



## Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/yyufbed>



Araştırma Makalesi

### *Astragalus Gummifer* (Günizer)'in Toprak Üstü Kısımlarının Liyofilize Su Ekstresi Antioksidan Aktivitesi

Hatice KIZILTAŞ\*

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, 65090, Van, Türkiye

Hatice KIZILTAŞ, ORCID No: 0000-0002-0833-3358

\*Sorumlu yazar e-posta: haticekiziltas@yyu.edu.tr

#### Makale Bilgileri

Geliş: 24.04.2022  
Kabul: 20.10.2022  
Online Nisan 2023

DOI:10.53433/yyufbed.1107954

#### Anahtar Kelimeler

Antioksidan aktivite,  
*Astragalus gummifer*,  
İndirgeme gücü,  
Radikal giderme,  
Total fenol,  
Total flavonoid

**Öz:** Araştırmalar, koroner kalp hastalığı ve kanser gibi yaşa bağlı hastalıklar ile meyve ve sebze tüketimi arasında ters bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Bitkilerden elde edilen doğal antioksidanların olası sağlık yararları dikkat çekmekte ve bunlarla ilgili araştırmalar artmaktadır. Fabaceae familyasının en büyük cinsi *Astragalus* L.'dir ve Türkiye florasında 224 endemik türünün varlığı tespit edilmiştir. *Astragalus* türleri Türkiye'nin birçok bölgesinde yetişen ve geleneksel tıpta kullanılan bitkiler olduğu için bu türlerin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi bilimsel açıdan önem taşımaktadır. Bu çalışmada *Astragalus gummifer*'in antioksidan özellikleri araştırıldı. Toprak üstü kısımlarından elde edilen liyofilize su ekstresinin antioksidan kapasitesi ferrik iyonlar ( $Fe^{3+}$ ) indirgeme, KUPRAK, FRAP, DPPH\* ve ABTS<sup>++</sup> giderici antioksidan yöntemleri ile değerlendirildi. *Astragalus gummifer*'in ABTS<sup>++</sup> giderme aktivitesi ölçüldü ve IC<sub>50</sub> değeri 10.04 µg/mL olarak bulundu. Sonuçlar *Astragalus gummifer*'in ABTS<sup>++</sup> giderme aktivitesinin α-tokoferole (8.058 µg/mL) yakın olduğunu gösterdi. Bu araştırma, *Astragalus gummifer*'in konu olacağı daha ileri fitokimyasal araştırmaları için bir temel oluşturmaktadır.

### Antioxidant Activity of Lyophilized Water Extract of Aerial Parts of *Astragalus Gummifer* (Günizer)

#### Article Info

Received: 24.04.2022  
Accepted: 20.10.2022  
Online April 2023

DOI:10.53433/yyufbed.1107954

#### Keywords

Antioxidant activity,  
*Astragalus gummifer*,  
Radical scavenging,  
Reducing power,  
Total flavonoid,  
Total phenol

**Abstract:** Studies have shown an inverse correlation between age-related illnesses such as coronary heart disease and cancer, and fruit and vegetable consumption. Given the possible health benefits of natural antioxidants from plants, the research on the subjects has increased. 224 endemic species of *Astragalus* L., the largest genus of the Fabaceae family, were identified in the flora of Turkey. Since *Astragalus* species are plants grown in many regions of Turkey and used in traditional medicine, it is scientifically important to evaluate the biological activities of these species. In this study, we investigated the antioxidant properties of *Astragalus gummifer*. The antioxidant capacity of the lyophilized water extract obtained from the aerial parts was evaluated by ferric ions ( $Fe^{3+}$ ) reduction, KUPRAK, FRAP, DPPH\* and ABTS<sup>++</sup> scavenging antioxidant methods. ABTS<sup>++</sup> scavenging activity of *Astragalus gummifer* was measured and IC<sub>50</sub> value was found to be 10.04 µg/mL. The results showed that ABTS<sup>++</sup> scavenging activity of *Astragalus gummifer* is close to α-tocopherol (8.058 µg/mL). This research provides a basis for further phytochemical studies on *Astragalus gummifer*.

## 1. Giriş

Fabaceae, çiçekli bitkiler ailesinin bir üyesidir ve 269 cins ve 5100 tür içerir (Mabberley, 1997). *Astragalus* L., Fabaceae familyasında yer alan en büyük cinstir ve başta Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika gibi ılıman bölgelerde yayılış gösterir. *Astragalus* cinsine ait yaklaşık 2000 tür tanımlanmıştır ve Türkiye florasında 380 türün bulunduğu tespit edilmiştir (Gülcemal ve ark., 2011; Horo ve ark., 2012). *Astragalus* L.'nin Türkiye florasında bulunan 224 türünün ise endemik olduğu belirlenmiştir (Horo ve ark., 2012). Son yıllarda doğal ilaçlar ve bitki çayları gibi bitkisel ürünlerin artması, botanik kaynaklara olan ilginin artmasına neden olmuştur. *Astragalus* türlerinin tedavi amaçlı kullanımının 2000 yıl öncesine kadar dayandığı bilinmekte olup, başta antikanser, antiviral ve bağışıklık sistemini destekleyici özellikler gibi çeşitli tıbbi etkilerini inceleyen birçok yayın bulunmaktadır (Butkute ve ark., 2018). *Astragalus* türlerinin popüler olarak kullanılmasına yol açan bu farmakolojik aktivitelere polisakkaritler, saponinler ve fenolikler adı verilen üç grup kimyasal bileşiğin neden olduğu belirlenmiştir (Ríos & Waterman, 1997; Aslanipour ve ark., 2017). *Astragalus gummifer* (*A. gummifer*) batı Asya'ya ait yerel bir ağaçtır (Kora & Arunachalam, 2012). Eski tıp kitaplarında solunum yolu hastalıklarına etkisi olduğu yazılıdır. Ayrıca bazı modern farmakolojik çalışmalar yapılmış ve *A. gummifer*'in antienflamatuar, pulmoner epitel hasarı üzerinde koruyucu etkileri ve immünomodülatör özellikleri olduğu tespit edilmiştir (Bagheri ve ark., 2015). *Astragalus* türleri, tedavi ve beslenme ihtiyaçlarının yanı sıra kitle sakızı elde etmek için dünya çapında sıklıkla kullanılmaktadır (Amiri ve ark., 2020). *A. gummifer* kitle sakızının elde edildiği birkaç *Astragalus* türünden biridir (Karimi ve ark., 2016). Antioksidanlar hayati önem taşıyan parçacıklardır (Huo ve ark., 2011). Serbest radikalleri, zincir reaksiyonlarını durdurmak için süpürebilir veya ilk oluşturdukları yerde inhibe edebilirler (Huang ve ark., 2005). Antioksidanlarca zengin gıdaların, insan vücudunu serbest radikal kaynaklı oksidatif stresin zararlarına karşı koruduğu belirlenmiştir. Böylece antioksidanların birçok hastalığın önlenmesinde oldukça etkili olduğu ortaya çıkmıştır (Gulcin, 2020).

Bu çalışma ile geleneksel tıpta çok eski zamanlardan bu yana tedavi amaçlı olarak kullanılmakta olan *Astragalus gummifer*'in ilaç potansiyelinin belirlenmesi hakkında önemli bilgiler elde edilmesi ve türe ait sekonder bileşiklerin izolasyonuna yönelik çalışmalara temel oluşturulması amaçlanmaktadır. Bu amaçla *Astragalus gummifer*'in toprak üstü kısmı liyofilize su ekstresinin (AGSE) fitokimyasal biyoaktivitesi; Fe<sup>3+</sup>-TPTZ indirgeme kapasitesi (FRAP), ferrik iyonlar (Fe<sup>3+</sup>) indirgeme, bakır iyonları (Cu<sup>2+</sup>) indirgeme kapasitesi (KUPRAK), DPPH ve ABTS radikal giderme yöntemi olmak üzere 5 farklı *in vitro* antioksidan kapasite testi ile ilk defa araştırıldı, yanı sıra toplam fenol ve flavonoid içerikleri belirlendi.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Kimyasal maddeler

Antioksidan testleri için gereken  $\alpha$ -tokoferol, neokuprin (2,9-dimetil-1,10-fenantirolin), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH), askorbik asit, 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit (ABTS), 3-(2-pyridyl)-5,6-bis (4-phenyl-sulfonic acid)-1,2,4-triazin (Ferrozin) ve trikloroasetik asit (TCA) ve  $\alpha$ -tokoferol Sigma-Aldrich GmbH'dan sağlandı. Amonyum tiyosiyanat ve diğer tüm kimyasallar Sigma-Aldrich or Merck Millipore'dan sağlandı.

### 2.2. Bitkisel materyal

*Astragalus gummifer* (Günizer) Temmuz 2019'da Bitlis ilinde toplandı (Lokasyon: 38°40'63.13"N 42°10'05.64"E; Herbarium kodu: MP17045). Bitkinin tür teşhisi Dr. Süleyman Mesut PINAR (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) tarafından yapılmıştır. Bitki örnekleri aynı kurumun herbariumunda saklanmaktadır.

#### 2.2.1. Liyofilize su ekstresi

Bitkiye ait su ekstresini hazırlamak için, *A. gummifer*'in gölgede kurutulmuş toprak üstü kısımlarından 25 g alındı ve bir öğütücüde toz haline getirildi. Manyetik bir karıştırıcıda 15 dakika

boyunca 400 ml distile su ile kaynatıldıktan sonra bir liyofilizatörde (Labconco, Freezone 1L) -50°C'de 5 mm-Hg basınç ayarında liyofilize edildi. Kullanılincaya kadar -20° C'de saklandı (Gulcin ve ark., 2008).

### 2.3. Radikal giderme metotları

#### 2.3.1. DPPH radikali giderme aktivitesi

DPPH radikal giderme aktivitesini belirlemek için Blois metodu uygulandı (Blois, 1958). Ekstre ve standart antioksidanların konsantrasyonu (10-30 µg/mL) olacak şekilde pipetlendi ve üzerlerine 1 mL DPPH\* (0.1 mM) ilave edildi. 30 dakikalık inkübasyondan sonra 517 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Sonunda, tüm numunelerin IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı (Blois, 1958; Taslimi ve ark., 2020).

#### 2.3.2. ABTS radikali giderme aktivitesi

ABTS<sup>++</sup> giderme aktivitesini belirlemek için daha önceki çalışmalarda kullanılan yöntemler kullanıldı (Bingol & Bursal, 2018; Alhafez ve ark., 2022). İlk olarak, ABTS radikalleri üretmek için 2 mM ABTS çözeltisine 2.45 mM persülfat ilave edildi. ABTS<sup>++</sup> radikal çözeltisinin absorbansı, fosfat tamponu (M: 0.1 ve pH: 7.4) ile 734 nm'de 0.750 ± 0.025 nm'ye ayarlandı. Daha sonra 1 mL ABTS<sup>++</sup> çözeltisi farklı konsantrasyonlardaki ekstre ve standart antioksidanlara (10-30 µg/mL) ilave edildi ve 30 dakika inkübasyondan sonra absorbanslar 734 nm'de kaydedildi (Kose & Gulcin, 2021).

### 2.4. İndirgeme testleri

#### 2.4.1. Fe<sup>3+</sup>-Fe<sup>2+</sup> indirgeme testi

Demir indirgeme aktivitesi tayini daha önceki bir metodun hafif modifiye edilmesiyle gerçekleştirildi (Oyaizu, 1986). Öncelikle konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde numuneler için stok çözeltiler hazırlandı. Bu stok çözeltilerden farklı konsantrasyonda numuneler cam tüplere mikro pipet yardımıyla aktarıldı. Hacim distile su ile 1 mL'ye tamamlandı. Ardından tüm tüplere 0.2 M'lık 2.5 mL (pH: 6.6) fosfat tamponu ve %1'lik 2.5 mL K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> ilave edilerek karışım 50 °C'de 20 dk inkübe edildi. Daha sonra tepkime ortamına 2.5 mL %10'luk TCA eklendi. Çözeltinin üstünde oluşan fazdan 2.5 mL alındı ve buna 2.5 mL distile su ve 0.5 mL FeCl<sub>3</sub> (%0.1) eklendikten sonra oluşan Perl Prusya mavisi kompleks 700 nm'de saf sudan oluşan köre karşı okundu (Köksal & Gülçin, 2008; Gülçin, 2012; Kose & Gulcin, 2021).

#### 2.4.2. KUPRAK testi

Kuprik iyonları (Cu<sup>2+</sup>) indirgeme aktivitesini belirlemek için daha önce uygulanmış bir metod hafif değişikliklerle kullanıldı (Apak ve ark., 2006). Kısaca, 0.25 mL farklı konsantrasyonlarla (10-30 µg/mL) hazırlanan ekstre ve standart antioksidan çözeltileri numune tüplerine pipetlendi. Üzerlerine 0.25 mL 10 mM bakır (II) klorür çözeltisi, 0.25 mL 7.5 mM etanolik neokuprin çözeltisi ve 1.0 M 0.25 mL (pH:6.5) amonyum asetat tampon çözeltisi eklendi, son hacim distile su ile 2 mL'ye tamamlandı ve ardından vortekslendi. Oda sıcaklığında 30 dakikalık inkübasyonun ardından absorbans, köre karşı 450 nm'de ölçüldü.

#### 2.4.3. FRAP testi

Deney tüplerine farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış (10-30 µg/mL) bitki ekstresi ve standart antioksidan bileşik çözeltileri eklendi son hacimleri 0.3 M CH<sub>3</sub>COONa tamponu ile 0.5 mL'ye tamamlandı. Ardından tüplere 2250 µL FeCl<sub>3</sub> (20 mM) ve 2250 µL FRAP çözeltisi eklenerek hacim 5 mL'ye tamamlandı. Vortekslendi ve 37 °C'de 30 dakika boyunca inkübe edildikten sonra 593 nm'de ölçüm yapıldı (Bursal ve ark., 2019; Kose & Gulcin, 2021).

## 2.5. Total fenolik ve flavonoit miktarı

AGSE'de bulunan toplam fenolik miktarını hesaplama için; 1000 µg liyofilize AGSE 23 mL distile su ile çözüldü. 0.5 mL hacminde Folin-Ciocalteu reaktifi volumetrik balona eklendi, 3 dakikanın sonunda 1.5 ml %2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi ilave edildi. Karışım daha sonra aralıklı çalkalama ile 2 saat beklemeye bırakıldı. Örneklerin absorbansı 760 nm'de okundu. İşlemler üç tekaralı olarak gerçekleştirildi. Kontrol için numune yerine distile su kullanıldı (Köksal & Gülçin, 2008). Standart olarak gallik asit kullanıldı ve miktar standart olarak kullanılan gallik asit grafiğinin denkleminde mikrogram gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirlendi (Kızıldaş ve ark., 2021). AGSE'de bulunan toplam flavonoit miktarını hesaplama için; 1000 µg ekstrakt, 0.1 mL (1 M) CH<sub>3</sub>COOK ve 0.1 mL (%10) Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> solüsyonlarını içeren 4.3 mL %80'lik etanol çözeltisi ile seyreltildi. 37 °C'de 40 dakikalık inkübasyondan sonra absorbanslar 415 nm'de kaydedildi. Standart olarak kuersetin kullanıldı ve miktar standart olarak kullanılan kuersetin grafiğinin denkleminde mikrogram kuersetin eşdeğeri (QE) olarak hesaplandı (Eruygur ve ark., 2019; Park ve ark., 2019).

## 2.6. İstatistiksel analiz

Tüm deney sonuçlarından üç tekrar ile değerler elde edildi. Verilere ait ortalama ve (±) standart sapma değerleri kaydedildi ve SPSS (versiyon 25.0 SPSS Inc.) ile analiz edildi. Verilere ait varsayımlar sınanarak One way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) uygulandı. One way ANOVA sonucuna göre her bir deney düzeyinde anlamlı bir fark elde edildi. Ortalamalar arasındaki anlamlı farklılığın kaynağı Tukey ve Duncan'ın Post-Hoc testleri kullanılarak belirlendi; p<0.05 anlamlık düzeyi referans olarak alındı.

## 3. Bulgular ve Tartışma

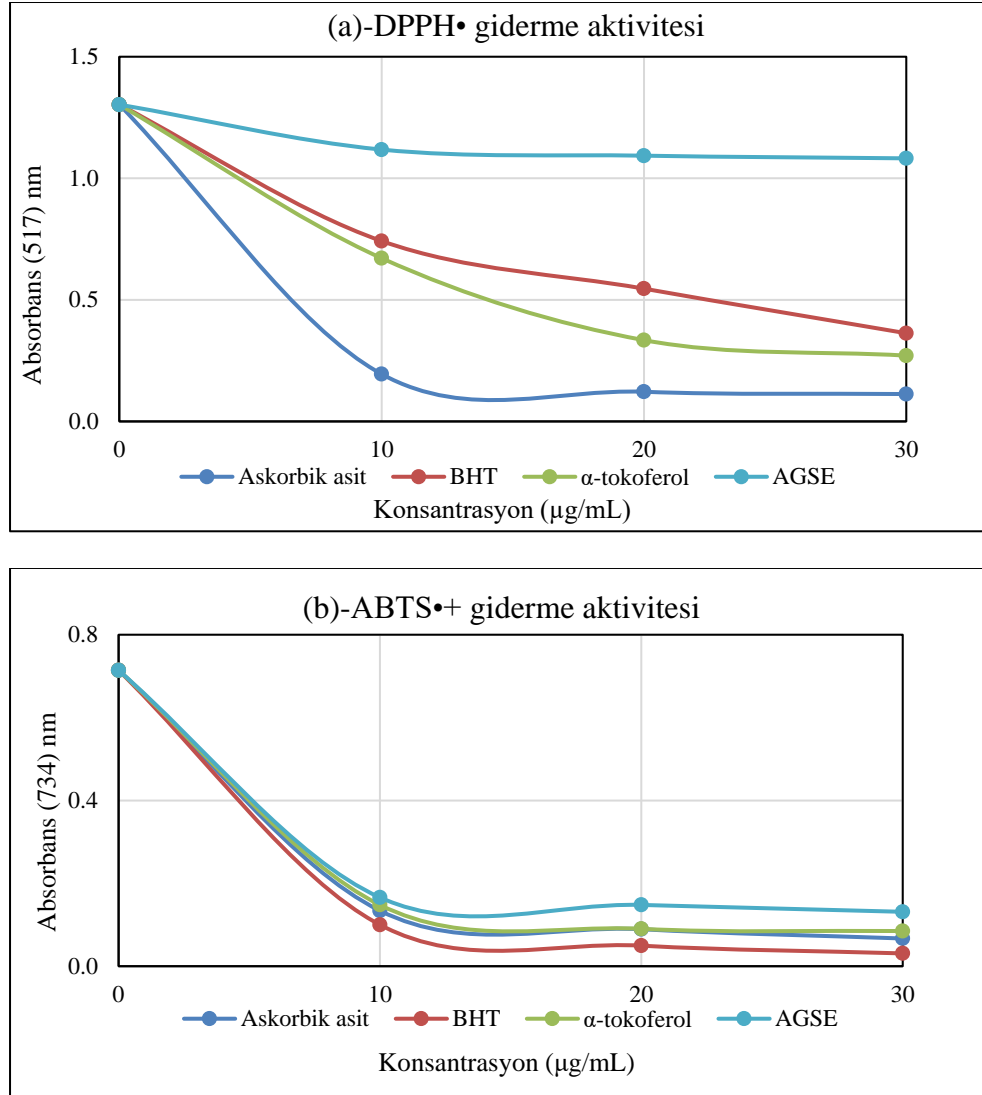
Bitkilerin antioksidan kapasitesi belirlenirken en uygun yöntemin seçilmesi önemlidir. Bu çalışmada, ekstrenin antioksidan kapasitesini belirlemek için iki farklı serbest radikal süpürme yöntemi (DPPH ve ABTS) kullanılmıştır. DPPH yönteminin temeli, ekstredeki DPPH<sup>•</sup> giderici antioksidan yüzdesine dayanmaktadır. ABTS yöntemi ise ABTS<sup>•+</sup> radikallerini gidermek için gerekli ekstredeki antioksidan yüzdesine dayanmaktadır (Murathan & Özdiç, 2018). Çalışma kapsamında AGSE ve standart antioksidan bileşiklerin DPPH<sup>•</sup> giderme aktiviteleri araştırıldı.

Çizelge 1. Standartlar ve AGSE için belirlenen IC<sub>50</sub> değerleri

Bileşikler	DPPH <sup>•</sup> giderme		ABTS <sup>•+</sup> giderme	
	IC <sub>50</sub> *	r <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> *	r <sup>2</sup>
Askorbik asit	17.325 ± 0.004	0.9509	7.533 ± 0.037	0.9519
BHT	38.500 ± 0.023	0.9858	5.824 ± 0.011	0.9539
α-tokoferol	30.130 ± 0.043	0.9578	8.058 ± 0.008	0.9606
AGSE	86.63 ± 0.016	0.9670	10.04 ± 0.002	0.9419

AGSE ve standart antioksidanların IC<sub>50</sub> değerleri aşağıdaki sırayla gösterilmiştir; Askorbik asit (17.325 ± 0.004, r<sup>2</sup>: 0.9509) <α-tokoferol (30.130 ± 0.043, r<sup>2</sup>: 0.9578) <BHT (38.500 ± 0.023, r<sup>2</sup>: 0.9858) <AGSE (86.63 ± 0.016, r<sup>2</sup>: 0.9670) (Çizelge 1 ve Şekil 1a). Düşük IC<sub>50</sub> değerleri, etkili bir DPPH<sup>•</sup> giderme aktivitesine işaret eder (Kızıldaş ve ark., 2021). En etkili DPPH<sup>•</sup> giderme aktivitesine sahip bileşik askorbik asit olarak bulundu. AGSE'nin standart antioksidan bileşiklere kıyasla daha düşük bir serbest radikal giderme kabiliyetine sahip olduğu bulundu. *Astragalus diptherites* ve *Astragalus gymnalopecias* metanol ekstrelerinin DPPH<sup>•</sup> giderme aktivitesi bir çalışmada belirlenmiş ve IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 19.73 ± 0.8 µg/mL ve 22.66 ± 0.3 µg/mL olarak bulunmuştur (Keskin ve ark., 2018). Başka bir çalışmada, *Astragalus brachycalyx* toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinin DPPH<sup>•</sup> giderme tesisi IC<sub>50</sub> sonucu 115.5 ± 0.030 µg/mL olarak bulunmuştur (Kızıldaş ve ark., 2021). 2018 yılında yapılan bir çalışmada *Astragalus Glycyphyllos* çiçeklerinin %70 etanol ekstresinin DPPH radikal giderme IC<sub>50</sub>

sonucu 35.64  $\mu\text{mol/g}$  olduğu bulunmuştur (Butkute ve ark., 2018). Sonuçlar değerlendirildiğinde, tüm çalışmalarda  $\text{IC}_{50}$  değerlerinin yüksek olduğu görüldü, mevcut çalışmaya göre AGSE'nin çok güçlü bir DPPH' giderme aktivitesi olmadığı belirlendi.  $\text{ABTS}^{++}$  giderme aktivite deneylerinde radikalın kararlı bir formu üretilir ve bu kararlı form bir antioksidan ile reaksiyona girerek mavi-yeşil renkli  $\text{ABTS}^{++}$  oluşturur, renk giderme  $\text{ABTS}^{++}$  inhibisyon oranını belirtir (MacDonald-Wicks ve ark., 2006). AGSE ve standartlar için  $\text{ABTS}^{++}$  giderme testinin  $\text{IC}_{50}$  değerleri aşağıdaki sırayla belirlendi; BHT ( $5.824 \pm 0.011$ ,  $r^2: 0.9539$ ) < Askorbik asit ( $7.533 \pm 0.037$ ,  $r^2: 0.9519$ ) <  $\alpha$ -tokoferol ( $8.058 \pm 0.008$ ,  $r^2: 0.9606$ ) < AGSE ( $10.04 \pm 0.002$ ,  $r^2: 0.9419$ ) (Çizelge 1 ve Şekil 1b). AGSE'nin etkili bir  $\text{ABTS}^{++}$  giderme aktivesine sahip olduğu belirlendi. *Astragalus brachycalyx* ile yapılan bir çalışmada etanol ekstresinin  $\text{ABTS}^{++}$  giderme aktivitesi  $\text{IC}_{50}$  sonucu  $16.12 \pm 0.07 \mu\text{g/mL}$  olarak bulunmuştur (Kızıldaş ve ark., 2021). Başka bir çalışmada *Astragalus leporinus*, *Astragalus Differentissimus* ve *Astragalus schizopterus* bitkilerine ait su ekstralarının  $\text{ABTS}^{++}$  giderme çalışmaları gerçekleştirilmiş ve  $\text{IC}_{50}$  sonuçları sırasıyla;  $48.82 \pm 0.35 \mu\text{g/mL}$ ,  $64.01 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$  ve  $32.91 \pm 0.80 \mu\text{g/mL}$  olarak belirlenmiştir (Haşimi ve ark., 2017). Bu çalışmada,  $\text{ABTS}^{++}$  giderme aktivitesi için elde edilen  $\text{IC}_{50}$  miktarlarının yukarıda belirtilen çalışmalarda kıyaslandığında çok daha etkili olduğu belirlendi. Konsantrasyona (10-30  $\mu\text{g/mL}$ ) dayalı bir şekilde ölçülen DPPH' ve  $\text{ABTS}^{++}$  giderme aktivite ortalamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark bulundu ( $p < 0.001$ ) (Çizelge 1). Literatür taramasında *A. gummifer*'e ait ekstraların DPPH' ya da  $\text{ABTS}^{++}$  giderme aktivitesinin ölçüldüğü bir yayın bulunamadı, bu yüzden mevcut çalışma ilk olarak bir referans oluşturmaktadır.



Şekil 1. AGSE'nin DPPH' (a) ve  $\text{ABTS}^{++}$  (b) giderme aktivitesi.

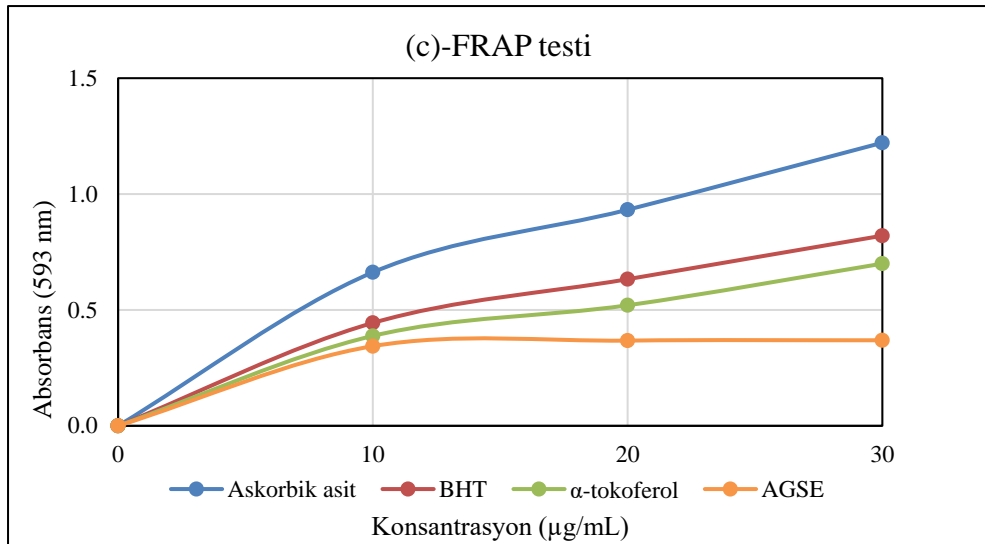
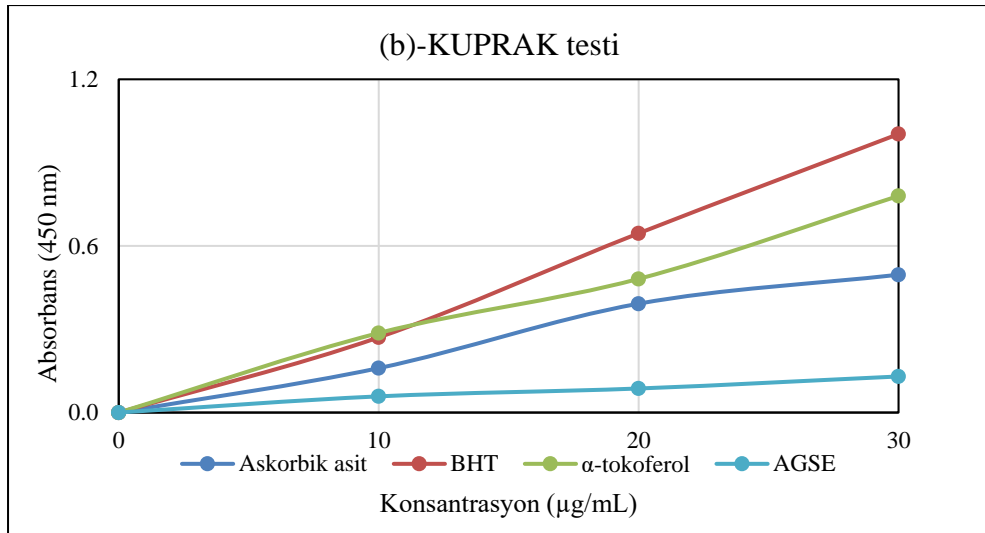
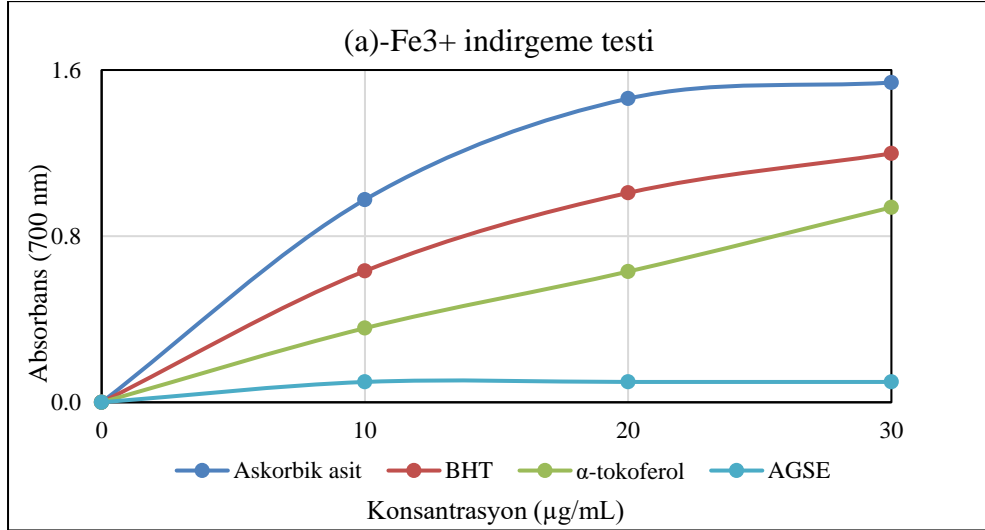
*A. gummifer*'in liyofilize su ekstresinin antioksidan profili demir iyonları ( $Fe^{3+}$ ) indirgeme, KUPRAK ve FRAP deneyleri kullanılarak değerlendirildi (Çizelge 2 ve Şekil 2). İndirgeme kapasitesi, bir molekülün antioksidan aktiviteye sahip olup olmadığını belirlemede önemli bir faktördür (Meir ve ark., 1995).

Çizelge 2. AGSE ve standart antioksidanların indirgeme yetenekleri (30  $\mu$ g/mL)

Antioksidanlar	$Fe^{3+}/Fe^{2+}$ indirgeme *		KUPRAK *		FRAP*	
	$\lambda_{700}$	$r^2$	$\lambda_{450}$	$r^2$	$\lambda_{593}$	$r^2$
Askorbik asit(a)	$1.540 \pm 0.014^{b,c,d}$	0.9998	$0.496 \pm 0.029^d$	0.9861	$1.221 \pm 0,054^{b,c,d}$	0.9891
$\alpha$ - tokoferol(b)	$0.939 \pm 0.083^d$	0.9984	$0.780 \pm 0.064^{a,d}$	0.9938	$0.700 \pm 0.023^d$	0.9816
BHT(c)	$1.198 \pm 0.038^{b,d}$	0.9997	$1.003 \pm 0.151^{a,b,d}$	0.9987	$0.820 \pm 0.028^{b,d}$	0.9908
AGSE(d)	$0.153 \pm 0.008$	0.9333	$0.130 \pm 0.018$	0.9886	$0.369 \pm 0.002$	0.9548

\* Aynı sütunda yer alan farklı harfler, ortalamalar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farkı gösterir. ( $p < 0.001$  anlamlı olarak kabul edildi).

Kullanılan ilk yöntem, yaygın yöntemlerden biri olan  $Fe[(CN)_6]^{3+}$  çözeltilisinde  $Fe^{3+}$ 'ün  $Fe^{2+}$ 'ye indirgenmesine dayanır. Reaksiyon sistemine göre potasyum ferrisiyanürdeki  $Fe^{3+}$  bir antioksidan madde ilavesi ile  $Fe^{2+}$ 'ye indirgenir ve 700 nm'de gözlemlenebilen Prusya mavisi rengin absorbansı ölçülür (Kızıltaş ve ark., 2021). AGSE ve standart antioksidanların (10-30  $\mu$ g/mL)  $Fe^{3+}$  indirgeme gücü aşağıdaki gibidir: Askorbik asit ( $1.540 \pm 0.014$ ,  $r^2$ : 0.9998) > BHT ( $1.198 \pm 0.038$ ,  $r^2$ : 0.9997) >  $\alpha$ - tokoferol ( $0.939 \pm 0.083$ ,  $r^2$ : 0.9984) > AGSE ( $0.153 \pm 0.008$ ,  $r^2$ : 0.9333) (Çizelge 2 ve Şekil 2a). Sonuçlara göre, AGSE'nin ferrik iyonları ( $Fe^{3+}$ ) indirgeme konusunda güçlü bir yeteneğe sahip olduğu belirlendi ( $p < 0.001$ ) (Çizelge 2). Ancak bu değer in standart antioksidanlara göre daha düşük olduğu bulundu. KUPRAK testi neocuproin ve bakır iyonları arasında oluşan ve 450 nm'de absorbansı gözlenen kararlı kompleksin ölçümüne dayanır (Kızıltaş ve ark., 2021). AGSE ve pozitif kontrollerin 30  $\mu$ g/mL konsantrasyonda KUPRAK testi sonuçları Çizelge 2 ve Şekil 2b'de gösterildi. AGSE ve pozitif kontrollerin konsantrasyonuna (10-30  $\mu$ g/mL) bağlı KUPRAK sonuçları aşağıdaki gibidir; BHT ( $1.003 \pm 0.151$ ,  $r^2$ : 0.9987) >  $\alpha$ - tokoferol ( $0.780 \pm 0.064$ ,  $r^2$ : 0.9938) > Askorbik asit ( $0.496 \pm 0.029$ ,  $r^2$ : 0.9861) > AGSE ( $0.130 \pm 0.018$ ,  $r^2$ : 0.9886) ( $p < 0.001$ ) (Çizelge 2). AGSE'nin KUPRAK testine göre güçlü bir indirgeme yeteneğine sahip olduğu belirlendi ( $p < 0.001$ ). FRAP yönteminde bir numunenin antioksidan özelliği oksidan ferrik demiri, demir formuna indirgeme gücünün ölçülmesi ile belirlenir (Murathan & Özdiç, 2018). AGSE ve standart antioksidanların FRAP sonuçları aşağıdaki sırayla azaldı; Askorbik asit ( $1.221 \pm 0.054$ ,  $r^2$ : 0.9891) > BHT ( $0.820 \pm 0.028$ ,  $r^2$ : 0.9908) >  $\alpha$ - tokoferol ( $0.700 \pm 0.023$ ,  $r^2$ : 0.9816) > AGSE ( $0.369 \pm 0.002$ ,  $r^2$ : 0.9548) (Çizelge 2 ve Şekil 2c). Yönteme göre, yüksek absorbans değerleri,  $Fe^{3+}$ -TPTZ kompleksinin güçlü indirgeme kabiliyetini temsil eder. FRAP testi Sonuçlara göre AGSE'nin etkili bir indirgeme yeteneği olduğu belirlendi ( $p < 0.001$ ) (Çizelge 2). Sonuç olarak, *Astragalus gummifer*'in toprak üstü kısmının liyofilize su ekstresinin tüm antioksidan aktivite testlerinde standart bileşiklere yakın bir değer gösterdiği ayrıca ABTS<sup>++</sup> giderme testinde ise standart bileşiklere kıyasla daha iyi sonuçlar verdiği belirlendi. Literatür taramasında *A. gummifer*'e ait ekstrelerin indirgeme aktivitesinin ölçüldüğü herhangi bir yayın bulunamadı, bu yüzden mevcut çalışma ilk olarak bir referans oluşturmaktadır.



Şekil 2. AGSE ve standart antioksidanların Fe<sup>3+</sup>-Fe<sup>2+</sup> indirgeme (a), KUPRAK (b) ve FRAP (c) indirgeme yetenekleri (30 µg/mL).

Bitkilerin antioksidan özellikleri içerdikleri fenolik ve flavonoid bileşikler gibi sekonder metabolitlerden kaynaklanmaktadır (Keskin ve ark., 2018). Fenolik bileşikler başlıca bitki sekonder metabolitler arasında yer alır. Fenolik ve flavonoid bileşikler antikanser, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antialerjik ve serbest radikal süpürücü gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bol miktarda fenolik bileşik içeren bir diyetin kanser ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkileri olduğu bildirilmektedir. Flavonoidler, bitkilerde bulunan önemli sekonder bileşik gruplarından birini oluşturur. Flavonoidlerin halka yapılarına bağlı çok sayıda fenolik hidroksil grubu, onlara antioksidan aktivite kazandırmaktadır (Jun ve ark., 2012). Güçlü serbest radikal giderici özelliklerinden dolayı flavonoidler metal şelatlama ve indirgeme gibi antioksidan aktiviteler gösterirler (Bursal ve ark., 2021).

Çizelge 3. AGSE'nin toplam fenolik ve flavonoid içeriği

	Total fenolik ( $\mu\text{g/mL}$ ekstre)	Total flavonoid ( $\mu\text{g/mL}$ ekstre)
AGSE	$7.27 \pm 0.01$	$0.45 \pm 0.04$

AGSE'deki toplam fenolik ve flavonoid bileşik içeriği sırasıyla  $7.27 \pm 0.01$   $\mu\text{g}$  GAE ve  $0.45 \pm 0.04$   $\mu\text{g}$  QE olarak bulundu (Çizelge 3). AGSE'deki toplam fenolik ve flavonoid bileşik miktarı ile antioksidan aktiviteler arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterildi. Bir çalışmada, *Astragalus brachycalyx* Fischer'in su ekstresinde toplam fenolik ve flavonoid bileşik içeriği sırasıyla 23.18  $\mu\text{g}$  GAE ve 4.67  $\mu\text{g}$  QE olarak bulunmuştur (Kızıltaş ve ark., 2021). 2011 yılında yapılan bir çalışmada *Astragalus squarrosus*'un metanol ekstresindeki toplam fenolik ve flavonoid bileşik miktarları sırasıyla 23.3 mg/g ve 26.0 mg/g olarak bulunmuştur (Asgarpanah ve ark., 2011). Bir başka çalışmada ise *Astragalus glycyphyllos* yaprak ve çiçek ekstrelerindeki toplam fenolik bileşik miktarı 25.99 ve 23.71 mg GAE/g, toplam flavonoid miktarı ise 21.00 ve 16.71 mg RE/g olarak belirlenmiştir (Butkute ve ark., 2018). *Astragalus diptherites* ve *Astragalus gymnaolepeias* türleri bir çalışmada incelenmiş ve toplam fenolik bileşik içerikleri sırasıyla;  $76.1 \pm 0.9$  ve  $54.66 \pm 2.3$  ( $\mu\text{g}$  GAE/mg ekstre), toplam flavonoid bileşik içerikleri ise sırasıyla  $39.31 \pm 0.2$  ve  $36.81 \pm 0.3$  ( $\mu\text{g}$  QE/mg ekstre) olarak bulundu (Keskin ve ark., 2018). Yukarıda bahsedilen çalışmaların sonuçları ile mevcut çalışmadan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıkların bitkinin yetiştirildiği bölgenin ekolojik ve toprak yapısındaki çeşitlilik, analiz yöntemleri, çözücüler ve ekstraksiyon koşullarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### 4. Sonuç

Bu çalışmada *Astragalus gummifer*'in fitokimyasal biyoaktivitesi ve özellikleri, fenolik ve flavonoid içerikleri ayrıca DPPH' ve ABTS<sup>•+</sup> giderme ile KUPRAK, FRAP ve demir indirgeme testleri kullanılarak antioksidan kapasitesi ile ilgili veriler ilk kez sunulmaktadır. *Astragalus gummifer*'in iyi düzeyde fenolik ve flavonoid içeriği olduğu ve belirli bir düzeyde antioksidan aktivite sergilediği belirlendi. Antioksidanların birçok hastalığın önlenmesinde oldukça etkili oldukları bilinmektedir. Bu çalışma ile *Astragalus gummifer*'in bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabilirliği hakkında ilk kez bilgi sunuldu. Çalışma sonuçlarına ait grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu da belirlendi. *Astragalus* türlerinden elde edilen sekonder bileşikler özellikle tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. *Astragalus gummifer* ile yapılan bu çalışmadan türe ait sekonder bileşiklerin izolasyonuna yönelik çalışmalara temel niteliğinde sonuçlar elde edildi. Böylece başta kanser ve viral hastalıklar olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak uzun yıllardan beri kullanılan *Astragalus gummifer*'in ilaç potansiyelinin belirlenmesi açısından önemli bilgiler sunuldu.

#### Kaynakça

- Alhafez, A., Savci, A., Alan, Y., Söylemez, R., & Kilic, A. (2022). Preparation of Cu(II), Ni(II), Ti(IV), VO(IV), and Zn(II) metal complexes derived from novel vic-dioxime and investigation of their antioxidant and antibacterial activities. *Chemistry and Biodiversity*, 19(3), e202100768. doi:10.1002/cbdv.202100768
- Amiri, M. S., Joharchi, M. R., Nadaf, M., & Nasseh, Y. (2020). Ethnobotanical knowledge of *Astragalus* spp.: The world's largest genus of vascular plants. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 10(2),



- 128–142.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S., & Erçağ, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57(5–6), 292–304. doi:10.1080/09637480600798132
- Asgarpanah, J., Motamed, S. M., Farzaneh, A., Ghanizadeh, B., & Tomraee, S. (2011). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of *Astragalus squarrosus* Bunge. *African Journal of Biotechnology*, 10(82), 19176–19180.
- Aslanipour, B., Gülcemal, D., Nalbantsoy, A., Yusufoglu, H., & Bedir, E. (2017). Secondary metabolites from *Astragalus karjaginii* BORISS and the evaluation of their effects on cytokine release and hemolysis. *Fitoterapia*, 122(June), 26-33. doi:10.1016/j.fitote.2017.08.008
- Bagheri, S. M., Keyhani, L., Heydari, M., Dashti-R, M. H. (2015). Antinociceptive activity of *Astragalus gummifer* gum (gum tragacanth) through the adrenergic system : A in vivo study in mice. *Journal of Ayurveda & Integrative Medicine*, 6(1), 19-23.
- Bingol, M. N., & Bursal, E. (2018). LC-MS/MS analysis of phenolic compounds and *in vitro* antioxidant potential of *stachys lavandulifolia* Vahl. var. *brachydon* Boiss. *International Letters of Natural Sciences*, 72, 28–36. doi:10.56431/p-5vckk2
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200. doi:10.1038/1811199a0
- Bursal, E., Aras, A., Kılıç, Ö., Taslimi, P., Gören, A. C., & Gülçin, İ. (2019). Phytochemical content, antioxidant activity, and enzyme inhibition effect of *Salvia eriophora* Boiss. & Kotschy against acetylcholinesterase,  $\alpha$ -amylase, butyrylcholinesterase, and  $\alpha$ -glycosidase enzymes. *Journal of Food Biochemistry*, 43(3), 1-13. doi:10.1111/jfbc.12776
- Bursal, E., Aras, A., Doğru, M., & Kılıç, Ö. (2021). Phenolic content, antioxidant potentials of *Saponaria prostrata* endemic plant. *International Journal of Life Sciences and Biotechnol. International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 5(1), 1-8. doi:10.38001/ijlsb.989172
- Butkute, B., Dagilyte, A., Benetis, R., Padarauskas, A., Cesevičiene, J., Olšauskaite, V., & Lemežiene, N. (2018). Mineral and phytochemical profiles and Antioxidant activity of herbal material from two temperate astragalus species. *BioMed Research International*, 2018, 6318630. doi:10.1155/2018/6318630
- Eruygur, N., Koçyiğit, U. M., Taslimi, P., Ataş, M., Tekin, M., & Gülçin, I. (2019). Screening the in vitro antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, antidiabetic activities of endemic *Achillea cucullata* (Asteraceae) ethanol extract. *South African Journal of Botany*, 120, 141–145. doi:10.1016/j.sajb.2018.04.001
- Gulcin, I., Tel, A. Z., & Kirecci, E. (2008). Antioxidant, antimicrobial, antifungal, and antiradical activities of *Cyclotrichium Niveum* (BOISS.) Manden and Scheng. *International Journal of Food Properties*, 11(2), 450–471. doi:10.1080/10942910701567364
- Gulcin, I. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of Toxicology*, 94, 651-715. doi:10.1007/s00204-020-02689-3
- Gülcemal, D., Alankuş-Çalışkan, Ö., Perrone, A., Özgökçe, F., Piacente, S., & Bedir, E. (2011). Cycloartane glycosides from *Astragalus aureus*. *Phytochemistry*, 72(8), 761-768. doi:10.1016/j.phytochem.2011.02.006
- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391. doi:10.1007/s00204-011-0774-2
- Haşimi, N., Ertaş, A., Yılmaz, M. A., Boğa, M., Temel, H., Demirci, S., Özden, T. Y., Yener, İ., & Kolak, U. (2017). LC-MS/MS and GC-MS analyses of three endemic *Astragalus* species from Anatolia towards their total phenolic-flavonoid contents and biological activities. *Biological Diversity and Conservation*, 10(1), 18-30.
- Horo, I., Bedir, E., Masullo, M., Piacente, S., Özgökçe, F., & Alankuş-Çalışkan, Ö. (2012). Saponins from *Astragalus hareftae* (NAB.) SIRJ. *Phytochemistry*, 84, 147–153. doi:10.1016/j.phytochem.2012.07.015
- Huang, D., Boxin, OU., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(6), 1841-1856. doi:10.1021/jf030723c
- Huo, L., Lu, R., Li, P., Liao, Y., Chen, R., Deng, C., Lu, C., Wei, X., & Li, Y. (2011). Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts from the stems of *jasminum nervosum* Lour. *Grasas y Aceites*, 62(2), 149-154. doi:10.3989/gya.066810

- Jun, Y. M., Kim, E. H., Lim, J. J., Kim, S. H., & Kim, S. H. (2012). Variation of phenolic compounds contents in cultivated astragalus membranaceus. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 20(6), 4447–453. doi: 10.7783/KJMCS.2012.20.6.447
- Karimi, S., Salehi, H., & Ashiri, F. (2016). Tragacanth , a novel and cheap gelling agent in carnation and miniature rose tissue culture media. *Journal of Ornamental Plants*, 6(4), 253–260.
- Keskin, C., Özen, H. Ç., Toker, Z., Kızıl, G., Kızıl, M. (2018). Astragalus diphtherites FENZL var. diphtherites ve Astragalus gymnaopecias Rech. Fıl' in gövde ve kök kısımlarından farklı çözücüler ile elde edilen özütlerin in vitro antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(2), 157-166. doi:10.18016/ksudobil.322478
- Kızıldaş, H., Bingöl, Z., Gören, A. C., Pinar, S. M., Alwasel, S. H., & Gülçin, İ. (2021). LC-HRMS profiling of phytochemicals, antidiabetic, anticholinergic and antioxidant activities of evaporated ethanol extract of *Astragalus brachycalyx* Fischer. *Journal of Chemical Metrology*, 15(2), 135–151. doi:10.25135/jcm.62.2107.2155
- Kora, A. J., & Arunachalam, J. (2012). Green fabrication of silver nanoparticles by Gum Tragacanth (*Astragalus gummifer*): A dual functional reductant and stabilizer. *Journal of Nanomaterials*, 2012, 869765. doi:10.1155/2012/869765
- Kose, L. P., & Gulcin, İ. (2021). Evaluation of the antioxidant and antiradical properties of some phyto and mammalian lignans. *Molecules*, 26(23), 7099. doi:10.3390/molecules26237099
- Köksal, E., & Gülçin, I. (2008). Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32(1), 65–78.
- Mabberley, D. J. (1997). *The Plant-book: A Portable Dictionary of the Vascular Plants*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., & Garg, M. L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2046–2056. doi:10.1002/jsfa.2603
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B., & Philosoph-Hadas, S. (1995). Determination and Involvement of Aqueous Reducing Compounds in Oxidative Defense Systems of Various Senescing Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1813-1819. doi:10.1021/jf00055a012
- Murathan, Z. T., & Özdiç, M. (2018). Ardahan ve Elazığ illerinde yetişen *Anchusa azurea* Miller var. *Azurea* bitkisinin biyoaktif bileşenleri ve antioksidan kapasitesi üzerine bir araştırma. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 21(4), 529-534. doi:10.18016/ksudobil.362296
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315. doi:10.5264/eiyogakuzashi.44.307
- Park, C. H., Yeo, H. J., Baskar, T. B., Park, Y. E., Park, J. S., Lee, S. Y., & Park, S. U. (2019). In vitro antioxidant and antimicrobial properties of flower, leaf, and stem extracts of Korean Mint. *Antioxidants*, 8(3), 75. doi:10.3390/antiox8030075
- Ríos, J. L., & Waterman, P. G. (1997). A review of the pharmacology and toxicology of *Astragalus*. *Phytotherapy Research*, 11(6), 411-418. doi:10.1002/(SICI)1099-1573(199709)11:6<3C411::AID-PTR132%3E3.0.CO;2-6
- Taslimi, P., Köksal, E., Gören, A. C., Bursal, E., Aras, A., Kılıç, Ö., Alwasel, S., & Gülçin, İ. (2020). Anti-Alzheimer, antidiabetic and antioxidant potential of *Satureja cuneifolia* and analysis of its phenolic contents by LC-MS/MS. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(3), 4528-4537. doi:10.1016/j.arabjc.2019.10.002