquelianin	-
32	Rutin-D3-IS	-
33	Rutin	0,121
34	İzokersitrin	24,945
35	Hesperidin	0,050

Tablo 4.15 (Devam) *O. argyroleuca* Etilasetatlı Fraksiyonun Kimyasal Bileşimi (YBSK)

No	Bileşik	Miktar, mg/g _{kuru ekstre}
36	<i>o</i> -Kumarik asit	-
37	Genistin	9,681
38	Rozmarinik asit	0,039
39	Ellajik asit	-
40	Kosmosiin	0,341
41	Kersitrin	-
42	Astragalin	44,817
43	Nikotiflorin	0,036
44	Fisetin	0,018
45	Daidzein	0,238
46	Kersetin-D3-IS	-
47	Kersetin	2,727
48	Naringenin	0,149
49	Hesperetin	-
50	Luteolin	0,104
51	Genistein	3,269
52	Kemferol	0,362
53	Apigenin	0,023
54	Amentoflavon	0,026
55	Krisin	-
56	Akasetin	-

Tablo 4.16

SK-KS/KS Yöntemine Ait Analitik Yöntem Doğrulama Parametreleri

No	Analitler	RT ^a	M.I. (m/z) ^b	F.I. (m/z) ^c	Ion. mode	Denklem	r ^{2d}	RSD% ^e		Doğrusallık Arahığı (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^f	Geri kazanım (%)		U ^g	Gr. No ^h
								Günler arası	Gün içi			Günler arası	Gün içi		
1	Kuininik asit	3,0	190,8	93,0	Neg	$y = -0,0129989 + 2,97989x$	0,996	0,69	0,51	0,1-5	25,7/33,3	1,0011	1,0083	0,0372	1
2	Fumarik asit	3,9	115,2	40,9	Neg	$y = -0,0817862 + 1,03467x$	0,995	1,05	1,02	1-50	135,7/167,9	0,9963	1,0016	0,0091	1
3	Asonitik asit	4,0	172,8	129,0	Neg	$y = -0,7014530 + 32,9994x$	0,971	2,07	0,93	0,1-5	16,4/31,4	0,9968	1,0068	0,0247	1
4	Gallik asit	4,4	168,8	79,0	Neg	$y = 0,0547697 + 20,8152x$	0,999	1,60	0,81	0,1-5	13,2/17,0	1,0010	0,9947	0,0112	1
5	Epigallokateşin	6,7	304,8	219,0	Neg	$y = -0,00494986 + 0,0483704x$	0,998	1,22	0,73	1-50	237,5/265,9	0,9969	1,0040	0,0184	3
6	Protokateşik asit	6,8	152,8	108,0	Neg	$y = 0,211373 + 12,8622x$	0,957	1,43	0,76	0,1-5	21,9/38,6	0,9972	1,0055	0,0350	1
7	Kateşin	7,4	288,8	203,1	Neg	$y = -0,00370053 + 0,431369x$	0,999	2,14	1,08	0,2-10	55,0/78,0	1,0024	1,0045	0,0221	3
8	Gentisik asit	8,3	152,8	109,0	Neg	$y = -0,0238983 + 12,1494x$	0,997	1,81	1,22	0,1-5	18,5/28,2	0,9963	1,0077	0,0167	1
9	Klorojenik asit	8,4	353,0	85,0	Neg	$y = 0,289983 + 36,3926x$	0,995	2,15	1,52	0,1-5	13,1/17,6	1,0000	1,0023	0,0213	1
10	Protokateşik aldehit	8,5	137,2	92,0	Neg	$y = 0,257085 + 25,4657x$	0,996	2,08	0,57	0,1-5	15,4/22,2	1,0002	0,9988	0,0396	1
11	Tannik asit	9,2	182,8	78,0	Neg	$y = 0,0126307 + 26,9263x$	0,999	2,40	1,16	0,05-2,5	15,3/22,7	0,9970	0,9950	0,0190	1
12	Epigallokateşin gallat	9,4	457,0	305,1	Neg	$y = -0,0380744 + 1,61233x$	0,999	1,30	0,63	0,2-10	61,0/86,0	0,9981	1,0079	0,0147	3
13	1,5-Dikafeilkuinik asit	9,8	515,0	191,0	Neg	$y = -0,0164044 + 16,6535x$	0,999	2,42	1,48	0,1-5	5,8/9,4	0,9983	0,9997	0,0306	1
14	4-OH Benzoik asit	10,5	137,2	65,0	Neg	$y = -0,0240747 + 5,06492x$	0,999	1,24	0,97	0,2-10	68,4/88,1	1,0032	1,0068	0,0237	1
15	Epikateşin	11,6	289,0	203,0	Neg	$y = -0,0172078 + 0,0833424x$	0,996	1,47	0,62	1-50	139,6/161,6	1,0013	1,0012	0,0221	3
16	Vanilik asit	11,8	166,8	108,0	Neg	$y = -0,0480183 + 0,779564x$	0,999	1,92	0,76	1-50	141,9/164,9	1,0022	0,9998	0,0145	1
17	Kafeik asit	12,1	179,0	134,0	Neg	$y = 0,120319 + 95,4610x$	0,999	1,11	1,25	0,05-2,5	7,7/9,5	1,0015	1,0042	0,0152	1
18	Sirinjik asit	12,6	196,8	166,9	Neg	$y = -0,0458599 + 0,663948x$	0,998	1,18	1,09	1-50	82,3/104,5	1,0006	1,0072	0,0129	1
19	Vanilin	13,9	153,1	125,0	Poz	$y = 0,00185898 + 20,7382x$	0,996	1,10	0,85	0,1-5	24,5/30,4	1,0009	0,9967	0,0122	1

Tablo 4.16 (Devam) SK-KS/KS Yöntemine Ait Analitik Yöntem Doğrulama Parametreleri

No	Analitler	RT ^a	M.I. (m/z) ^b	F.I. (m/z) ^c	Ion. mode	Denklem	r ^{2d}	RSD% ^e		Doğrusallık Arahğı (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^f	Geri kazanım (%)		U ^g	Gr. No ^h
								Günler arası	Gün içi			Günler arası	Gün içi		
20	Sirinjik aldehit	14,6	181,0	151,1	Neg	$y = -0,0128684 + 7,90153 \times$	0,999	2,51	0,77	0,4-20	19,7/28,0	1,0001	0,9964	0,0215	1
21	Daidzin	15,2	417,1	199,0	Poz	$y = 9,45747 + 152,338 \times$	0,996	2,25	1,32	0,05-2,5	7,0/9,5	0,9955	1,0017	0,0202	2
22	Epikateşin gallat	15,5	441,0	289,0	Neg	$y = -0,0142216 + 1,06768 \times$	0,997	1,63	1,28	0,1-5	19,5/28,5	0,9984	0,9946	0,0229	3
23	Piseit	17,2	391,0	135/106,9	Poz	$y = 0,00772525 + 25,4181 \times$	0,999	1,94	1,16	0,05-2,5	13,8/17,8	1,0042	0,9979	0,0199	1
24	p-Kumarik asit	17,8	163,0	93,0	Neg	$y = 0,0249034 + 18,5180 \times$	0,999	1,92	1,43	0,1-5	25,9/34,9	1,0049	1,0001	0,0194	1
25	Ferulik asit-D3-IS ^a	18,8	196,2	152,1	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	0,0170	1
26	Ferulik asit	18,8	192,8	149,0	Neg	$y = -0,0735254 + 1,34476 \times$	0,999	1,44	0,53	1-50	11,8/15,6	0,9951	0,9976	0,0181	1
27	Sinapik asit	18,9	222,8	193,0	Neg	$y = -0,0929932 + 0,836324 \times$	0,999	1,45	0,52	0,2-10	65,2/82,3	1,0031	1,0037	0,0317	1
28	Kumarin	20,9	146,9	103,1	Poz	$y = 0,0633397 + 136,508 \times$	0,999	2,11	1,54	0,05-2,5	214,2/247,3	0,9950	0,9958	0,0383	1
29	Salisilik asit	21,8	137,2	65,0	Neg	$y = 0,239287 + 153,659 \times$	0,999	1,48	1,18	0,05-2,5	6,0/8,3	0,9950	0,9998	0,0158	1
30	Sinarozit	23,7	447,0	284,0	Neg	$y = 0,280246 + 6,13360 \times$	0,997	1,56	1,12	0,05-2,5	12,1/16,0	1,0072	1,0002	0,0366	2
31	Mikelianin	24,1	477,0	150,9	Neg	$y = -0,00991585 + 5,50334 \times$	0,999	1,31	0,95	0,1-5	10,6/14,7	0,9934	0,9965	0,0220	2
32	Rutin-D3-IS ^a	25,5	612,2	304,1	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	2
33	Rutin	25,6	608,9	301,0	Neg	$y = -0,0771907 + 2,89868 \times$	0,999	1,38	1,09	0,1-5	15,7/22,7	0,9977	1,0033	0,0247	2
34	İzokersitrin	25,6	463,0	271,0	Neg	$y = -0,111120 + 4,10546 \times$	0,998	2,13	0,78	0,1-5	8,7/13,5	1,0057	0,9963	0,0220	2
35	Hesperidin	25,8	611,2	449,0	Poz	$y = 0,139055 + 13,2785 \times$	0,999	1,84	1,35	0,1-5	19,0/26,0	0,9967	1,0043	0,0335	2
36	o-Kumarik asit	26,1	162,8	93,0	Neg	$y = 0,00837193 + 11,2147 \times$	0,999	2,11	1,46	0,1-5	31,8/40,4	1,0044	0,9986	0,0147	1
37	Genistin	26,3	431,0	239,0	Neg	$y = 1,65808 + 7,57459 \times$	0,991	2,01	1,28	0,1-5	14,9/21,7	1,0062	1,0047	0,0083	2
38	Rozmarinik asit	26,6	359,0	197,0	Neg	$y = -0,0117238 + 8,04377 \times$	0,999	1,24	0,86	0,1-5	16,2/21,2	1,0056	1,0002	0,0130	1
39	Elajik asit	27,6	301,0	284,0	Neg	$y = 0,00877034 + 0,663741 \times$	0,999	1,57	1,23	0,4-20	56,9/71,0	1,0005	1,0048	0,0364	1
40	Kosmosiin	28,2	431,0	269,0	Neg	$y = -0,708662 + 8,62498 \times$	0,998	1,65	1,30	0,1-5	6,3/9,2	0,9940	0,9973	0,0083	2

Tablo 4.16 (Devam) SK-KS/KS Yöntemine Ait Analitik Yöntem Doğrulama Parametreleri

No	Analitler	RT ^a	M.I. (m/z) ^b	F.I. (m/z) ^c	Ion, mode	Denklem	r ^{2d}	RSD ^e %		Doğrusallık Aralığı (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^f	Geri kazanım (%)		U ^g	Gr. No ⁱ
								Günler arası	Gün içi			Günler arası	Gün içi		
41	Kersitrin	29,8	447,0	301,0	Neg	y=-0,00153274+3,20368x	0,999	2,24	1,16	0,1-5	4,8/6,4	0,9960	0,9978	0,0268	2
42	Astragalin	30,4	447,0	255,0	Neg	y=0,00825333+3,51189x	0,999	2,08	1,72	0,1-5	6,6/8,2	0,9968	0,9957	0,0114	2
43	Nikotiflorin	30,6	592,9	255,0/ 284,0	Neg	y=0,00499333+2,62351x	0,999	1,48	1,23	0,05-2,5	11,9/16,7	0,9954	1,0044	0,0108	2
44	Fisetin	30,6	285,0	163,0	Neg	y=0,0365705+8,09472x	0,999	1,75	1,19	0,1-5	10,1/12,7	0,9980	1,0042	0,0231	3
45	Daidzein	34,0	253,0	223,0	Neg	y=-0,0329252+6,23004x	0,999	2,18	1,73	0,1-5	9,8/11,6	0,9926	0,9963	0,0370	3
46	Kersetin-D3-IS ^h	35,6	304,0	275,9	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	3
47	Kersetin	35,7	301,0	272,9	Neg	y=+0,00597342+3,39417x	0,999	1,89	1,38	0,1-5	15,5/19,0	0,9967	0,9971	0,0175	3
48	Naringenin	35,9	270,9	119,0	Neg	y=-0,00393403+14,6424x	0,999	2,34	1,69	0,1-5	2,6/3,9	1,0062	1,0020	0,0392	3
49	Hesperetin	36,7	301,0	136,0/ 286,0	Neg	y=+0,0442350+6,07160x	0,999	2,47	2,13	0,1-5	7,1/9,1	0,9998	0,9963	0,0321	3
50	Luteolin	36,7	284,8	151,0/ 175,0	Neg	y=-0,0541723+30,7422x	0,999	1,67	1,28	0,05-2,5	2,6/4,1	0,9952	1,0029	0,0313	3
51	Genistein	36,9	269,0	135,0	Neg	y=-0,00507501+12,1933x	0,999	1,48	1,19	0,05-2,5	3,7/5,3	1,0069	1,0012	0,0337	3
52	Kempferol	37,9	285,0	239,0	Neg	y=-0,00459557+3,13754x	0,999	1,49	1,26	0,05-2,5	10,2/15,4	0,9992	0,9990	0,0212	3
53	Apigenin	38,2	268,8	151,0/ 149,0	Neg	y=0,119018+34,8730x	0,998	1,17	0,96	0,05-2,5	1,3/2,0	0,9985	1,0003	0,0178	3
54	Amentoflavin	39,7	537,0	417,0	Neg	y=0,727280+33,3658x	0,992	1,35	1,12	0,05-2,5	2,8/5,1	0,9991	1,0044	0,0340	3
55	Krisin	40,5	252,8	145,0/ 119,0	Neg	y=-0,0777300+18,8873x	0,999	1,46	1,21	0,05-2,5	1,5/2,8	0,9922	1,0050	0,0323	3
56	Akasetin	40,7	283,0	239,0	Neg	y=-0,559818+163,062x	0,997	1,67	1,28	0,02-1	1,5/2,5	0,9949	1,0011	0,0363	3

^aR.T.: Alikonma zamanı, ^bMI (m/z): Analiz edilen standart bileşiklere ait moleküler iyonlar (m/z), ^cFI (m/z): İlgili bileşiklerin parçalanma iyonları, ^dr²: Kalibrasyon eğrisi doğruluğunu ifade eden belirleme katsayısı, ^eRSD: Relatif standart sapma oranı, ^fLOD/LOQ (µg/L): Tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ); analitin güvenilir şekilde algılanabildiği ve kantitatif olarak ölçülebildiği en düşük konsantrasyon düzeyleri; ^gU (%): %95 güven düzeyinde hesaplanan relatif belirsizlik değeri (k = 2), ^hIS: İntörnall standart, ⁱGr. No: İntörnall standartların gruplanmasını ifade eder; her numara, belirli bir fenolik bileşik ile eşleşen iç standardı temsil etmektedir.

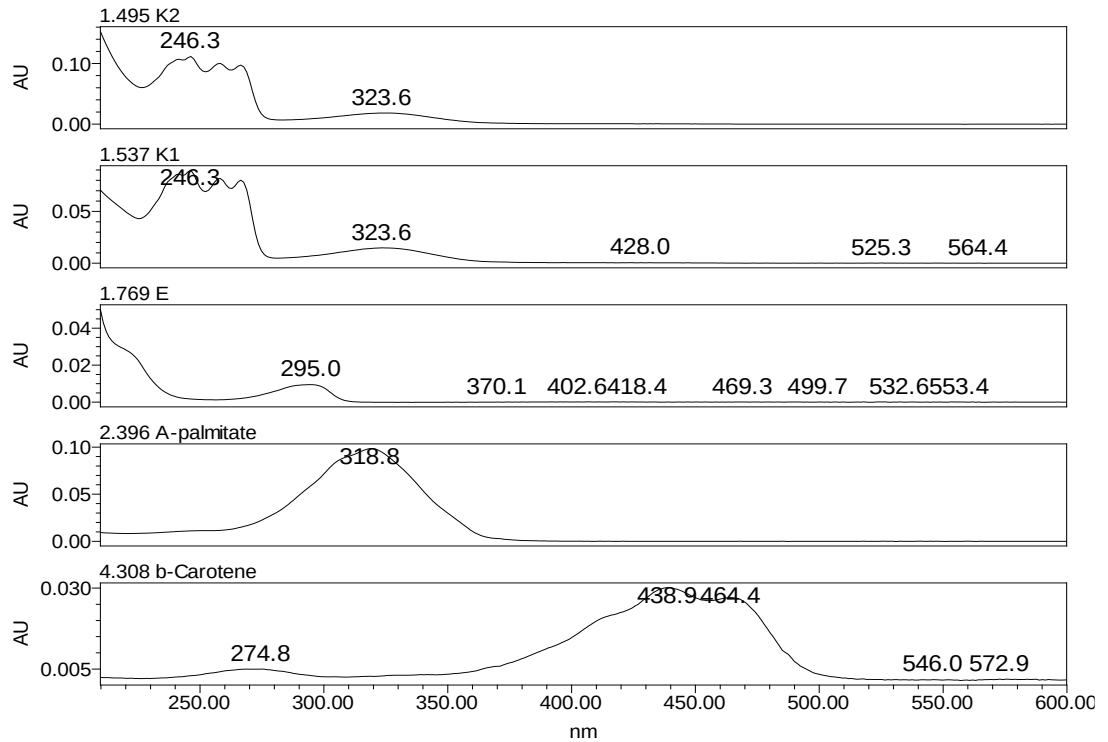
4.3.5 Yağda çözünen vitaminlerin kompozisyonu

O. argyroleuca tohumlarından mikroölçekli sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen lipofilik ekstrenin yağda çözünebilen vitamin bileşimi, Ultra Başarımli Birleşim Kromatografisi (UBBK) tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analizde, öncelikle standart yağda çözünebilen vitamin bileşikleri karışımının UBBK yöntemi ile kromatografik ayrımı sağlanmış, her bir bileşiğe ait alıkonma süresi (Rt, dakika) ve UV spektrumları kaydedilmiştir.

Elde edilen bu veriler temel alınarak, test numunesi aynı kromatografik şartlarda analiz edilmiş ve bileşiklerin kalitatif değerlendirmesi yapılmıştır. Kalitatif analizde, gözlemlenen piklerin Rt süresi ve UV spektral özellikleri karşılaştırılarak bileşiklerin tanımlanması sağlanmıştır (Şekil 4.14).

Şekil 4.14

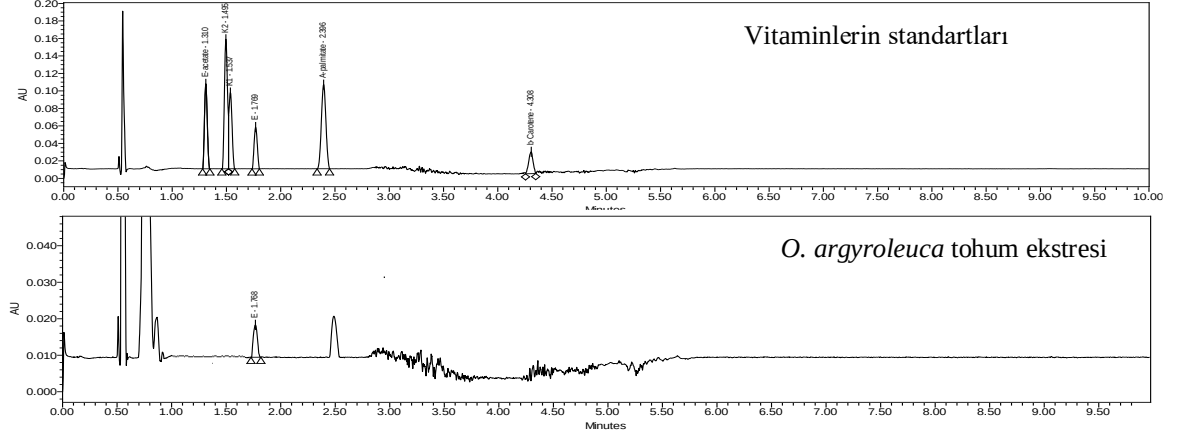
Yağda Çözünen Vitaminlerin (Vit K1, Vit K2, Vit E, Vit A Palmitat, β -Karoten) UV Spektrumları



Dört adet vitamin (K₁, K₂, E, A palmitat) ve bir provitamin (β -karoten) içeren standart karışımın kromatografik profili ile test numunesine ait kromatogramlar Şekil 4.15'te karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

Şekil 4.15

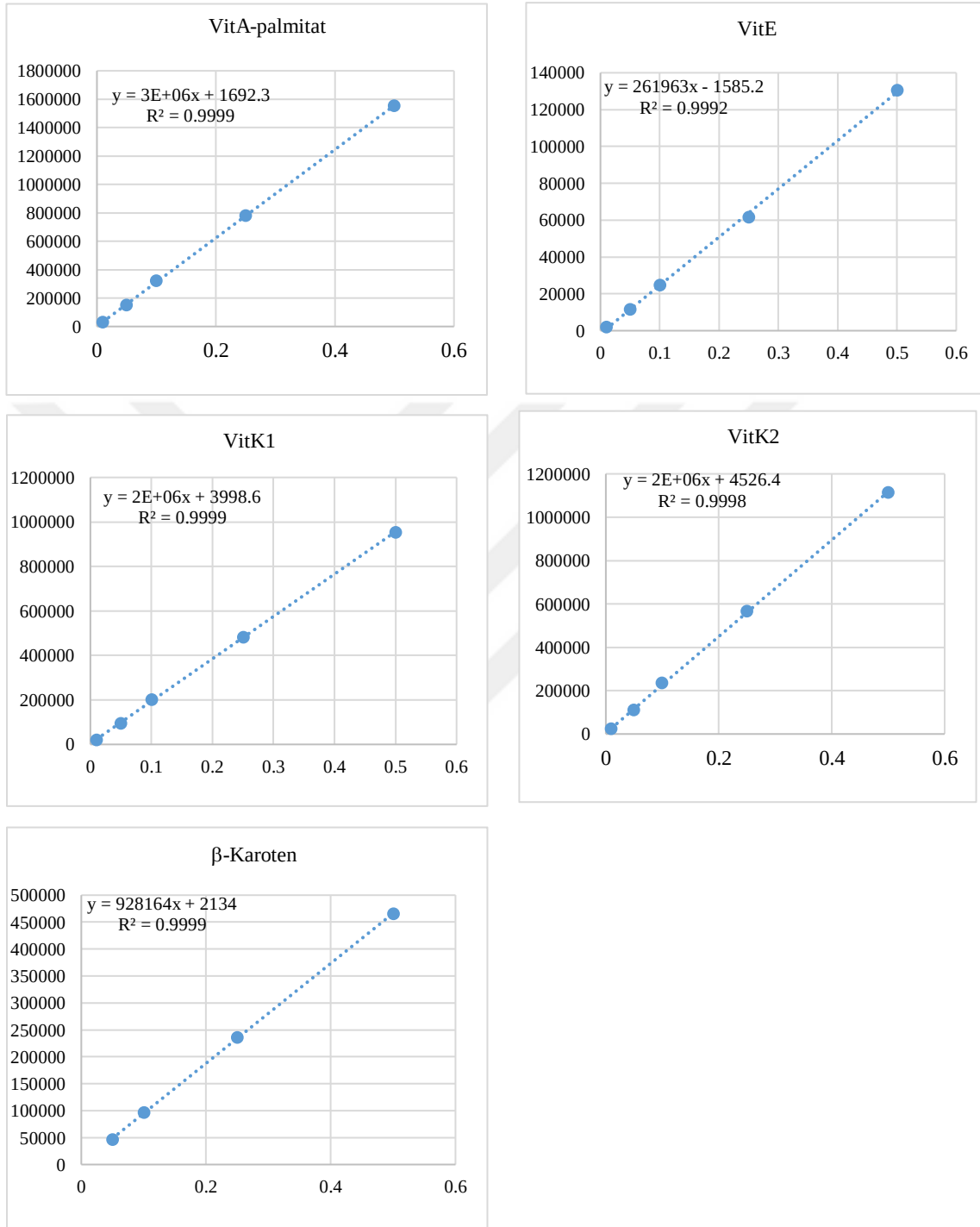
Standart Vitaminler ve *O. argyroleuca* Tohumunun Kromatogram Karşılaştırması



Kantitatif analiz kapsamında, her bir standart vitamin bileşiği için farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanarak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Elde edilen pik alanları ile konsantrasyonlar arasındaki ilişki doğrultusunda kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları (r^2) hesaplanmış, bu değerler Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Hazırlanan bu kalibrasyon denklemleri kullanılarak test numunesindeki ilgili vitamin ve provitamin bileşiklerinin miktar tayini gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.16

Standart Yağda Çözünen Vitaminlerin Kalibrasyon Eğrileri



O. argyroleuca tohumlarında tespit edilen vitaminler ve miktarları Tablo 4.17’de verilmiştir. Bileşik miktar değerleri mg vit/100 mg_{extr} olarak saptanmıştır.

Tablo 4.17*O. argyroleuca* UBBK Tekniği ile Vitaminler Analiz Sonuçları

	Vitamin K1	Vitamin K2	Vitamin E	Vitamin A- palmitat	β-Karoten
	mg vit/100mg _{extr}				
Tohum ekstresi	ND	ND	2,000	ND	ND

ND: tespit edilmedi

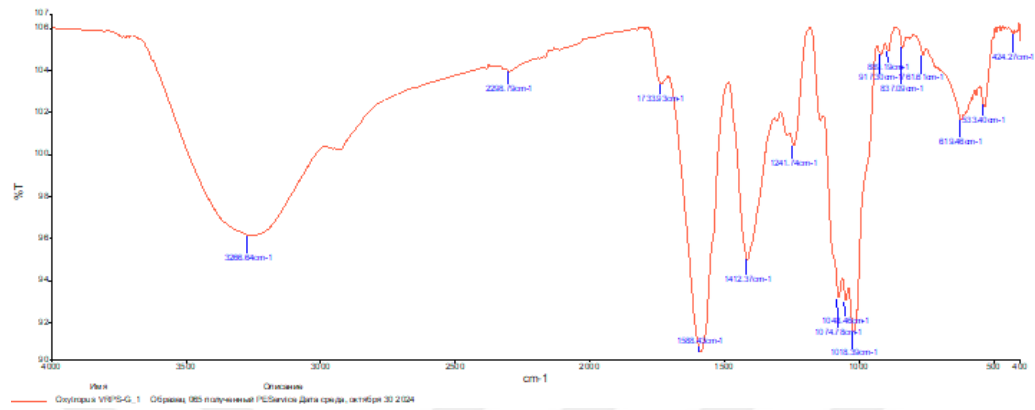
4.3.6 Suda çözünen polisakkaritlerin kompozisyonu

Suda çözünen polisakkaritler (SÇPS), pektin bileşeni (P) ve hemiselüloz (HMS) fraksiyonları *O. argyroleuca* toprak üstü kısımlarından su ile ekstraksiyonu ve ardından alkol ile çöktürme yöntemi ile elde edilmiştir. Polisakkaritler hidrolize edildikten sonra hidrolizat bileşimi kağıt kromatografisi ve gaz kromatografisi yöntemleri ile incelenmiştir. Kağıt kromatogramında bileşiklerin ayrımı Görsel 4.6'da sunulmuştur. Fraksiyonunların IR spektrumları Şekil 4.17 – Şekil 4.19'da sunulmuştur.

Görsel 4.6*O. argyroleuca* Suda Çözünen Polisakkarit Hidrolizatının Kağıt Kromatogramı

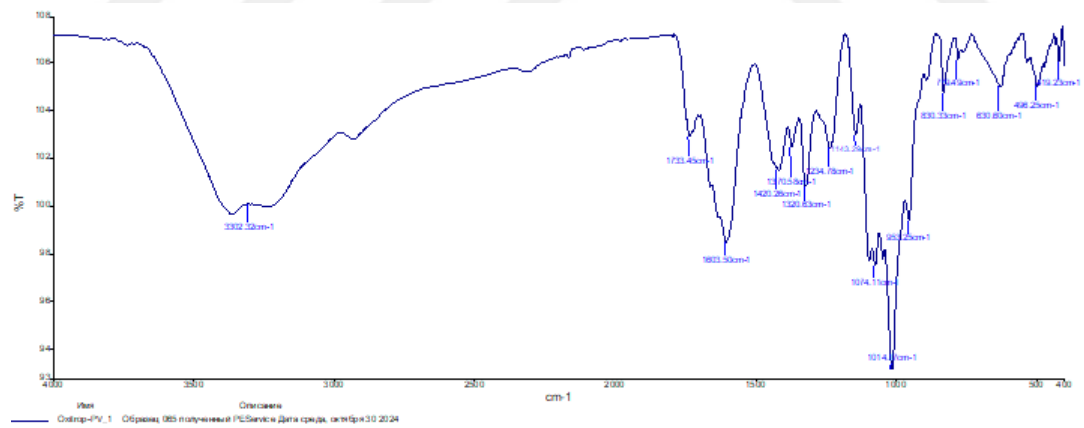
Şekil 4.17

O. argyroleuca Suda Çözünen Polisakkarit Fraksiyonunun Kızılötesi Spektrumu



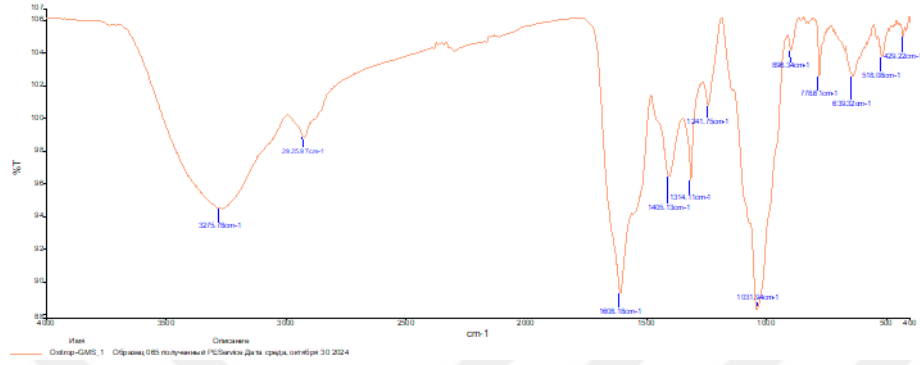
Şekil 4.18

O. argyroleuca Pektin Fraksiyonunun IR Spektrumu



Şekil 4.19

O. argyroleuca Hemiselüloz Fraksiyonunun IR Spektrumu



SÇPS fraksiyonundan polisakkaritler, hemiselüloz ve pektin maddeler alt fraksiyonları elde edilmiştir. Bunların kimyasal kompozisyonlarının incelenmesi amaçla silil türevleri elde edilerek GK-KS/AİD tekniği ile analiz edilmiştir (Tablo 4.18 - Tablo 4.20, Şekil 4.20 – Şekil 4.22).

Tablo 4.18

O. argyroleuca Suda Çözünen Polisakkaritlerin Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1636	D-(-)-Ribofuranoz-4TMS (izomer 1)	1,3
2	1648	Arabinoz-4TMS*	5,1
3	1659	Rhamnoz-4TMS	2,1
4	1677	α -Ribofuranoz-4TMS	9,1
5	1700	D-(-)-Liksofuranoz-4TMS*	1,7
6	1702	L-Fucoz-4TMS	e
7	1717	β -L-(+)-Rhamnopyranoz-4TMS	3,3
8	1738	Ksiloz - 4TMS	1,2
9	1753	Ksilitol-5TMS	e
10	1788	β -D-(+)-ksilopyranoz-4TMS*	e
11	1840	Şikimik asit-4TMS	0,2
12	1843	α -Fruktofuranoz - 5TMS	0,8
13	1845	α -Mannopyranoz-5TMS	1,1

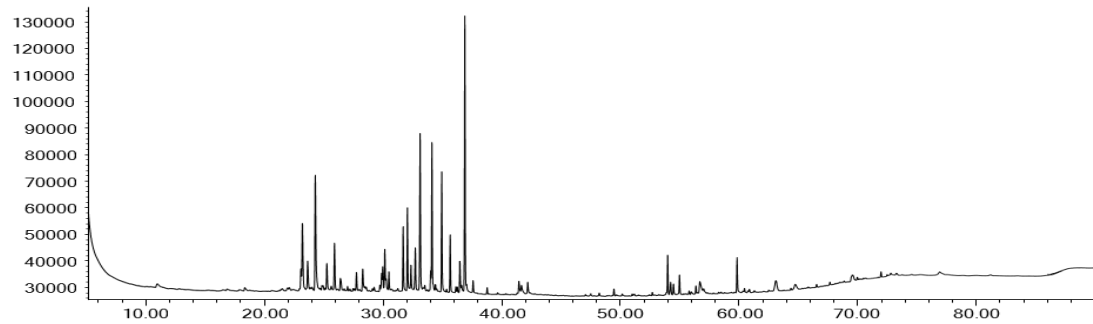
Tablo 4.18 (Devam) *O. argyroleuca* Suda Çözünen Polisakkaritlerin Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
14	1852	β -D-Fruktofuranoz - 5TMS	2,4
15	1858	Fruktopiranoz - 5TMS (=D-(-)-Fruktopiranoz-5TMS)	0,5
16	1865	α -Galaktofuranoz-5TMS	1,1
17	1892	α -Galaktopiranoz-5TMS	3,6
18	1904	Per-O-(trimetilsilil)- α -l-idofuranuronik asit*	4,4
19	1929	α -Glukopiranoz-5TMS (= α -D-Glukopiranozit-5TMS)	2,7
20	1942	β -Mannopiranoz- 5TMS	9,4
21	1968	1H-Indol-3-acetik asit-TMS*	7,3
22	1971	Mannitol-6TMS	0,9
23	1996	Galakturonic asit-4TMS*	6,6
24	2023	β -D-Glukopiranozit-5TMS	3,1
25	2049	Heksidekanoik asit-TMS (=Palmitik asit)-TMS	1,9
26	2059	Galakturonic asit-5TMS*	15,1
27	2083	Sakkarik asit-TMS*	0,7
28	2127	myo-Inositol-6TMS	0,4
29	2706	Sukroz- 8TMS	2,1
Toplam			88,1

* mass spektrum benzerliğinden tentatif teşhis

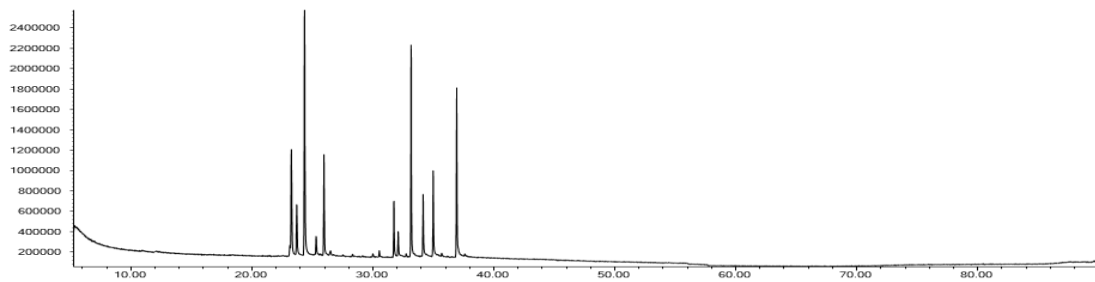
Şekil 4.20

O. argyroleuca Suda Çözünen Polisakkarit Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı



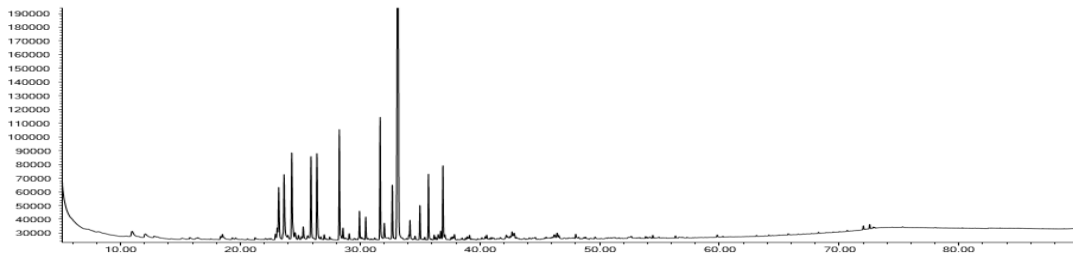
Tablo 4.19*O. argyroleuca* Pektin Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1636	D-(-)-Ribofuranoz-4TMS (izomer 1)	1,6
2	1648	Arabinose-4TMS*	8,1
3	1659	Rhamnose-4TMS	4,1
4	1677	a-Ribofuranoz-4TMS	13,4
5	1700	D-(-)-Liksofuranoz-4TMS*	2,2
6	1702	L-Fucoz-4TMS	e
7	1717	b-L-(+)-Rhamnopyranoz-4TMS	6,3
8	1738	Ksiloz - 4TMS	0,6
9	1753	Ksilitol-5TMS	e
10	1788	b-D-(+)-Ksilopiranoz-4TMS*	e
11	1840	Şikimik asit-4TMS	e
12	1843	a-Fruktofuranoz - 5TMS	e
13	1845	a-Mannopiranoz-5TMS	0,7
14	1852	b-D-Fruktofuranoz - 5TMS	e
15	1858	Fruktopiranoz - 5TMS (=D-(-)-Fruktopiranoz-5TMS)	e
16	1865	a-Galaktofuranoz-5TMS	1,3
17	1892	a-Galaktopiranoz-5TMS	5,8
18	1904	Per-O-(trimetilsilil)-a-l-idofuranuronik asit*	4,1
19	1929	α -Glukopiranoz-5TMS (=a-D-Glukopiranozit-5TMS)	0,6
20	1942	β -Mannopiranoz- 5TMS	12,9
21	1968	1H-Indol-3-acetik asit-TMS*	8,1
22	1971	Mannitol-6TMS	-
23	1996	Galacturonik asit-4TMS*	9,7
24	2023	β -D-Glukopiranozit-5TMS	0,6
25	2049	Heksadekanoik asit-TMS (=Palmitik asit)-TMS	0,5
26	2059	Galakturonik asit-5TMS*	15,8
27	2083	Sakkarik asit-TMS*	0,7
		Toplam	97,1

Şekil 4.21*O. argyroleuca* Pekin Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı

Tablo 4.20*O. argyroleuca* Hemiselüloz Kompozisyonu

No	RRI	Bileşik	%
1	1636	D-(-)-Ribofuranoz-4TMS (izomer 1)	0,8
2	1648	Arabinoz-4TMS*	5,1
3	1659	Rhamnoz-4TMS	6,4
4	1677	a-Ribofuranoz-4TMS	8,6
5	1700	D-(-)-Liksofuranoz-4TMS*	1,1
6	1702	L-Fucoz-4TMS	0,2
7	1717	b-L-(+)-Rhamnopyranoz-4TMS	6,9
8	1738	Ksiloz - 4TMS	7,8
9	1753	Ksilitol-5TMS	0,5
10	1788	b-D-(+)-Ksilopiranoz-4TMS*	8,3
11	1840	Şikimik asit-4TMS	
12	1843	a-Fruktofuranoz - 5TMS	
13	1845	a-Mannopiranoz-5TMS	2,1
14	1852	b-D-Fruktofuranoz - 5TMS	
15	1858	Fruktopiranoz - 5TMS (=D-(-)-Fruktopiranoz-5TMS)	
16	1865	a-Galaktofuranoz-5TMS	1,6
17	1892	a-Galaktopiranoz-5TMS	8,7
18	1904	Per-O-(trimetilsilil)-a-l-idofuranuronik asit*	1,2
19	1929	α -Glukopiranoz-5TMS (=a-D-Glukopiranozit-5TMS)	3,8
20	1942	β -Mannopiranoz- 5TMS	18,5
21	1968	1H-Indol-3-acetik asit-TMS*	1,4
22	1971	Mannitol-6TMS	
23	1996	Galacturonik asit-4TMS*	2,5
24	2023	β -D-Glukopiranozit-5TMS	4,6
25	2049	Heksadekanik asit-TMS (=Palmitik asit)-TMS	
26	2059	Galacturonik asit-5TMS*	5,3
27	2083	Sakkarik asit-TMS*	
28	2127	myo-Inositol-6TMS	
29	2706	Sukroz- 8TMS	
		Toplam	95,4

Şekil 4.22*O. argyroleuca* Hemiselüloz Bileşiklerinin Kromatografik Ayırımı

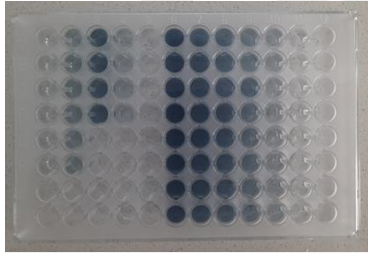
4.4 Spektrofotometrik Ölçümlerin Sonuçları

4.4.1 Toplam fenol miktarları

O. argyroleuca numunelerindeki bulunan toplam fenol miktarları, Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Gallik asit, standart madde olarak kullanılmış ve ekstrelerin antioksidan kapasiteleri gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Ekstrelerin Folin-Ciocalteu reaktifi ile gösterdikleri renk değişimi Görsel 4.7’de yer almaktadır. Ekstrelerin toplam fenol içeriği, gallik asite eşdeğer olarak Tablo 4.21’de sunulmuştur.

Görsel 4.7

O. argyroleuca Ekstrelerinin Folin-Ciocalteu Reaktifiyle Gösterdiği Renk Değişimi



Tablo 4.21

O. argyroleuca Ekstrelerinin Gallik Asite Eşdeğer Toplam Fenol Miktarı

Numune	mg GAE /mL
OHPE	0.12±0.006
OHKE	0.35±0.016
OHEE	0.75±0.037
OHBE	0.2±0.009
OHSE	0.08±0.010

*Tüm ekstreler 5 mg/mL konsantrasyonunda kullanılmıştır.

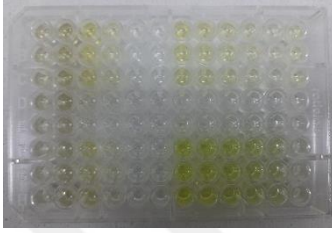
4.4.2 Toplam flavonoit miktarları

O. argyroleuca ekstrelerde bulunan toplam flavonoit miktarları, alüminyum klorür ($AlCl_3$) reaktifi ile gerçekleştirilen spektrofotometrik analiz yöntemiyle belirlenmiştir. Analizlerde referans standart olarak rutin kullanılmış olup, örneklerin flavonoit içerikleri

rutin eşdeğeri (RE) olarak hesaplanmıştır. $AlCl_3$ ile kompleks oluşumu sonucu meydana gelen renk değişimlerine ilişkin görseller Görsel 4.8’de sunulmuş, elde edilen toplam flavonoit miktarları ise Tablo 4.22 da detaylı şekilde raporlanmıştır.

Görsel 4.8

O. argyroleuca Ekstrelerinin $AlCl_3$ Reaktifi İle Ortaya Çıkan Renk Değişimleri



Tablo 4.22

O. argyroleuca Ekstrelerinin Rutine Eşdeğer Toplam Flavonoit Miktarları

Numune	mgRE/mL
OHPE	0,06±0,01
OHKE	0,15±0,06
OHEE	0,88±0,01
OHBE	0,18±0,01
OHSE	0,06±0,01

*Tüm ekstreler 5 mg/mL konsantrasyonunda kullanılmıştır.

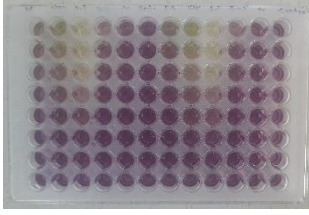
4.5 Biyolojik Aktivite Sonuçları

4.5.1 Serbest radikal süpürücü etki (DPPH testi) sonuçları

O. argyroleuca bitkisi ekstrelerinin DPPH serbest radikalini nötralize etme etkisi, spektrofotometrik yöntemle incelenmiştir. Gallik asit, standart madde olarak kullanılmış ve ekstrelerin % inhibisyon değerleri ile IC_{50} değerleri SigmaPlot programı yardımıyla hesaplanmıştır. Deneyin sonunda, numunelerin ve standart maddenin renk değişimi Görsel 4.9’da sunulmuştur.

Görsel 4.9

O. argyroleuca Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikal Süpürme Etkisi



O. argyroleuca ekstrelerinin % inhibisyon değerleri hesaplandıktan sonra, % 50'den fazla inhibisyon gösteren numuneler için dilüsyon yöntemi uygulanarak, % 50 inhibisyon sağlayan en düşük konsantrasyonlar belirlenmiştir. Yüzde inhibisyon değerleri ve konsantrasyon verileri kullanılarak, SigmaPlot programı yardımıyla IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.23). Deney sonuçları ve etil asetatlı ekstrenin % inhibisyon grafiği Şekil 4.23'te verilmiştir.

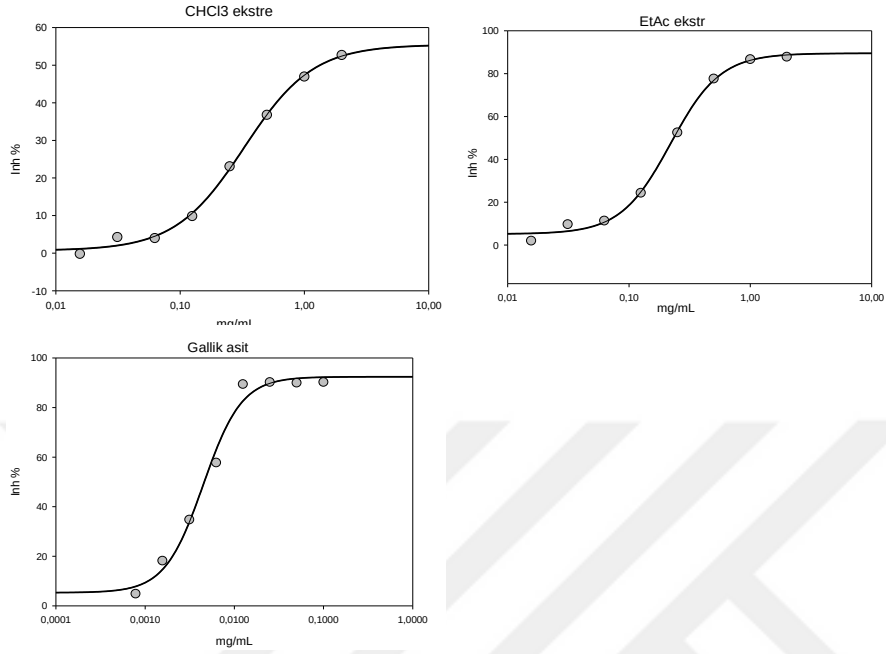
Tablo 4.23

O. argyroleuca Ekstrelerinin DPPH Serbest Radikal Süpürme Etkisi

Numune	IC ₅₀ , mg/mL	İnh., %
OHPE	>2	24,0
OHKE	1,624 ± 0.039	-
OHEE	0,351 ± 0.002	-
OHBE	>2	40,5
OHSE	>2	15,0
Gallik asit	5×10 ⁻³ ± 0.000	-
*Tüm ekstreler 2-0,0156 mg/mL konsantrasyon aralığında test edilmiştir; IC ₅₀ : %50 inhibisyon gösteren konsantrasyon değeri; Inh%: inhibisyon yüzdesi		

Şekil 4.23

O. argyroleuca Ekstreleri ve Gallik Asit İnhibisyon Eğrileri (DPPH testi)

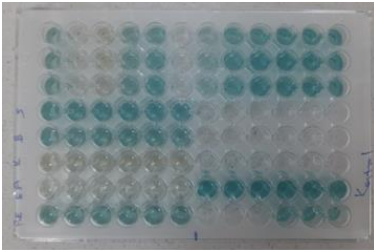


4.5.2 TEAK testi sonuçları

O. argyroleuca ekstrelerinin antioksidan kapasitesi, serbest ABTS radikalini süpürme kapasitesine göre spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Ekstrelerin antioksidan güçleri, standart olarak kullanılan troloxun ABTS radikalini süpürme kapasitesi ile kıyaslanarak belirlenmiştir. Deneyin sonunda, numunelerin ve standart maddenin renk değişimi Görsel 4.10’da sunulmuştur. Ekstrelerin Trolox’a eşdeğer antioksidan kapasiteleri, Tablo 4.24’de verilmiştir.

Görsel 4.10

O. argyroleuca Ekstrelerinin Deney Sonucu ABTS Reaktifi İle Renk Değişimi



Tablo 4.24

O. argyroleuca Ekstrelerinin Trolox'a Eşdeğer Antioksidan Kapasite Değerleri

Numune	TEAK, mM
OHPE	1.11±0.098
OHKE	2.84±0.073
OHEE	2.78±0.095
OHBE	1.15±0.076
OHSE	0.73±0.068

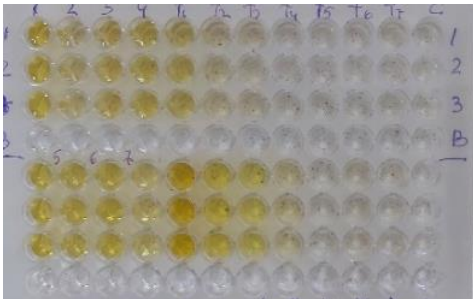
*Tüm ekstreler 2 mg/mL konsantrasyonunda kullanılmıştır.

4.5.3 Gümüş nanopartikül bazlı polifenollerin antioksidan kapasite ölçümü (GNPAK) sonuçları

O. argyroleuca ekstrelerinin GNPAK analizi sodyum sitrat ile stabilize edilmiş gümüş çekirdeklerinin polifenoller tarafından Ag^+ iyonlarının indirgenmesi esasına göre analiz edilmiştir. Deneyde standart bileşik olarak askorbik asit kullanılmıştır. Reaksiyon sonucu meydana gelen renk değişimlerine ilişkin görseller Görsel 4.11'de sunulmuş, elde edilen GNPAK değerleri ise askorbik asite eşdeğer olarak mg/mL cinsinden Tablo 4.25'te verilmiştir.

Görsel 4.11

O. argyroleuca Ekstrelerinin SNAP Reaktif Etkisi ile Renk Değişimi



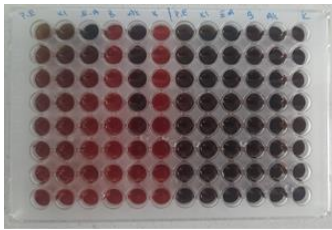
Tablo 4.25*O. argyroleuca* Ekstrelerinin GNPAK Sonuçları

Numune	GNPAK, mgAE/mL
OHPE	0.018±0.000
OHKE	0.043±0.002
OHEE	0.284±0.009
OHBE	0.029±0.000
OHSE	0.023±0.006

*Tüm ekstreler 1 mg/mL konsantrasyonunda kullanılmıştır.

4.5.4 α -Amilaz inhibisyon sonuçları

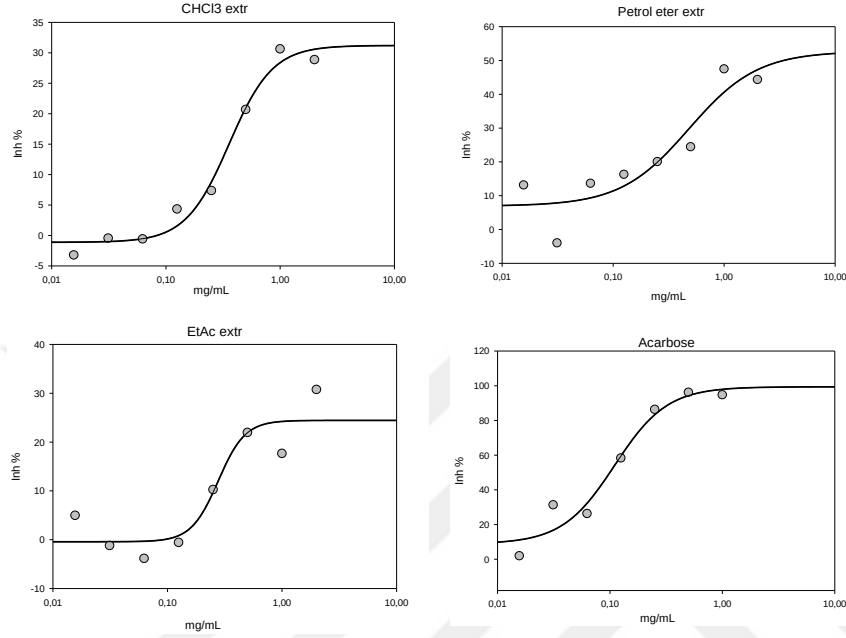
O. argyroleuca ekstrelerinin α -amilaz enzimini inhibe etme potansiyeli, enzimin nişasta substratı üzerindeki hidrolitik aktivitesi esas alınarak değerlendirilmiştir. Enzimatik reaksiyonun izlenebilmesi amacıyla kromojenik ajan olarak iyot-potasyum iyodür (I_2/KI) çözeltisi kullanılmıştır. Karşılaştırmalı değerlendirme için referans inhibitör olarak antidiyabetik bileşik akarboz kullanılmıştır. Reaksiyon sonucu meydana gelen renk değişimleri Görsel 4.12’de sunulmuş; α -amilaz inhibisyonuna ilişkin kantitatif veriler ise Tablo 4.26’da ve Şekil 4.24’de ayrıntılı şekilde raporlanmıştır.

Görsel 4.12*O. argyroleuca* Ekstrelerinin α -Amilaz İnhibisyonu Testinde Renk Değişimi**Tablo 4.26***O. argyroleuca* Ekstrelerinin α -Amilaz Enzimi Üzerinde İnhibisyon Sonuçları

Numune	IC ₅₀ , mg/mL
OHPE	0,48±0,02
OHKE	0,35±0,03
OHEE	0,27±0,00
OHBE	>2* (%34)
OHSE	>1* (%21)
Akarboz	0,11±0,02

Şekil 4.24

O. argyroleuca Ekstreleri ve Akarboz α -Amilaz Enzimi İnhibisyon Eğrileri (SigmaPlot)

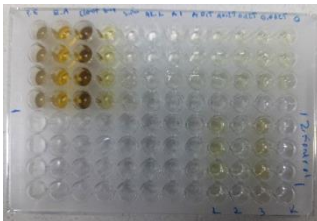


4.5.5 α -Glukozidaz inhibitör testi sonuçları

O. argyroleuca ekstrelerinin α -glukozidaz enzimini inhibe etme potansiyeli, enzimin 4-nitrofenil α -D glukopiranozit ile tepkimesine dayanmaktadır. Reaksiyon sodyum karbonat çözeltisi eklenerek reaksiyon sonlandırılır. Karşılaştırmalı değerlendirme için referans inhibitör olarak antidiyabetik bileşik akarboz kullanılmıştır. Reaksiyon sonucu meydana gelen renk değişimleri Görsel 4.13 olarak sunulmuş; α -glukozidaz inhibisyonuna ilişkin kantitatif veriler ise Tablo 4.27’de ve Şekil 4.25’de ayrıntılı şekilde raporlanmıştır.

Görsel 4.13

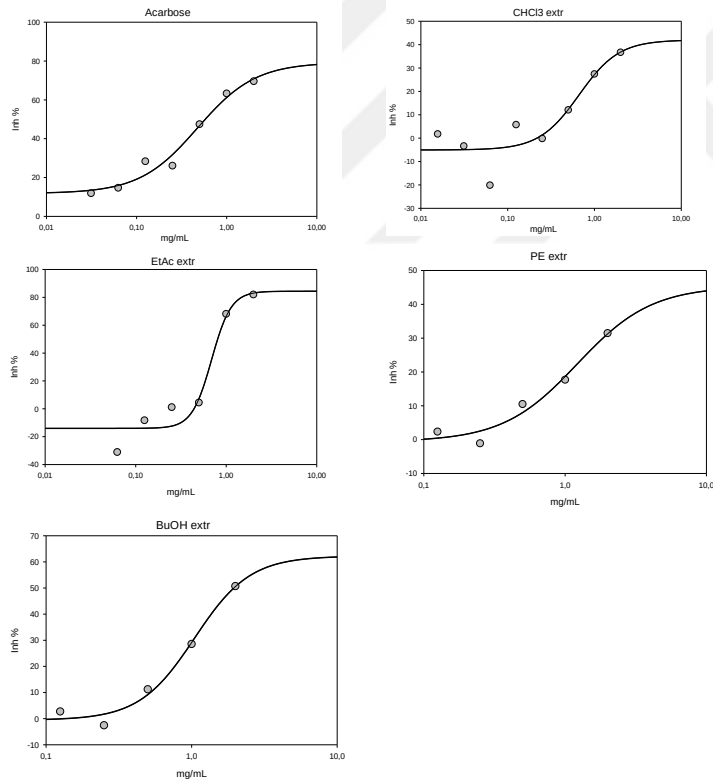
O. argyroleuca Ekstrelerinin α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Sonucunda Meydana Gelen Renk Değişimi



Tablo 4.27*O. argyroleuca* Ekstrelerinin α -Glukozidaz Enzimi Üzerinde İnhibisyon Sonuçları

Numune	IC ₅₀ , mg/mL
OHPE	1,21±0,08
OHKE	0,66±0,04
OHEE	0,68±0,08
OHBE	1,04±0,09
OHSE	>2* (%14,6)
Akarboz	0,47±0.01

* ekstre 2 mg/mL olarak test edilmiştir

Şekil 4.25*O. argyroleuca* Ekstreleri ve Akarboz α -Glukozidaz Enzimi İnhibisyon Eğrileri (SigmaPlot)



5. YORUM ve TARTIŞMA

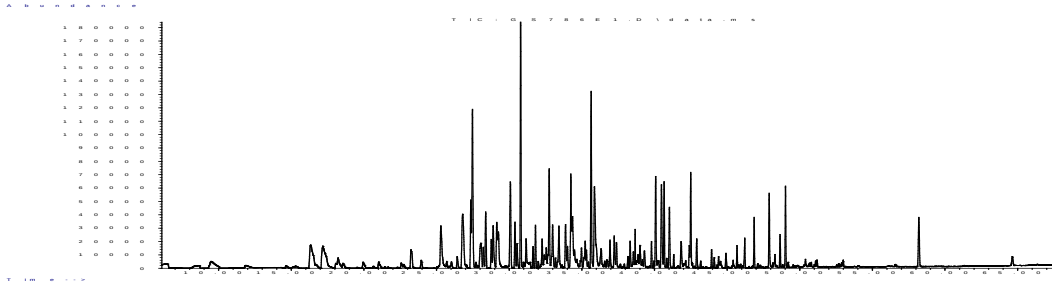
O. argyroleuca üzerinde ön değerlendirme niteliğinde yapılan bazı sekonder metabolitlere yönelik test reaksiyonlar neticesinde, bitkinin flavon glikozitleri, fenolik bileşikleri ve saponin glikozitleri içerdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda bitkiden farklı polaritede çözücüler ile elde edilmiş ekstraktların içerisinde bu tip metabolitlerin araştırılmasında devam edilmiştir.

5.1 Uçucu Bileşen Profili

Araştırma kapsamında Eskişehir civarında toplanmış *O. argyroleuca* bitkisinin çiçek kısmının uçucu bileşikleri kombine MBD-KFME tekniği ile elde edilerek kimyasal kompozisyonu GK-KS/AİD tekniği ile incelenmiştir. KFME fiber ucu ile ekstre edilen uçucu bileşikler termal desorbsiyona uğrayarak daha sonra HP-Innowax kolonunda kromatografik ayırma tabi tutulmuştur (Şekil 5.1)

Şekil 5.1

O. argyroleuca Uçucu Bileşiklerinin MBD-KFME Tekniği ile Kromatografik Ayırımı

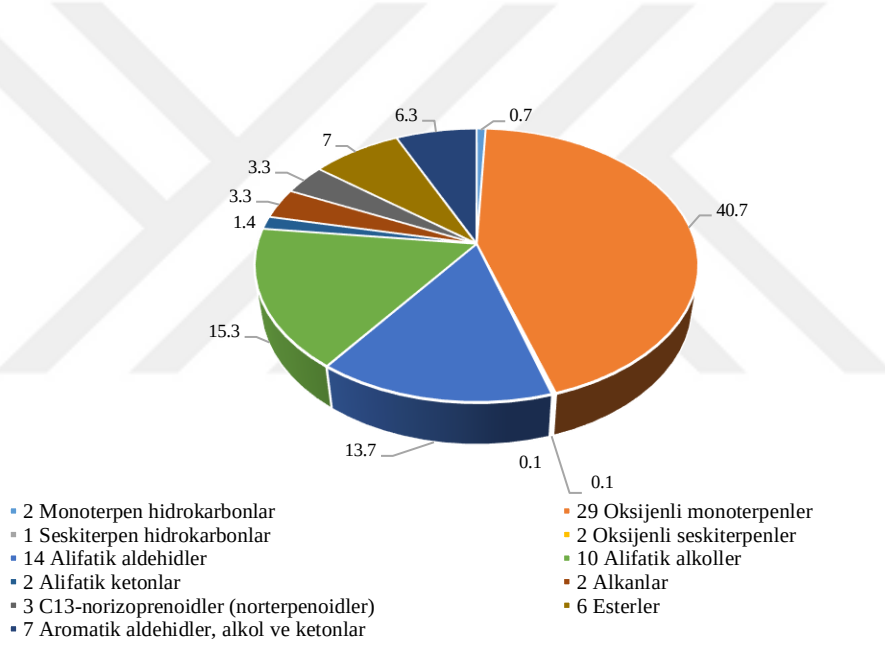


O. argyroleuca gaz kromatografik analiz sonucunda uçucu bileşiminin %92,9 oranını oluşturan toplam 81 madde tanımlanmıştır. Tespit edilen maddeler 11 grup altında toplanmıştır: monoterpen hidrokarbonlar; oksijenli monoterpenler; seskiterpen hidrokarbonlar; oksijenli seskiterpenler; alifatik alkoller, aldehytler ve ketonlar; aromatik alkoller, aldehytler ve ketonlar; ve C13-norizoprenoitler; alkanlar, esterler (Şekil 5.2). Uçucu bileşiklerin arasında en yüksek dağılım yüzdesine sahip olan oksijenli monoterpenler (%40,7) yirmi dokuz bileşik ile temsil edilmiştir.

Oksijenli monotерpenler grubunda başlıca tespit edilen bileşikler olarak linalol (%6,7), α -terpineol (%4,9), borneol (%3,8), kafur (%3,2), (*E*)-geranil aseton (%2,5), terpinen-4-ol (%2,7), *trans*-linalol oksit (furanoid) (%2,1), karvakrol (%1,9), 3,4-dimetil-5-pentiliden-2(5H)-furanon (%1,9), *cis*-linalol oksit (furanoid) (%1,8), mentol (%1,5) ve siklositral (%1,3) bulunmuştur. Diğer terpenik bileşenler minör oranda tespit edilmiştir. C13-norizoprenoidler grubu sadece (*E*)- β -damassenon, (*E*)- β -ionon ve *trans*- β -ionon-5,6-epoksit ile temsil edilmiş olup toplam %3,3 oranında saptanmıştır (Şekil 5.2).

Şekil 5.2

Çiçek Uçucu Bileşiklerin Dağılımı



Uçucu bileşenin büyük kısmı terpenik olmayan oksijenli maddelerden oluşmaktadır: alifatik aldehydler (%13,7), alifatik ketonlar (%15,3), esterler (%7,0) ve aromatik aldehyd, alkol ve keton bileşikler (%6,3). Alifatik aldehydler grubunda (14 bileşik) başlıca heptanal (%2,5), nonanal (%2,3), dekanal (%1,6), (*E,E*)-2,4-heptadienal (%1,2), (*E*)-2-undekenal (%0,9) ve dodekanal (%0,7) saptanmıştır. Alifatik alkoller grubunda (10 bileşik) başlıca 1-okten-3-ol (%5,6), nonanol (%2,0), 6-Metil-5-hepten-2-ol (%1,7), 2-Okten-1-ol (%1,6), dodekanol (%0,8) ve dekanol (%0,7) bulunmuştur. Alifatik ketonlar arasında dikkati çeker oranda sadece (*E,E*)-3,5-oktadien-2-on (%1,1) saptanmıştır. Aromatik

aldehit grubundan (7 bileşik) fenilasetaldehit (%3,0), benzaldehit (%1,4) ve anisalaldehit (%0,5) tespit edilmiştir. Ester grubunda tespit edilen bileşikler (%7,0) propanoik, pentanoik ve tiglik asitleri esterlerinden oluşmuştur. Alkanlar sadece dimetil tetradekan (%3,3) ile temsil edilmiştir.

Kaynak taraması sonucunda *Oxytropis* türlerine ilişkin çok az uçucu bileşen araştırma sonuçlarına rastlanmıştır. Sulaymanov ve ark., tarafından *O. rosea* uçucu yağında 4,7,7-trimetilbisiklo[4.1.0]hept-4-en (%4,0), 4-e tril-1,2-dimetilbenzen (%3,1), linalol format (%2,6), p-Mentha-1,8-dien (%2,4), 4,4,7-trimetil-2,3-dihydro-1H-naftalen (%1,4) ve a-metil naftalen (%1,2), (1R,4R)-4,7,7-trimetilbisiklo[2.2.1]heptan-3-on (%1,2) ve pentadekan (%1,1) rapor edilmiştir (Sulaymonov vd., 2023).

Narangere ve ark., *O. pseudoglandulosa* uçucu yağında toplam 27 farklı bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşikler, toplam uçucu yağın %82,77'sini oluşturmaktadır (Narangerel vd., 2021). Yağda en baskın bileşik hekzadekanoik asit (%13,1) olarak belirlenmiş; bunu sırasıyla fokienol (%11,56), pogostol (%9,9), trikozan (%5,6), elemisin (%4,40), prasteron (%4,3) ve α -bulnesen (%4,3) takip etmiştir.

Wang ve ark. tarafından *O. falcata* Bunge. bitkisi için, yapısal olarak farklı aglikonlar içeren glikokonyüğe uçucu bileşiklerin - oktanoller, terpenoitler, fenilbutanoller, fenilmetanol, feniletanol, fenilbütan-2-on ve kromononlar dahil olmak üzere rapor edilmiştir (S. Wang vd., 2018). Ancak, bu bileşiklerin distilasyon değil, ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiş olduklarını dikkate alınması gerekmektedir. Jiang ve ark. *O. falcate* Bunge distilasyonu sonucunda uçucu yağının başta viridiflorol (%11,5), (E)-nerolidol (%8,2), spathulenol (%5,4), hedikaryol (%2,3) ve g-ödesmol (%2,2) olmak üzere oksijenli seskiterpenler açısından zengin olduğu rapor edilmiştir (Jiang, Zhan, vd., 2009). Bununla beraber, yağda etil heksadekanoat (%6,5), trikosan (%5,6), 2-heneikosanol (%4,3), oleik asit (%3,3) uçucu yağın major bileşikleri listesinde yer almıştır.

Salarbashi ve ark. tarafından *O. kuchanensis* Vassilcz. uçucu yağın toplam bileşiminin %96,5'ini temsil eden 47 bileşik tespit edilmiştir (Salarbashi vd., 2014). Yağın önemli bileşikleri arasında monoterpenler, limonen (%11,4), α -siklogeraniol (%3,7), kamfen (%3,1) ve *trans*-karveol (%2,8) tanımlanmıştır. Seskiterpenler sınıfından, karyofillen oksit (%9,6), *E*-karyofillen (%8,5), β -oplopenon (%3,7), β -selinen (%2,9), α -humulen

(%2,8), α -amorfen (%2,7), β -ödesmol (%2,5), α -kadinol (%2,4) ve γ -kadinen (%2,3) olmuştur.

O. argyroleuca çiçeklerinin uçucu bileşeni ilk kez araştırılmış olup, bileşiminin oksijenli monoterpenler ve alifatik alkoller ve aldehytler açısından zengin olduğu tespit edilmiştir. Dikkati çeken özellik, diğer *Oxytropis* türlerinden farklı olarak, *O. argyroleuca* türünde seskiterpen yapıda bileşikler eser miktarda bulunmuştur. Diğer önemli husus, tespit edilen toplam 81 bileşik bu türün uçucu bileşiminin oldukça zengin olduğunu ortaya koymaktadır.

5.2 Sabit Yağ Bileşen Profili

Bu araştırma kapsamında *O. argyroleuca* tohum ve herba kısımlarının sabit yağı profili ilk kez araştırılmıştır. Genel olarak tohum sabit yağının kompozisyonunda 11 yağ asidi tespit edilmiş olup yağ asitlerinin %99,9'u aydınlatılmıştır. Sabit yağ kompozisyonunda doymuş yağ asitleri yüksek miktarda (%82,0) tespit edilmiştir. Başlıca palmitik (%40,1), stearik (%34,9) ve nonadekanoik (%6,6) asitleri ana bileşikler olarak tespit edilmiştir. Doymamış yağ asitlerinden ise linoleik (%7,6), linolenik (%6,9) ve oleik (%2,5) asitleri saptanmıştır. Herba sabit yağ bileşiminde benzer profil kaydedilmiştir. Başlıca palmitik (%24,7), nonadekanoik (%22,3), stearik (%13,2), dokosanoik (%5,7), tetrakosanoik (%5,5), eikosanoik (%3,3) ve heksakosanoik (%2,2) asitleri ana bileşikler olarak tespit edilmiştir. Doymamış yağ asitlerinden ise linolenik (%18,5), linoleik (%2,6) ve oleik (%1,3) asitleri saptanmıştır.

Kaynak taraması sonucunda *Oxytropis* türlerine ilişkin kısıtlı sayıda sabit yağ asitlerin kompozisyonu araştırma sonuçlarına rastlanmıştır. Tykheev ve ark. tarafından *O. caespitosa* (Pall) Pers., *O. lanata* (Pall) DC., *O. myriophylla* (Pall) DC. ve *O. squammulosa* DC. toprak üstü ve kök kısımlarının lipofilik bileşimi rapor edilmiştir (Salarbashi vd., 2014). Toplam doymuş yağ asitleri içeriği, incelenen örneklerde %39,7 (*O. caespitosa* herba) ile %56,9 (*O. myriophylla* kök) arasında değişiklik göstermiştir. Tüm örneklerdeki doymuş yağ asitleri bileşimi, başlıca şu yağ asitleri tarafından domine edilmiştir: palmitik asit (16:0; %6,3–19,1), stearik asit (18:0; %1,3–5,5), dokosanoik asit (22:0; %2,5–15,2) ve tetrakosanoik asit (24:0; %1,9–23,4). Toplam doymamış yağ asitleri içeriği ise %31,4 (*O. myriophylla* kök) ile %55,9 (*O. caespitosa* herba) arasında bulunmuştur. Doymamış yağ asitleri bileşiminde baskın olarak yer alan bileşikler ise linoleik asit (18:2(9,1); %9,42–21,1) ve oleik asit (*cis*-18:1(9); %12,2–36,3) olmuştur.

Abaturov ve ark. tarafından *O. baicalia* (Pall) Pers., *O. bargusinensis* Peschkova, *O. muricata* (Pall) DC., *O. sylvatica* (Pall) DC., ve *O. tompudae* DC. türlerinin herba sabit yağ asitleri kompozisyonu rapor edilmiştir. Toplam doymuş yağ asitleri içeriği, %36,4 (*O. muricata* herba) ile %61,9 (*O. bargusinensis* herba) arasında değişim göstermiştir. Doymuş asitleri fraksiyonunda en baskın bileşikler sırasıyla palmitik (16:0; %8,53–21,47), stearik (18:0; %2,98–7,02) ve tetrakosanoik (24:0; %0,92–22,11) asitlerinolarak tespit edilmiştir. Toplam doymamış yağ asitleri içeriği ise %38,1 (*O. bargusinensis* herba) ile %63,6 (*O. muricata* herba) arasında değişmiştir. Bu grubun bileşiminde en fazla bulunan yağ asitleri ise linoleik (18:2(9,1); %7,3–21,6) ve oleik (*cis*-18:1(9); %14,6–42,6) olmuştur (Abaturov vd., 2025). *O. pseudoglandulosa* lipidleri incelemesi kapsamında, (*E*)-prop-2-enoik asit, 3-fenil- (%18,6) miristik asit (%4,0), palmitik (%6,8), araşidik (%2,0), behenik (%2,5), oleik (%1,3), benzenepropanoik (%10,0) asitleri rapor edilmiştir (Narangerel vd., 2021).

Genel olarak, *Oxytropis* türleri üzerinde yapılmış sabit yağ asitleri araştırmaları neticesinde, çoğunlukla doymuş yağ asitler açısından zengin olduğu ortaya çıkmaktadır.

5.3 Lipofilik Vitaminler Profili

Tez kapsamında *O. argyroleuca* türünün tohumlarını yağda çözünen vitaminler profili ilk kez araştırılmıştır. Standart vitaminler ve *O. argyroleuca* tohum ekstresinin kromatogramları araştırılarak incelendiğinde *O. argyroleuca* tohumlarında vitamin E bulunduğu ortaya konmuştur. UltraPerdormans Birleşim Kromatografisi tekniği ile yapılan analiz sonucunda tohumlarda vitamin E (2.0 mg vit/100mg_{extr}) tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar, vitamin E bileşenlerinin *O. argyroleuca* tohumlarında başlıca vitamin olduğunu göstermektedir. Kaynak taramasında, *Oxytropis* türlerine ait vitamin içeriği çok kısıtlı bir şekilde araştırıldığı görülmüştür.

O. caespitosa (Pall.) Pers., *O. lanata* (Pall.) DC., *O. myriophylla* (Pall.) DC., ve *O. squammulosa* DC. türlerinin topraküstü lipofilik fraksiyonu GK-KS analizi sonucunda α - tokoferol oranları sırasıyla % 0,48; % 0,22; % 0,65; % 0,46; % 1,19; % 0,43; % 0,90 ve % 0,11 olarak rapor edilmiştir (Tykheev vd., 2022). Suda çözünen vitaminlerden sadece vitamin C *O. glabra* Lam. DC türü için rapor edilmiştir (Sh & Ustenova, 2016).

Oxytropis cinsi türlerinin daha önce *Astragalus* cinsi içerisinde yer aldığını dikkate alarak, kaynak taraması kapsamına *Astragalus* türleri de dahil edilmiştir. Örneğin, Bahşi

M. ve ark. (Bahşi vd., 2019) tarafından yapılan araştırmada *Astragalus anthlloides* ($208,95 \pm 4,09 \mu\text{g/g}$) ve *A. hirsutus* ($200,9 \pm 2,8 \mu\text{g/g}$)’un yüksek γ -tokoferol içeriğine sahip olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca, vitamin D3 içerikleri *A. odaratus* ve *A. anthlloides* türlerinde $2,94 \pm 0,18 \mu\text{g/g}$ ve $12,53 \pm 0,49 \mu\text{g/g}$ arasında bulunmuştur. Bununla birlikte, *A. campylorhynchus* ve *A. cephalotes* var. *cephalotes* türlerinin α -tokoferol içerikleri sırasıyla $3,99 \pm 0,14 \mu\text{g/g}$ ile $11,9 \pm 0,66 \mu\text{g/g}$ arasında saptanmıştır. Öte yandan, sadece *A. hirsutus* için β -karoten ($3,55 \pm 0,43 \mu\text{g/g}$) miktarı saptanmıştır. Ayrıca, eser miktarlarda α -tokoferol asetat, vitamin D2, vitamin K1, retinol ve retinol asetat içerdikleri rapor edilmiştir. Analizler YBSK yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

5.4 Polar ve Apolar Ekstrelerin Silil Türevleri

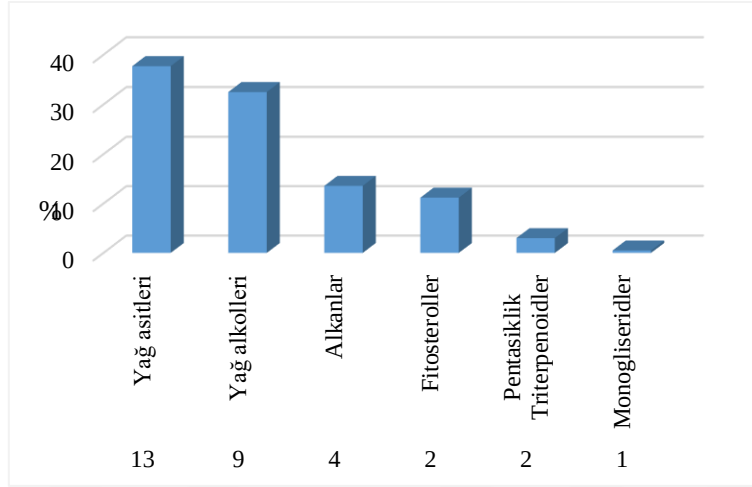
O. argyroleuca toprak üstü ve kök kısımlarında ayrı ayrı hazırlanan polar ve apolar karakterli ekstrelerin içerik bilgileri silil türevleri üzerinden araştırılmıştır.

Herba apolar ekstrenin %98,5 ‘ini oluşturan toplam 31 bileşik tanımlanmıştır. Ekstre içinde yağ asitleri (13 bileşik) çoğunluğu oluşturmıştır (%37,7). Triakontanoik asit (%9,0), oktakosanoik asit (%6,4), tetrakosanoik asit (%4,3) başlıca tanımlanan yağ asitleri. Bu grubu takip eden yağ alkoller (9 bileşik) ekstrenin %32,5 kısmını oluşturmıştır. Heksakosanol (%20,8), terakosan-1-ol (%3,9), triakontanol (%3,8) major yağ alkoller olarak bulunmuştur. Alkanlar (%13,2) grubundan nonakosan (%8,9) ve hentriakontan (%3,9) tespit edilmiştir. Fitosteroller (%11,2) sadece iki bileşik ile, b-sitosterol (%9,8) ve stigmasterol (%1,4) ile temsil edilmiştir. En az oranda bulunan ise pentasiklik triterpenoitler saptanmıştır (%3,0) (Şekil 5.3).

Herba polar ekstrenin %93,6‘ını oluşturan toplam 14 bileşik tanımlanmıştır. Ekstrede yüksek oranda karbonhidratlar saptanmıştır. Ekstrenin yarısından fazlasını şeker alkolü, pinitol (%54,2) oluşturmıştır. Diğer önemli karbonhidratlar olarak, sukroz (%17,3), β -glukopiranoz (%7,1) ve α -glukopiranoz (%5,1) bulunmuştur.

Şekil 5.3

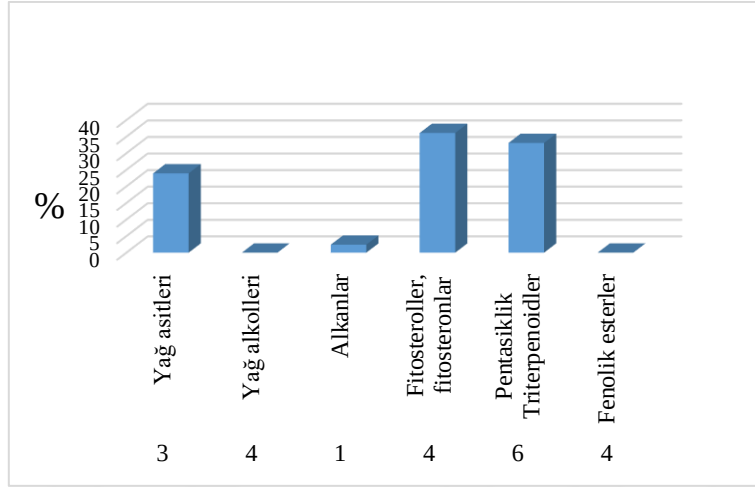
O. argyroleuca Herba Ham Apolar Ekstrede Bileşiklerin Sınıf Dağılımı



Kök apolar ekstreinin %95.5 'ini oluşturan toplam 22 bileşik tanımlanmıştır. Ekstre içinde yüksek oranda fitosteroller ve fitosteronlar bulunmuştur. Başlıca bileşikler olarak, β -sitosterol (%21,3), stigmasterol (%4,6) ve stigmaster-4-en-3-on (%10,2) saptanmıştır. Diğer önemli bileşik grubunu pentasiklik triterpenoitler (%33.1) oluşturmuştur. Bu grubun içinde lup-20(30)-en-3-on (%12,6), lupeol (%3,4), friedelan-3-on (%6,9), oleanolik asit (%10,2) major bileşikler olarak tespit edilmiştir. Diğer önemli bir husus, kök ekstresinde miktarları az olmakla beraber çok sayıda fenolik asitlerin yağ alkolleri ile oluşturduğu esterler bulunmuştur: oktadesil *p*-kumarat, oktadesil ferulat, oktadesil kafeat ve eikosil ferulat (Şekil 5.4).

Şekil 5.4

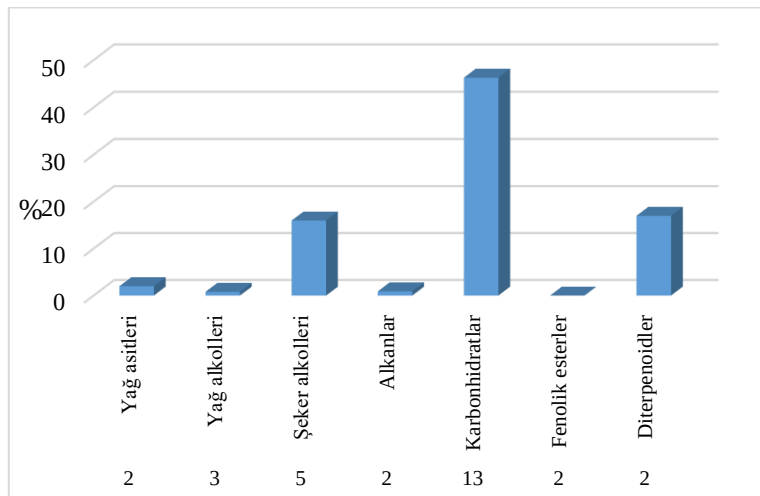
O. argyroleuca Kök Ham Apolar Ekstrede Bileşiklerin Sınıf Dağılımı



Kök polar ekstrelerinin %83.0'unu oluşturan toplam 32 bileşik tanımlanmıştır. Ekstrede yüksek oranda karbonhidratlar (13 bileşik) saptanmıştır (%46,3) (Şekil 5.5). Başlıca, şekerler olarak sukroz (%36,6) ve rafinoz (%4,8) tespit edilmiştir. Diterpenoidler grubundan yüksek oranda (13R)-8,13-epoksi-labd-14-en-2-on (%15,3) saptanmıştır. Şeker alkolleri (5 bileşik) arasında pinitol (%13,1), mannitol (%1,6) öne çıkmıştır. Diğer önemli karbonhidratlar olarak, sukroz (%17,3), β -glukopiranoz (%7,1) ve α -glukopiranoz (%5,1) bulunmuştur.

Şekil 5.5

O. argyroleuca Kök Ham Polar Ekstrede Bileşiklerin Sınıf Dağılımı



O. argyroleuca herba kısmından elde edilen ham polar ekstrenin İTK yöntemi ile ön incelemesinde flavonoit grubu bileşenleri tespit edilmiştir. Araştırmanın bir sonraki basamağında polar ekstrenin fraksiyonlaması yönünde adımlar atılmıştır. Bu doğrultuda, polar ekstreten farklı polariteli çözücüler ile alt fraksiyonlar elde edilerek üzerinde kimyasal incelemeler gerçekleştirilmiştir.

Petrol eterli fraksiyon (OHPE) bileşiminde yağ asitleri, yağ alkolleri, fitosteroller ve az miktarda triterpenoitler bulunmuştur. Başlıca olarak, oleik asit (%13,5), β -sitosterol (%12,3), heksakosan-1-ol (%11,5), heksadekanoik asit (%6,4), tetrakosan-1-ol (%3,2), oleanolik asit (%3,1) tanımlanmıştır.

Kloroformlu fraksiyon bileşiminde (OHKE) fitosteroller, yağ alkolleri ve flavonoit saptanmıştır. Başlıca olarak, β -sitosterol (%21,1), heksakosan-1-ol (%14,7), apigenin (%7,4), tanımlanmıştır. Bununla beraber, pinitol (%4,3), monostearin (%3,1), tetrakosanoik asit (%4,5) ve triakontanoik asit (%4,1) tespit edilmiştir.

Gaz kromatografik analiz sonucuna göre, etil asetatlı fraksiyonun (OHEE) içeriğinin flavonoit tipi bileşikler açısından zengin olduğu görülmektedir. Toplam tespit edilen bileşiklerin %52'sini oluşturan ve kütle spektrum verilerine dayalı olarak bir flavonoit glikozit türevi saptanmıştır. Bunun yanı sıra, OHEE içinde naringenin türevi bileşiği (%10,6), kersetin (%3,2), ve genistein (%1,6) tespit edilmiştir.

Butanollü fraksiyonun (OHBE) gaz kromatografik analizi neticesinde yüksek oranda karbonhidrat tipi bileşikler tespit edilmiştir. Bunların arasında, pinitol (%30,2), glukuronik asit (%12,8), mannonik asit lakton (%12,1), α -fruktofuranoz (%8,7), psikofuranoz (%4,0), β -fruktofuranoz (%3,5) ve α -glukofuranoz (%5,4) yer almaktadır.

Sulu fraksiyonun (OHSE) bileşimi çoğunlukla karbonhidratlardan oluşmuş olup, başlıca pinitol (%50,6), α -fruktofuranoz (%6,1), α -glukopiranoz (%4,4), β -D-glukopiranozit (%8,9), trehaloz (%3,1), ve eritroz (%2,3) bulunmuştur.

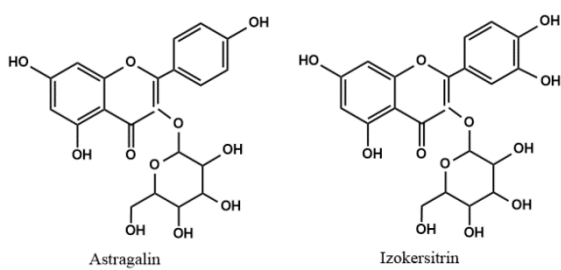
Yukarıda bahsedilen alt fraksiyonların İTK kromatogramında NPR reaktifi uygulaması sonunda UV ışığın altında sadece OHEE içinde sarı, turuncu ve yeşil floresans veren belirgin spotlar görülmüştür. Bu durum OHEE içinde flavonoit tipi bileşiklerin varlığına işaret etmiştir. Ayrıca, OHEE üzerinde yapılan Shibata testi pozitif sonuç vermiştir.

Araştırmanın bir sonraki adımı olarak OHEE bileşimi daha detaylı incelemeye karar verilmiştir. Bu bağlamda, etil asetatlı fraksiyonun HR-YBSK-KS tekniği ile incelemesi gerçekleştirilmiştir.

Flavonoitler açısından OHEE oldukça zengin bir yapı göstermiştir. En dikkat çekici flavonoitler olarak astragalin (44,817 mg/g_{ekstr}), izokersitrin (24,945 mg/g_{ekstr}), kersetin (2,727 mg/g_{ekstr}) ve izoflavonlar; genistin (9,681 mg/g_{ekstr}) ve genistein (3,269 mg/g_{ekstr}) saptanmıştır (Şekil 5.6).

Şekil 5.6

O. argyroleuca Major Flavonoitleri



Astragalin (kaempferol 3-O- β -D-glukopiranozit) bileşiği daha önce *O. lanata* türü için rapor edilmiştir (Iriste & Blinova, 1972). *O. falcata* Bunge türü içinde bu bileşik rapor edilmiştir (Guo vd., 2022).

Kaempferol türevi bileşikler *O. aciphylla* için yakın zamanda rapor edilmiştir (Qian vd., 2024b). *O. pseudoglandulosa* türünde tespit edilen bileşenlerin %80'ini başlıca kaempferol türevleri oluşturmaktadır: kamferol-3-O-robinosil-7-orhamnozid ve kamferol-3-(p-kumaroil)-rutinosil-7-ramnozidin (Narangerel vd., 2022). Wang ve ark. (Wang vd., 2017) *O. chiliophylla* butanollü fraksiyonunda kamferol-3-O-glukozit bileşiğini tanımlamıştır.

Izokersitrin bileşiği daha önce *O. glabra* DC. (Yu vd., 1992; Yu, Li, & Zhu, 1989) ve *O. ochrocephala* Bunge türleri için rapor edilmiştir (Dong-liang vd., 1986). Kaynak taramasında *Oxytropis* türlerinin oldukça zengin flavonoit içeriğine sahip oldukları görülmüştür. Örneğin, *O. microphylla* (Pall.) DC. türü üzerinde yapılan YBSK analiz sonucunda 92 flavonoit yapısında bileşikler tespit tanımlanmıştır (Xia vd., 2022).

Çalışmamızda, *O. argyroleuca* OHEE fraksiyonunda toplam 10 farklı fenolik asit tespit edilmiştir. Öne çıkan fenolik asitler şunlardır: gentisik (6.641 mg/g_{ekstr}), salisilik (5.597 mg/g_{ekstr}) ve protokateşik (4.444 mg/g_{ekstr}). Diğer tespit edilen fenolik asitler daha düşük miktarda bulunmuştur; gallik, ferulik, vanilik ve klorojenik. Kaynak taraması, sadece *O. pseudoglandulosa* türünde protokateşik asidin (26.7 mg/kg_{dry mass}) saptandığı görülmüştür (Narangerel vd., 2022).

5.5 Polisakkarit Bileşen Profili

O. argyroleuca toprak üstü kısmından ekstre edilen polisakkaritler suda çözünen polisakkaritler, pektin bileşeni ve hemiselüloz olarak fraksiyonlamıştır. Her fraksiyonun bileşimi kromatografik (kağıt kromatografisi, gaz kromatografisi) ve spektroskopik (IR) yöntemlerle incelenmiştir. Elde edilen hidrolizatta kağıt kromatografisi ile galaktoz, glikoz, arabinoz, ksiloz ve üronik asitlerin varlığı tespit edilmiştir. Bununla beraber hidrolizatların silil türevleri GK-KS/AİD tekniği ile incelenmiştir.

Suda çözünen polisakkaritler (SÇPS) fraksiyonunda başlıca tespit edilen bileşikler olarak galakturonik asit (%21,7), β -mannopiranoz (%9,4), α -ribofuranoz (%9,1), arabinoz (%5,1), α -galaktopiranoz (%3,6), β -L-ramnopiranoz (%3,3) ve β -D-glukopiranozid (%3,1) tespit edilmiştir.

Pektin fraksiyonunda galakturonik asit (%28,5), α -ribofuranoz (%13,4), β -mannopiranoz (%12,9), arabinoz (%8,1), β -L-ramnopiranoz (%6,3), ve α -galaktopiranoz (%5,8) saptanmıştır.

Hemiselüloz fraksiyonunda (HMS) β -mannopiranoz (%18,5), α -galaktopiranoz (%8,7), α -ribofuranoz (%8,6), β -D-ksilopiranoz (%8,3), galakturonik asit (%7,8), ksiloz (%7,8), β -L-ramnopiranoz (%6,9), ramnoz (%6,4), arabinoz (%5,1), β -D-glukopiranozid (%4,6) tespit edilmiştir.

Gaz kromatografisi yöntemi ile elde edilen sonuçlar kağıt kromatografisi sonuçları ile örtüşmektedir. Her iki yöntemle analiz edilen fraksiyonlarda başlıca aynı bileşikler tanımlanmıştır.

5.6 Polisakkaritlerinin Kızılötesi Spektroskopisi ile Yapısal Analizi

Suda çözünebilir polisakkaritler (SÇPS): *O. argyroleuca* bitkisinden izole edilen suda çözünebilir polisakkaritlerin (SÇPS) yapısal özellikleri Kızılötesi Spektroskopi (IR)

yöntemi ile incelenmiştir. IR analizi, polisakkaritlerin glikozidik bağ tipleri, ester gruplarının varlığı, furanoz ve piranoz halkalarının yapıları hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. IR spektrumunda 3267 cm^{-1} dalga bölgesinde geniş ve yoğun bir absorpsiyon bandı gözlemlenmiş olup, bu bant hidroksil (-OH) gruplarının varlığını doğrulamaktadır. Bununla birlikte, 2900 cm^{-1} civarında zayıf bir absorpsiyon bandı CH-gruplarına karşılık gelmekte olup, bu bandın şiddetinin polisakkaridin metilasyonu sonucunda arttığı gözlenmiştir.

Asidik hidroliz verilerine göre SÇPS fraksiyonu asidik karaktere sahiptir. Bu sonuçlar ile birlikte, SÇPS fraksiyonunun asidik karakteri, 1750 cm^{-1} dalga sayısında gözlemlenen zayıf bir absorpsiyon bandı ile desteklenmiştir. Bu bant, karboksil gruplarının (C=O) karakteristik titreşimlerini göstermektedir. 1412 cm^{-1} 'deki belirgin absorpsiyon bandı ise iyonize karboksil gruplarının varlığına işaret etmektedir. Ayrıca, 1241 cm^{-1} 'deki hafif absorpsiyon bandı, ester gruplarının (R-COOR) titreşimlerine atfedilmiştir.

IR spektrumunda 1379 cm^{-1} 'de yer alan oldukça zayıf bir bant, karboksil gruplarında bulunan esterleşmiş yapıları karakterize etmektedir. Piranoz halkalarının varlığı ise 1048 cm^{-1} ; 1074 cm^{-1} ve 1018 cm^{-1} dalga sayılarında gözlemlenen absorpsiyon bantları ile doğrulanmıştır. Bu bantlar; C-C, C-O, C-OH ve C-O-C bağlarının titreşimlerine karşılık gelmektedir. Düşük frekans bölgesinde, monosakkarit birimleri arasındaki glikozidik bağların tipini belirleyen absorpsiyon bantları tespit edilmiştir. 837 cm^{-1} ve 619 cm^{-1} 'deki bantlar sırasıyla α - ve β -glikozidik bağlara işaret etmektedir. Bu veriler, *O. argyroleuca* bitkisine ait suda çözünabilir polisakkaritlerin hem yapısal çeşitliliğini hem de karmaşık glikozidik bağlantı türlerini ortaya koymuştur.

Pektin bileşikleri: Pektin maddeleri, asidik özellik gösteren polisakkaritler olup, karboksipolisakkaritler arasında yer almaktadır. Nötr polisakkaritlerden farklı olarak, IR spektrumlarında kendilerine özgü karakteristik absorpsiyon bantları içermektedirler.

Pektin maddelerin Kızılötesi spektrumunda, 3300 cm^{-1} civarında geniş ve yoğun bir absorpsiyon bandı gözlemlenmiş olup, bu bant moleküldeki hidroksil (-OH) gruplarına karşılık gelmektedir. 1733 cm^{-1} dalga sayısındaki absorpsiyon bandı ise karboksil grubuna ait karbonil (C=O) titreşimlerini göstermektedir. Ayrıca, 1603 cm^{-1} 'deki yoğun absorpsiyon bandı ile 1420 cm^{-1} 'deki daha zayıf bant, iyonize karboksil gruplarının (COO^-) titreşimlerini yansıtmaktadır. Bu durum pektin maddelerinin tuz formunda bulunmasına işaret etmektedir. Spektrumdaki bu bantların pozisyonları, karboksil

grubundaki hidrojenin yerine geçmiş olan metal iyonlarının doğasına göre değişkenlik gösterebilmektedir.

Yaklaşık 1300 cm^{-1} 'de gözlenen absorpsiyon bandı, polimer molekülündeki CH gruplarının karakteristik titreşimlerine karşılık gelmektedir. Ayrıca, 1143, 1074, 1014 ve 1095 cm^{-1} bölgesindeki emilim bantları, piranoz halkalarının C–C, C–O ve C–O–C fragmanlarının titreşimlerine karşılık gelir.

Pektik polisakkaritlerin temel zinciri $\alpha\text{-1} \rightarrow 4$ glikozidik bağlarla bağlanmış galakturonik asit kalıntılarından oluşmaktadır. Bu yapı 890 ve 830 cm^{-1} 'de gözlenen karakteristik emilim bantları ile doğrulanmıştır. Düşük frekans bölgesinde, nötr monosakkaritler şeklinde yan dalların β -glikozidik bağlarla ana zincire bağlandığını gösteren 779 ve 630 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantları da gözlemlenmiştir.

Hemiselüloz (HMS) fraksiyonuna ait IR spektrumlarında, daha önce tanımlanan karakteristik absorpsiyon bantları farklı yoğunluklarda gözlemlenmiştir. Bu bantlar, HMS'un yapısal bileşenlerine ve fonksiyonel gruplarına ait titreşim modlarını yansıtmaktadır. HMS elde edilmesi sırasında bitkisel materyalin alkali ile muamele edilmesi IR spektrumundaki absorpsiyon bantlarının konumlarını daha zayıf veya daha güçlü alana kaymasını etkilemektedir. Bu kaymalar, kimyasal bağ ortamlarının değişmesine bağlı olarak, fonksiyonel grupların titreşim enerjilerinde farklılıklara yol açmaktadır. Ayrıca, IR spektrumlarında dikkat çeken bir diğer bulgu ise, bileşimde kompleks ester gruplarına işaret eden absorpsiyon bantlarının bulunmamasıdır. Bu durum, hemiselüloz örneğinde esterleşmiş yapılar bulunmadığını veya ekstraksiyon sırasında bu yapıların uzaklaştırıldığını göstermektedir. Bu veriler, hemiselüloz fraksiyonunun fonksiyonel grup içeriği hakkında niteliksel bilgi sağlamanın yanı sıra, ekstraksiyon koşullarının polimer yapısı üzerindeki etkilerini değerlendirmek açısından da önem arz etmektedir.

5.7 Biyolojik Aktivite Değerlendirmeleri

Spektrofotometrik ölçümler sonucunda fraksiyonların arasında en yüksek toplam fenolik bileşen miktarı OHEE'de ($0.75 \pm 0.037\text{ mgGAE/mL}$) saptanmıştır. Onu takip eden OHKE ($0,35 \pm 0,016\text{ mgGAE/mL}$) fraksiyonu olmuştur.

Toplam flavonoit miktar tayini sonuçlarına göre, OHEE fraksiyonunda en yüksek ($0,88 \pm 0,01\text{ mgRE/mL}$) toplam flavonoit içermektedir. Onu takip eden OHBE ve OHKE

için toplam flavonotit miktarları $0,18 \pm 0,01$ mgRE/mL ve $0,15 \pm 0,06$ mgRE/mL, olarak saptanmıştır.

Elde edilen veriler genel olarak ekstrelerin fenolik kaynağı olma potansiyellerini ortaya koymaktadır. Görünüşe göre, *O. argyroleuca* bitkisinin ekstreleri arasında etil asetatlı fraksiyon bir fenolik kaynağı olarak değerlendirilebilir. Elde edilen bu sonuç, fraksiyonların antioksidan aktivite değerlendirmelerinden alınan veriler ile bir arada yorumlanmasında katkı sağlamaktadır.

Serbest radikal süpürme etkisi değerlendirme sonuçlarına göre OHEE ($IC_{50} 0,223 \pm 0,003$ mg/mL) en etkili olarak bulunmuştur. OHKE etkisi için elde edilen değer ($IC_{50} 0,344 \pm 0,029$ mg/mL) onu ikinci sıraya yerleştirmiştir. Diğer test edilen fraksiyonların etkileri düşük olarak değerlendirilmiştir.

Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite değerlendirmesi sonuçlarına göre, en aktif eksteler OHKE ve OHEE olarak tespit edilmiştir: $2,84 \pm 0,073$ mM ve $2,78 \pm 0,095$ mM, sırasıyla. Diğer test edilen fraksiyonların etkileri zayıf olarak değerlendirilmiştir.

Gümüş nanopartikül antioksidan potansiyeli değerlendirmesi sonuçlarına göre, OHEE en yüksek askorbik aside eşdeğer potansiyele sahip olduğu görülmektedir: SNAP değeri AE $0,284 \pm 0,009$ mg/mL olarak tespit edilmiştir. Diğer test edilen fraksiyonların etkileri zayıf olarak değerlendirilmiştir.

Canlı sistemlerde hidroksil radikali ($OH\cdot$), süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), singlet oksijen ($^1O_2$) ve reaktif oksijen türleri (ROS) gibi serbest radikallerin hücrel işlevler üzerinde zararlı etkiler oluşturduğu kaynaklarda bildirilmiştir (Ranneh vd., 2017). Serbest radikallerin aşırı üretimi, vücutta pro-oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengeyi bozarak arteriyel hipertansiyon, romatizma, inflamasyon, diyabet, kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve genetik mutasyonlar gibi çeşitli patolojik durumlara neden olabilir (Singh, Devi, & Gollen, 2015). Bitkisel kaynaklarda bulunan metabolitler doğal, güvenilir ve ucuz bir antioksidan kaynağı olduğunu birçok bilimsel araştırmada vurgulanmıştır (Akbari vd., 2022; Srinivasan, Sudheer, & Menon, 2007). Bitkisel antioksidanlar, serbest radikal temizleyicileri, elektron vericileri ve biyolojik sistemlerde serbest katalitik metaller için şelatlayıcı ajanlar olarak işlev görmektedir (Sarkar vd., 2024). Astragalin için endotoksin kaynaklı oksidatif stresi inhibe edebilme özelliği rapor edilmiştir (Cho vd., 2014). Astragalin, lipopolisakkaritler-Toll benzeri reseptör sinyal ağının modülasyonu yoluyla endotoksin kaynaklı oksidatif strese karşı antagonist bir ajan olarak

da görev yapabilmektedir (Cho vd., 2014). Ayrıca astragalin, sıçanlarda iskemi kaynaklı beyin hasarı modelinde, hipokampus bölgesindeki apoptozisi engelleyerek sinirsel fonksiyonları iyileştirme potansiyeline sahiptir (Yan & Zhou, 2012). Yukarıda bahsedilen bilgiler ışığında, astragalin açısından zengin olan OHEE'nin diğer örneklerden farklı olarak daha etkili antioksidan aktivite gösterdiğinin nedeni açıklanabilir.

O. argyroleuca fraksiyonların antidiabetik potansiyeli *in vitro* deneylerde α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri inhibe etme etkisine göre değerlendirilmiştir. Fraksiyonların arasında OHEE en etkin şekilde α -amilaz enzimini inhibe etmiştir, IC_{50} $0,27 \pm 0,00$ mg/mL olarak saptanmıştır. Onu takip eden OHKE ve OHPE fraksiyonlar için IC_{50} değerleri $0,35 \pm 0,03$ mg/mL ve $0,48 \pm 0,02$ mg/mL, sırasıyla, olarak tespit edilmiştir. Standart inhibitör olan akarboz için elde edilen IC_{50} değeri $0,11 \pm 0,02$ mg/mL. Teste tabi tutulan diğer fraksiyonların etkileri zayıf olarak değerlendirilmiştir.

α -Glukozidaz enzimine karşı test edilen numunelerin arasında OHKE ve OHEE en etkin şekilde α -glukozidaz enzimini inhibe etmiştir. OHKE ve OHEE için elde edilen IC_{50} değerleri $0,66 \pm 0,04$ mg/mL ve $0,68 \pm 0,08$ mg/mL olarak saptanmıştır. Onu takip eden OHPE fraksiyonu için IC_{50} değer $1,21 \pm 0,08$ mg/mL olarak tespit edilmiştir. Akarboz için elde edilen IC_{50} değeri $0,47 \pm 0,01$ mg/mL olarak bulunmuştur.

Tez araştırmaları kapsamında yapılan biyolojik aktivite potansiyeli değerlendirmeleri sonucunda *O. argyroleuca* OHEE fraksiyonun önemli derecede serbest radikal süpürücü, antioksidan, redükleyici potansiyellerine sahip olduğu değerlendirilmiştir. OHEE içeriği başta flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere fenolik bileşikler açısından zengin olduğu saptanmıştır. Flavonoid nüvesi taşıyan bileşiklerin antioksidan potansiyeli bilimsel araştırmalarda daha önce birçok kez rapor edilen önemli bir husustur. Kaynaklarda, *O. falcata* Bunge. türünün antidiabetik potansiyel olarak önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir. Türün içerdiği flavonoidler, diyabetik farelerde leptin ve adiponektin salgılanmasını destekleyebildiği ve diyabetik farelerin lipid metabolizmasını belirli bir ölçüde iyileştirebilir olduğu tespit edilmiştir (Yang vd., 2017). Yürütülen *in vivo* değerlendirmeler sonucunda flavonoid fraksiyonu orta dozda insülin duyarlılığını artırırken, yüksek dozda insülin salgılanmasını destekleyerek adacık β -hücrelerini koruyabildiği ve adacık yetmezliğini geciktirebildiği olduğu görülmüştür (Wang, Yang, & Li, 2016). *O. falcata*'nın etanollü ekstresi diyabetik farelerin miyokardial iskemi hasarına karşı koruyucu bir etkiye sahiptir (Wu, Deng, & Wu, 2017).

Astragalin ile ilgili kaynaklarda potansiyel antidiabetik aday bileşik olma ihtimali üzerinde durulmaktadır (Guo, 2023). Astragalin yüksek miktarda *Astragalus hamosus* bitkisinde bulunmuştur (Krasteva vd., 2007). Biyolojik olarak aktif ve terapötik açıdan etkili bir bileşik olan astragalin, antikanser, antiinflamatuvar, antioksidan, nöroprotektif, antidiyabetik, kardiyoprotektif, antiülser ve antifibrotik gibi çok geniş bir farmakolojik etki yelpazesine sahip olduğu rapor edilmiştir (Riaz vd., 2018). *Eucommia ulmoides* antidiabetik ve antioksidan etkileri astragalin ile ilişkilendirilmiştir (Kim vd., 2004). *Gynura procumbens* bitkisinden, %25 etanol ile ekstre edilen antidiyabetik etkili bileşiklerin metformin benzeri bir mekanizma ile elde edilen antidiyabetik etkinliği göstermiştir. Etkin bileşikler arasında astragalin de sıralanmıştır (Algariri vd., 2013; Kim vd., 2004).

6. SONUÇ

- Araştırmada Eskişehir civarında yetişen *Oxytropis argyroleuca* bitkisi üzerinde biyolojik aktivite ve kimyasal kompozisyon araştırmaları gerçekleştirilmiştir.
- *O. argyroleuca* çiçek uçucu bileşen profili gaz kromatografik teknikleri ile incelenerek ana bileşikler olarak linalol, α -terpineol, borneol, kafur ve (*E*)-geranil aseton bulunmuştur.
- Herba ve tohum sabit yağ profilinde majör bileşikler olarak doymuş asitlerden palmitik, stearik ve nonadekanoik; doymamış yağ asitlerinden ise linoleik, linolenik ve oleik asitleri tespit edilmiştir.
- Tohum içinde lipofilik vitaminlerden vitamin E saptanmıştır.
- Herba apolar ekstresinde başlıca heksakosanol, triakontanoik asit, oktakosanoik asit, nonakosan ve β -sitosterol bulunmuştur. Kök apolar ekstresinde major bileşikler olarak fitosteroller (β -sitosterol, stigmasterol ve stigmasten-4-en-3-on) ve triterpenoitler (lup-20(30)-en-3-on, lupeol, friedelan-3-on ve oleanolik asit) saptanmıştır.
- Herba polar ekstresinde pinitol, sukroz, β -glukopiranoz ve α -glukopiranoz bulunmuştur. Kök polar ekstresinde şekerler (sukroz ve rafinoz) ve diterpenoitler ((13R)-8,13-epoksi-labd-14-en-2-on) tespit edilmiştir.
- Petrol eterli alt fraksiyon bileşiminde oleik asit, heksadekanoik asit, β -sitosterol ve heksakosan-1-ol bulunmuştur.
- Kloroformlu alt fraksiyonda fitosteroller, yağ alkoller ve flavonit saptanmıştır.
- Etilasetatlı alt fraksiyonda başlıca flavonitler olarak astragalin, izokersitrin, kersetin ve izoflavonlar; genistin ve genistein tanımlanmıştır. Fenolik asitlerden gentisik, salisilik ve protokateşik asitleri bulunmuştur.
- Butanollü ve sulu alt fraksiyonlar yoğun miktarda karbonhidrat içermektedir.
- Herba kısmının suda çözünen polisakkaritler, pektin maddesi ve hemiselüloz fraksiyonların bileşimleri aydınlatılmıştır. Hidroliz sonucu galakturonik asit, mannopiranoz, ribofuranoz, mannoz, ksiloz, galaktopiranoz ve arabinoz bulunmuştur.
- Alt fraksiyonların antioksidan potansiyelleri çeşitli oksidasyon modellerinde farklı substratlara karşı değerlendirilmiştir. Flavon ve fenolik içeriği zengin olan etilasetatlı fraksiyonun etkili antioksidan özellikleri tespit edilmiştir.

- Alt fraksiyonların antidiabetik potansiyelleri α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerine karşı test edilmiştir. Etil asetatlı fraksiyonun α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerini inhibe etme potansiyeline sahip olduğu saptanmıştır.
- Tez çalışmalarında *O. argyroleuca* bitkisi üzerinde geniş kapsamlı fitokimyasal kompozisyon araştırmaları gerçekleştirilmiştir. Bitkinin primer ve sekonder metabolitler (polisakkaritler, sabit yağ asitleri, uçucu yağı, vitaminler, flavonoidler, fenolik asitler, fitosteroller, di- ve triterpenoidler) bileşimi, antioksidan, antia- α -amilaz ve anti- α -glukozidaz aktivite değerlendirilmeleri yapılmıştır.



KAYNAKLAR

- Abaturov, A., Tykheev, Z. A., Taraskina, A., Chimitov, D., & Taraskin, V. (2025). Fatty Asit Composition of *Oxytropis baicalia*, *O. bargusinensis*, *O. muricata*, *O. sylvatica*, and *O. tompudae*. *Chemistry of Natural Compounds*, 1-3.
- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., & Rezaie, A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10(6), 141-147.
- Adams, R. (2005). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. *Carol Stream*, 16, 65-120.
- Akbari, B., Baghaei-Yazdi, N., Bahmaie, M., & Mahdavi Abhari, F. (2022). The role of plant-derived natural antioxidants in reduction of oxidative stress. *BioFactors*, 48(3), 611-633.
- Akkuş, I. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, 5. *Sağlık Dizisi*.
- Akyurt, B. (2014). Ülkemizde Tüketilen Bazı Yenilebilir Yaprakların Antioksidan ve Antidiyabetik Aktivitelerinin Belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri*, 64.
- Algariri, K., Meng, K. Y., Atangwho, I. J., Asmawi, M. Z., Sadikun, A., Murugaiyah, V., & Ismail, N. (2013). Hypoglycemic and anti-hyperglycemic study of *Gynura procumbens* leaf extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), 358-366.
- Annakkaya, P. (2012). Turna yemişi (*Vaccinium macrocarpon*) ve mersinin (*Myrtus communis*) liyofilize edilmiş su ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve fenolik içeriklerinin aydınlatılması. *Yüksek lisans, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sayfa*, 119.
- Ariefte, N. R., Narita, K., Murata, T., & Nishikawa, Y. (2024). Evaluation of the antiplasmodial efficacy of synthetic 2, 5-diphenyloxazole analogs of compounds naturally derived from *Oxytropis lanata*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 25, 100540.
- Arman, A. (2017) *Antioksidan maddelerin modifiye elektrot kullanılarak elektrokimyasal tayini*, YL Tez, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Aydın, A., Sayal, A., & Işimer, A. (2001). Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayın Kitabı*.
- Bahşi, M., Kürşat, M., Emre, İ., & Yılmaz, Ö. (2019). The lipide-soluble vitamin contents of some *Astragalus* taxa by using HPLC. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 84-89.
- Banzragchgarav, O., Murata, T., Odontuya, G., Buyankhishig, B., Suganuma, K., Davaasuren, B.-O., Inoue, N., Batkhoo, J., & Sasaki, K. (2016). Trypanocidal activity of 2, 5-diphenyloxazoles isolated from the roots of *Oxytropis lanata*. *Journal of Natural Products*, 79(11), 2933-2940.
- Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., & Salayová, A. (2020). A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, 25(14), 3191.
- Bener, M. (2009). Bitki özütleri ve tekstil boyalarındaki flavonoidler için spektrofotometrik analiz yöntemlerinin geliştirilmesi. *Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul*.
- Bink, A., Pellens, K., Cammue, B., & Thevissen, K. (2011). Anti-biofilm strategies: how to eradicate *Candida* biofilms. *Open Mycol J*, 5(1), 29-38.
- Blinova, K., & Tkhan', B. t. (1976). Oksitroside from *Oxytropis myriophylla*. *Chemistry of Natural Compounds*, 12(1), 89-90.
- Bunge, A. (1874). Species generis *Oxytropis*, DC. *Mémoires de l'Académie Impériale des Sciences de Saint Pétersbourg, Septième Série (Sér. 7)* 22, 1-166.
- Buyankhishig, B., Murata, T., Suganuma, K., Batkhoo, J., & Sasaki, K. (2020). Hyaluronidase inhibitory saponins and a trypanocidal isoflavonoid from the aerial parts of *Oxytropis lanata*. *Fitoterapia*, 145, 104608.
- Carr, A. C., & Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(6), 1086-1107.

- Ceter, T., Erkul, S. K., Aytac, Z., & Baser, B. (2013). Pollen morphology of the genus *Oxytropis* DC. in Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 42(1), 167-174.
- Chen, R., Yang, J., & McCauley, J. (2013). A single-injection UPC2 method for fast and simultaneous separation of nine fat-soluble vitamins. *Waters Application Note* 720004551en.
- Chen, W.-H., Qi, H.-Y., & Shi, Y.-P. (2009). 24-Hidroksioleanane-type triterpenes from the aerial parts and roots of *Oxytropis falcata*. *Journal of Natural Products*, 72(8), 1410-1413.
- Cho, I.-H., Gong, J.-H., Kang, M.-K., Lee, E.-J., Park, J. H. Y., Park, S.-J., & Kang, Y.-H. (2014). Astragalin inhibits airway eotaxin-1 induction and epithelial apoptosis through modulating oxidative stress-responsive MAPK signaling. *BMC Pulmonary Medicine*, 14, 1-11.
- Çakatay, U., & Kayalı, R. (2006). Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. *Cerrahpaşa tıp dergisi*, 37(4), 162-167.
- Çelik, S. A., & Ayran, İ. (2020). Atioksidan kaynağı olarak bazı tıbbi ve aromatik bitkiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 13(2), 115-125.
- Davis, P. H. (1975). The flora of Turkey: past, present and future.
- Dixon, R. A., & Sumner, L. W. (2003). Legume natural products: understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. *Plant physiology*, 131(3), 878-885.
- Dong-liang, C., Rong-qi, S., Xiao-rui, L., Pei-xiu, Z., & Zi-qing, Z. (1986). Studies on the Chemical Components of *Oxytropis ochrocephala* Bunge. *Journal of Integrative Plant Biology*, 28(4).
- Dong, W., Wei, T., Guang-Ming, Y., & Bao-Chang, C. (2010). Anti-inflammatory, antioxidant and cytotoxic activities of flavonoits from *Oxytropis falcata* Bunge. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 8(6), 461-465.
- Elisens, W., & Denford, K. (1982). Flavonoit studies in four species of the *Oxytropis campestris* complex (Fabaceae–Galegeae). *Canadian Journal of Botany*, 60(8), 1431-1436.
- Erkul, S., Celep, F., & Aytac, Z. (2015). Seed morphology and its systematic implications for genus *Oxytropis* DC.(Fabaceae). *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 149(5), 875-883.
- Erkul, S. K., & Aytac, Z. (2013). The revision of the genus *Oxytropis* (Leguminosae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 37(1), 24-38.
- Erkulov, Z., Malikova, M. K., & Rakhmanberdyeva, R. (2011). Carbohydrates from the aerial part of *Ferula kuhistanica* and *F. tenuisecta*. *Chemistry of Natural Compounds*, 47, 182-184.
- Eshbekov, A., Rakhmanberdyeva, R., & Malikova, M. K. (2019). Pectinic Substances from *Phaseolus vulgaris* Shells. *Chemistry of Natural Compounds*, 55, 239-241.
- Etxeberria, U., de la Garza, A. L., Campión, J., Martínez, J. A., & Milagro, F. I. (2012). Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 16(3), 269-297.
- Evelson, P., Travacio, M., Repetto, M., Escobar, J., Llesuy, S., & Lissi, E. A. (2001). Evaluation of total reactive antioxidant potential (TRAP) of tissue homogenates and their cytosols. *Archives of biochemistry and biophysics*, 388(2), 261-266.
- Fu, K., Schardl, C. L., Cook, D., Cao, X., Ling, N., He, C., Wu, D., Xue, L., Li, Y., & Shi, Z. (2024). Multiomics Reveals Mechanisms of *Alternaria oxytropis* Inhibiting Pathogenic Fungi in *Oxytropis ochrocephala*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(4), 2397-2409.
- Gardner, D. R., Molyneux, R. J., & Ralphs, M. H. (2001). Analysis of swainsonine: extraction methods, detection, and measurement in populations of locoweeds (*Oxytropis* spp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4573-4580.
- Gomes, G., Silva, G., Silva, D., Oliveira, R., & Conceição, G. (2018). Botanical composition of Fabaceae family in the Brazilian Northeast, Maranhão, Brazil. *Asian Journal of Environment & Ecology*, 6(4), 1-10.

- Guang-Ming, Y., Dong, W., Wei, T., Xing, C., Lin-Qian, F., Zhag, F.-F., Huan, Y., & Bao-Chang, C. (2010). Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Oxytropis falcata* fractions and its possible anti-inflammatory mechanism. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 8(4), 285-292.
- Guang-Ming, Y., Ru, Y., Zhao-Xian, W., Zhang, F.-F., Yang, P., & Bao-Chang, C. (2013). Antitumor effects of two extracts from *Oxytropis falcata* on hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 11(5), 519-524.
- Guo, M. (2023). Exploring potential antidiabetic and anti-inflammatory flavonoits. *Herbal medicine for the treatment of chronic metabolic diseases*, 96.
- Guo, Y., Zhang, B.-Y., Peng, Y.-F., Chang, L. C., Li, Z.-Q., Zhang, X.-X., & Zhang, D.-J. (2022). Mechanism of action of flavonoits of *oxytropis falcata* on the alleviation of myocardial ischemia–reperfusion injury. *Molecules*, 27(5), 1706.
- Gutteridge, J. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, 41(12), 1819-1828.
- Gürkan, A. S., & Bozdağ-Dündar, O. (2005). Coenzyme Q10. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*, 34(2), 129-154.
- Halilu, E. M. (2024). Characterization of crude saponins from stem bark extract of *Parinari curatellifolia* and evaluation of its antioxidant and antibacterial activities. *Physical Sciences Reviews*, 9(5), 2077-2095. <https://doi.org/doi:10.1515/psr-2022-0271>
- Halliwell, B. (1984). Oksigen radicals: a commonsense look at their nature and medical importance. *Medical Biology*, 62, 71-77.
- Halliwell, B., & Aruoma, O. I. (1991). DNA damage by oksigen-derived species Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS letters*, 281(1-2), 9-19.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M., & Cross, C. E. (1992). Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *Journal Laboratory Clinical Medicine*, 119(6), 598-620.
- Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., & Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International journal of molecular sciences*, 11(4), 1365-1402.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoit antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.
- Hino, M., Nakayama, O., Tsurumi, Y., Adachi, K., Shibata, T., Terano, H., Kohsaka, M., Aoki, H., & Imanaka, H. (1985). Studies of an immunomodulator, swainsonine I. Enhancement of immune response by swainsonine in vitro. *The journal of Antibiotics*, 38(7), 926-935.
- Hu, X., Neill, S. J., Cai, W., & Tang, Z. (2003). Nitric oxide mediates elicitor-induced saponin synthesis in cell cultures of *Panax ginseng*. *Functional Plant Biology*, 30(8), 901-907.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Hüsni, K., & Temel, Ö. (2012). Chapter 26 - Gas chromatographic analysis of essential oils. In F. P. Colin (Ed.), *Gas Chromatography (Second Edition)* (Second Edition ed., pp. 675-682). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820675-1.00040-X>
- Iriste, V., & Blinova, K. (1972). Astragalin from *Oxytropis lanata*. *Chemistry of Natural Compounds*, 8(5), 619-619.
- Jia, X., Liu, Y., Wang, S., Ma, J., Yu, J., Yue, X., Zhang, Y., & Wang, X. (2022). Screening of metabolic markers present in *Oxytropis* by UHPLC-Q-TOF/MS and preliminary pharmacophylogenetic investigation. *Frontiers in Plant Science*, 13, 958460.
- Jiang, H., Hu, J., & Liu, X. (2006). The research progress of *Oxytropis falcata*, *Chinese Traditioanl Herbal Drugs*, 27, 314-315.
- Jiang, H., Hu, J., Zhan, W., & Liu, X. (2009). Screening for fractions of *Oxytropis falcata* Bunge with antibacterial activity. *Natural Product Research*, 23(10), 953-959.
- Jiang, H., Zhan, W. Q., Liu, X., & Jiang, S. X. (2009). Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil from *Oxytropis falcate* Bunge. *Journal of Essential Oil Research*, 21(4), 300-302.

- Jiang, H., Zhan, W.Q., Liu, X., & Jiang S. X. (2008). Antioxidant activities of extracts and flavonoid compounds from *Oxytropis falcate* Bunge. *Natural Product Research*, 22(18), 1650-1656.
- Joulain, D., König, W. A., & Hochmuth, D. H. (2001). Terpenoids and related constituents of essential oils. *Acta Pharmaceutica*, 57, 90-123.
- Karabaş, T. (2016). Bazı Brassicaceae sebzelerinin sindirim enzimleri üzerinde In Vitro inhibitör etkilerinin araştırılması. YL Tez, 93 s., Trakya Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü.
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- Karaman, S. Türkiye'nin *Oxytropis* DC.(Leguminosae) cinsinin revizyonu. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, 1-161.
- Kasapçopur Özel, G. S., & Birdane, Y. O. (2014). Antioksidanlar. *Kocatepe Veterinary Journal*, 7(2), 41-52.
- Kedare, S. B., & Singh, R. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48, 412-422.
- Kim, H. Y., Moon, B. H., Lee, H. J., & Choi, D. H. (2004). Flavonol glycosides from the leaves of *Eucommia ulmoides* O. with glycation inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(2-3), 227-230.
- Koşar, M., Göger, F., & Can Başer, K. H. (2008). In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia virgata* Jacq. from Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), 2369-2374.
- Krasteva, I., Platikanov, S., Nikolov, S., & Kaloga, M. (2007). Flavonoids from *Astragalus hamosus*. *Natural Product Research*, 21(5), 392-395.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, 89(3), 217-233.
- Kumar, A. N., Aruna, P., Naidu, J. N., Kumar, R., & Srivastava, A. K. (2015). Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant. *Arşiv kaynak tarama dergisi*, 24(1), 19-40.
- Kwon, Y.-I., Apostolidis, E., & Shetty, K. (2008). In vitro studies of eggplant (*Solanum melongena*) phenolics as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension. *Bioresource technology*, 99(8), 2981-2988.
- Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B., & Lock, M. (2005). Legumes of the world. Royal botanic gardens. Kew, Surrey, UK.
- Li, M. X., Lan, Z. H., Wei, L. L., Zhang, W. J., Zhang, R. X., & Jia, Z. P. (2012). Phytochemical and biological studies of plants from the genus *Oxytropis*. *Records of Natural Products*, 6(1), 1.
- Liu, L.-N., Ran, J.-Q., Li, L.-J., Zhao, Y., Goto, M., Morris-Natschke, S. L., Lee, K.-H., Zhao, B.-Y., & Tan, C.-J. (2016). Ochrocephalamine A, a new quinolizidine alkaloid from *Oxytropis ochrocephala* Bunge. *Tetrahedron letters*, 57(46), 5047-5049.
- Lou, C., Wang, M., Yang, G., Cai, H., Li, Y., Zhao, F., Yang, H., Tong, L., & Cai, B. (2009). Preliminary studies on anti-tumor activity of 2', 4'-dihydroxychalcone isolated from *Herba Oxytropis* in human gastric cancer MGC-803 cells. *Toxicology in Vitro*, 23(5), 906-910.
- Lu, J.-h., Liu, Y., Tu, G.-z., & Zhao, Y.-y. (2002). Phenolic glucosides from *Oxytropis myriophylla*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 4(1), 43-46.
- Lu, J.-h., Liu, Y., Zhao, Y.-y., & Tu, G.-z. (2004). New flavonoids from *Oxytropis myriophylla*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 52(2), 276-278.
- Mai, T. T., Thu, N. N., Tien, P. G., & Van Chuyen, N. (2007). Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 53(3), 267-276.
- Malyshev, L. (2008). Phenetics of the subgenera and sections in the genus *Oxytropis* DC.(Fabaceae) bearing on ecology and phylogeny. *Contemporary Problems of Ecology*, 1(4), 440-444.

- Maroyi, A. (2023). Medicinal uses of the Fabaceae family in Zimbabwe: A review. *Plants*, 12(6), 1255.
- Martin, E., Karaman Erkul, S., & Aytaç, Z. (2015). Karyological studies on *Oxytropis* (Fabaceae) from Turkey. *Caryologia*, 68(4), 357-362.
- Mat, D. A., & Eroğlu, E. (2007) *Hypericum pamphylicum* Robson et Davis türünün hiperisin miktarı ve biyolojik aktivite yönünden incelenmesi, 17. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Aydın, Türkiye, 1-04 Ekim, ss. 27.
- Mayur, B., Sandesh, S., Shruti, S., & Sung-Yum, S. (2010). Antioxidant and α -glukosidase inhibitory properties of *Carpesium abrotanoides* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(15), 1547-1553.
- Mehtab, R., Ibrahim, M., Naz, A., Faiyaz, A., Faheem, A., Rasheed, M., & Saify, Z. S. (2018). Immunomodulatory activity and chemical characterization of fixed oils obtained from different parts of *Oxytropis glabra* DC. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31(3).
- Meng, X., Hu, X., & Zhang, R. (1994). Study on the toxic alkaloids of *Oxytropis ochrocephala* Bunge. *Journal Ningxia University (Natural Science Edition)*, 15, 67-70.
- Mestechkina, N., Lobanova, I., Anulov, O., & Shcherbukhin, V. (2001). Galaktomannan from ambiguous crazyweed (*Oxytropis ambigua* (Pall.) DC). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 37, 388-391.
- Miladinović, D., Miladinović, L., & Najman, S. (2011). A study of the antioxidants in *Oxytropis pilosa* (L.) DC. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 76(4), 505-512.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P., & Van Beek, T. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.
- Moghimipour, E., & Handali, S. (2015). Saponin: Properties, methods of evaluation and applications. *Annual Research & Review Biology*, 5(3), 207-220.
- Möller, R., Nürnberg, G., Albrecht, E., Ruth, W., Brockmann, G. A., & Dannenberger, D. (2019). A method for analyzing fatty acids in cattle hair, with special emphasis on lauric acid and myristic acid. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(11), 1900143.
- Murata, T., & Batkhuu, J. (2021). Biological activity evaluations of chemical constituents derived from Mongolian medicinal forage plants and their applications in combating infectious diseases and addressing health problems in humans and livestock. *Journal of natural medicines*, 75, 729-740.
- Narangerel, T., Bonikowski, R., Jastrzębek, K., Kunicka-Styczyńska, A., Plucińska, A., Śmigielski, K., Majak, I., Bartos, A., & Leszczyńska, J. (2021). Chemical and biological characteristics of *Oxytropis pseudoglandulosa* plant of Mongolian origin. *Molecules*, 26(24), 7573.
- Narangerel, T., Zakłos-Szyda, M., Sójka, M., Majak, I., Koziołkiewicz, M., & Leszczyńska, J. (2022). Chemical Components of *Oxytropis pseudoglandulosa* Induce Apoptotic-Type Cell Death of Caco-2 Cells. *Molecules*, 27(14), 4609.
- Okumuş, E., & Temiz, M. A. (2022). Saponin Bileşeninin Biyolojik Aktiviteleri, Kullanım Alanları ve Etkileri. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 15(2), 164-173.
- Olennikov, D., & Rokhin, A. (2010). Galaktomannan of the locoweed (*Oxytropis lanata* (Pallas) DC) seeds. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46, 444-448.
- Osaloo, S. K., Maassoumi, A., & Murakami, N. (2003). Molecular systematics of the genus *Astragalus* L.(Fabaceae): Phylogenetic analyses of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers and chloroplast gene *ndh F* sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 242, 1-32.
- Özek, G., Shukurlu, E. N., Özek, T., Bertolini, C., Iriti, M., Pezzani, R., & Vitalini, S. (2025). A comparative MSD-SPME-GC/MS analysis of two *Artemisia* species from the Rhaetian alps (Italy). *Natural Product Research*, 1-5.
- Özyürek, M., Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., & Apak, R. a. (2012). Development of a silver nanoparticle-based method for the antioxidant capacity measurement of polyphenols. *Analytical chemistry*, 84(18), 8052-8059.

- Pelit, T., & Celep, F. (2016). *Türkiye'de yetişen Oxytropis DC.(Fabaceae) cinsinin, altcins Oxytropis ve Euoxytropis boiss. türlerinin gövde ve yaprak anatomik özelliklerinin incelenmesi ve bunların taksonomik önemi* Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi].
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
- Qi, N., Gong, X., Feng, C., Wang, X., Xu, Y., & Lin, L. (2016). Simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in *Moringa oleifera* Lam. leaves by ultra performance convergence chromatography. *Food chemistry*, 207, 157-161.
- Qian, H., Liu, J., Meng, X., & Wang, X. (2024a). Phytochemical and Anti-inflammatory Activities of *Oxytropis aciphylla*. *Pharmacognosy Magazine*, 09731296241240236.
- Qian, H., Liu, J., Meng, X., & Wang, X. (2024b). Phytochemical and Anti-inflammatory Activities of *Oxytropis aciphylla*. *Pharmacognosy Magazine*, 20(3), 945-955.
- Ranneh, Y., Ali, F., Akim, A. M., Hamid, H. A., Khazaai, H., & Fadel, A. (2017). Crosstalk between reactive oxygen species and pro-inflammatory markers in developing various chronic diseases: a review. *Applied Biological Chemistry*, 60, 327-338.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Ren, X., Wang, L., & Chen, W. (2020). *Oxytropis glabra* DC. Inhibits biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* by down-regulating *ica* operon expression. *Current Microbiology*, 77, 1167-1173.
- Ren, Z., Song, R., Wang, S., Quan, H., Yang, L., Sun, L., Zhao, B., & Lu, H. (2017). The biosynthesis pathway of swainsonine, a new anticancer drug from three endophytic fungi. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(11), 1897-1906.
- Riaz, A., Rasul, A., Hussain, G., Zahoor, M. K., Jabeen, F., Subhani, Z., Younis, T., Ali, M., Sarfraz, I., & Selamoglu, Z. (2018). Astragalin: a bioactive phytochemical with potential therapeutic activities. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2018(1), 9794625.
- Reiter, R.J., Acuna-Castroviejo, D., Tan, D.X., Burkhardt, S. (2006). Free radical-mediated molecular damage. *Annals New York Academy Sciences*, 939(1), 200-215.
- Rong-Qi, S., Zhong-Jian, J., & Dong-Liang, C. (1991). Three saponins from *Oxytropis* species. *Phytochemistry*, 30(8), 2707-2709.
- Salarbashi, D., Asili, J., Mohtashami, S., & Farshchi, H. K. (2014). Composition of essential oil of *Oxytropis kuchanensis* from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*, 50, 153-154.
- Sarkar, B., Rana, N., Singh, C., & Singh, A. (2024). Medicinal herbal remedies in neurodegenerative diseases: an update on antioxidant potential. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 397(8), 5483-5511.
- Schepetkin, I. A., Özek, G., Özek, T., Kirpotina, L. N., Kokorina, P. I., Khlebnikov, A. I., & Quinn, M. T. (2022). Neutrophil Immunomodulatory activity of nerolidol, a major component of essential oils from *Populus balsamifera* Buds and propolis. *Plants*, 11(23), 3399. <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/23/3399>
- Sezgin, A. C., & Artik, N. (2010). Determination of saponin content in Turkish tahini halvah by using HPLC. *Adv J Food Sci Technol*, 2(2), 109-115.
- Sh, A. A., & Ustenova, G. (2016). Medicinal plants *Oxytropis glabra* Lam. DC. *World science*, 3(6 (10)), 58-59.
- She, G., Sun, F., & Liu, B. (2012). A new lignan from *Oxytropis myriophylla*. *Natural Product Research*, 26(14), 1285-1290.
- Shengwei, Y., Jiajun, H., Zilong, H., Long, Z., Nan, H., & Xiangrong, T. (2022). Studies on the antimicrobial constituents from the roots of *Oxytropis hirta* Bunge. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 24(2), 289-297.
- Siddikova, A., Makhmudova, M., Malikova, M. K., Elova, N., Abdurakhmanov, B., Bobaev, I., & Abdullaev, N. (2024). Water-Soluble Polysaccharides from *Datura stramonium* Leaves and Their Prebiotic Activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 60(1), 1-4.

- Singh, R., Devi, S., & Gollen, R. (2015). Role of free radical in atherosclerosis, diabetes and dyslipidaemia: larger-than-life. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 31(2), 113-126.
- Song, R., Wang, J., Sun, L., Zhang, Y., Ren, Z., Zhao, B., & Lu, H. (2019). The study of metabolites from fermentation culture of *Alternaria oxytropis*. *BMC Microbiology*, 19, 1-8.
- Sprent, J., Ardley, J., & James, E. (2013). From North to South: a latitudinal look at legume nodulation processes. *South African Journal of Botany*, 89, 31-41.
- Srinivasan, M., Sudheer, A. R., & Menon, V. P. (2007). Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 40(2), 92-100.
- Sulaymonov, S. A., Komilov, B., Eshbakova, K., Mamajanov, G., & Abdullayev, S. V. (2023). Flavonoids and Sterols from *Oxytropis rosea*. *Chemistry of Natural Compounds*, 59(5), 937-938.
- Tan, C.-j., Zhao, Y., Goto, M., Hsieh, K.-Y., Yang, X.-m., Morris-Natschke, S. L., Liu, L.-n., Zhao, B.-y., & Lee, K.-H. (2016). Alkaloids from *Oxytropis ochrocephala* and antiproliferative activity of sophoridine derivatives against cancer cell lines. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 26(5), 1495-1497.
- Tan, C. J., Yi, P., Goto, M., Morris-Natschke, S. L., Liu, L. N., Lee, K. H., & Zhao, B. Y. (2016). (+)-(14 β)-14-Etilmatridin-15-one, a New Quinolizidine Alkaloid from the Poisonous Plant *Oxytropis ochrocephala* Bunge. *Helvetica Chimica Acta*, 99(3), 225-227.
- Tan, X. M., Li, Q., Wang, Y. D., Wang, T. L., Yang, J., Sun, B. D., Guo, L. P., & Ding, G. (2022). UPLC-Q-TOF-MS/MS analysis of the guaiane sesquiterpenoids oxytropiols A-J and detection of undescribed analogues from the locoweed endophytic fungus *Alternaria oxytropis* (Pleosporaceae). *Phytochemical Analysis*, 33(3), 344-354.
- Tan, Y., Wang, J., & Li, Q. (2002). Identification of toxic alkaloids from *Oxytropis glacialis* in Ali, Tibet. *Chinese Journal Veterinary Sciences*, 6, 595-596.
- Tekpinar, A., Erkul, S. K., Aytac, Z., & Kaya, Z. (2016). Phylogenetic relationships among native *Oxytropis* species in Turkey using the trnL intron, trnL-F IGS, and trnV intron cpDNA regions. *Turkish Journal of Botany*, 40(5), 472-479.
- Townsend, D. M., Tew, K. D., & Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 57(3-4), 145-155.
- Tykheev, Z. A., Nikolaev, Y. N., Taraskin, V., Chimitov, D., & Polonova, A. (2022). Compositions of Fatty Acids and Several Lipophilic Constituents of *Oxytropis caespitosa*, *O. lanata*, *O. myriophylla*, and *O. squammulosa*. *Chemistry of Natural Compounds*, 58(1), 100-102.
- Valko, M., Leibfriz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Vi, S. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Wang, B., Tian, Z., Lang, S., Kong, Q., Liu, X., Chen, Y., Hua, M., Zhou, Q., Yu, X., & Feng, H. (2024). The genus *Oxytropis* DC: application, phytochemistry, pharmacology, and toxicity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 76(9), 1079-1114.
- Wang, J., Liu, Y., Kelsang, N., Zeng, K., Liang, H., Zhang, Q., & Tu, P. (2017). Rhamnocitrin glycosides from *Oxytropis chiliophylla*. *Phytochemistry Letters*, 19, 50-54.
- Wang, J., Yang, H., Liu, Y., Norbo, K., Zeng, K., Zhao, M., Liang, H., Tu, P., & Zhang, Q. (2018). Azukisapogenol triterpene glycosides from *Oxytropis chiliophylla* royle. *Molecules*, 23(10), 2448.
- Wang, S., Zhang, X., Que, S., Liang, H., Tu, P., & Zhang, Q. (2018). Structurally diverse glycoconjugated volatile compounds from *Oxytropis falcata* Bunge. *Phytochemistry Letters*, 27, 143-147.
- Wang, T., Hou, J., Xiao, W., Zhang, Y., Zhou, L., Yuan, L., Yin, X., Chen, X., & Hu, Y. (2020). Chinese medicinal plants for the potential management of high-altitude pulmonary oedema and pulmonary hypertension. *Pharmaceutical Biology*, 58(1), 815-827.

- Wang, Y., Hu, Y., Wang, J., Liu, Z., Yang, G., & Geng, G. (2011). Ultrasound-assisted solvent extraction of swainsonine from *Oxytropis ochrocephala* Bunge. *Journal Medicinal Plants Research*, 5(6), 890-894.
- Wang, Z., Yang, L., & Li, X. (2016). Effects of total flavonoits from *Oxytropis falcate* Bunge on blood glukose and insulin resistance in type 2 diabetic KKAY mice. *Chinese Journal Experimental Traditional Medicinal Formulae*, 22, 113-117.
- Wu, Y., Deng, W., & Wu, S. (2017). Protective effect and mechanism of *Oxytropis falcate* Bunge extract on myocardial ischemia/reperfusion injury in diabetic rats. *Chinese Journal Gerontology*, 37, 1884-1886.
- Xia, M., Yao, M., Li, J., Zhang, J., Yu, Y., Yang, S., Zhong, G., Pei, N., Ouyang, H., & Feng, Y. (2022). Characterization of Chemical Constituents of *Oxytropis microphylla* (Pall.) DC. by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Coupled with Quadrupole-Time-of Flight Tandem Mass Spectrometry. *Separations*, 9(10), 297.
- Yan, L., & Zhou, Q.-H. (2012). Study on neuroprotective effects of astragalin in rats with ischemic brain injury and its mechanisms. *Zhongguo Ying Yong Sheng li xue za zhi. Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi. Chinese Journal of Applied Physiology*, 28(4), 373-377.
- Yang, L., Wang, Z., Jiang, L., Sun, W., Fan, Q., & Liu, T. (2017). Total Flavonoits Extracted from *Oxytropis falcata* Bunge Improve Insulin Resistance through Regulation on the IKK β /NF- κ B Inflammatory Pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017(1), 2405124.
- Yang, X.-W., Huang, M.-Z., Jin, Y.-S., Sun, L.-N., Song, Y., & Chen, H.-S. (2012). Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia*, 83(7), 1169-1175.
- Ye, S., Zhao, L., Qi, Y., Yang, H., Hu, Z., Hao, N., Li, Y., & Tian, X. (2023). Identification of azukisapogenol triterpenoid saponins from *Oxytropis hirta* Bunge and their aphicidal activities against pea aphid *Acyrtosiphon pisum* Harris. *Pest Management Science*, 79(1), 55-67.
- Yilmaz, M. A. (2020). Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC–MS/MS method validation. *Industrial Crops and Products*, 149, 112347.
- Yu, R., Li, X., Zhang, H., Wu, L., Zhu, T., Li, W., Liu, L., & Zhang, G. (1992). Study on chemical constituents of *Oxytropis Glabra* DC. *Journal Integrative Plant Biology*, 34, 369-377.
- Yu, R., Li, X., & Zhu, T. (1989). Isolation and identification of flavonols and flavonol glycosides in *Oxytropis Glabra* DC. *China J Chin Mater Med*, 14, 34-36.
- Zhang, D., Lei, J., Hong, E.-K., Lu, D., Yuan, W., Yang, Z., & Ming, C. (2016). Anti-hypoxia effects of the ethanol extract of *Oxytropis ochrocephala*. *Legume Research-An International Journal*, 39(6), 914-920.
- Zhang, Y.-K., Tong, J.-B., Tan, J., Yang, M., Xing, X.-Y., Zeng, Y.-R., Xue, Z., & Tan, C.-J. (2024). Study on the anti-HBV activity of matrine alkaloits from *Oxytropis ochrocephala* by MTT, 3d-QSAR, molecular docking and molecular dynamics simulation. *Journal of Asian Natural Products Research*, 1-18.
- Zhi-yan, W., Hong-ling, S., Qing-yan, M., Hang-hang, Z., Xu, J., & Wen-jie, L. (2017). Acetylcholinesterase Activity and Mechanisms of Different Extracts from *Oxytropis glabra* DC. and *Swainsonia salsula* (Pall.) DC. *Natural Product Research and Development*, 29(10), 1706.
- Филиппов, М. (1988). Инфракрасные спектры пектиновых веществ. *Методы анализа пищевых продуктов/МП Филиппов*, 198-216.
- Филиппова, Г., Андросова, Д., Данилова, Н., Прокопьев, И., & Воронов, И. (2024). Адаптивные изменения жирнокислотного состава *Oxytropis scheludjakovae* и *Oxytropis strobilacea* при температурных условиях вегетационного сезона в Центральной Якутии. *Природные ресурсы Арктики и Субарктики*, 29(2), 277-286.