

Determination of Some Biological Activities and Elemental Content of Methanol Extracts of *Psylliostachys spicata* (Willd.) Nevskis' Specimens Collected from Two Different Locations

¹*Gurbet Canpolat  ve ²İbrahim Teğın 

¹*Siirt Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Siirt-Türkiye, gokalp.gurbet@gmail.com
²Siirt Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Siirt-Türkiye, ibrahim.tegin@gmail.com

Submission Date: 16.05.2019

Acceptation Date: 18.07.2019

Abstract - *Psylliostachys spicata* is a species of Plumbaginaceae family which are used for medical aromatic purposes. In this study, *Psylliostachys spicata* that collected from Üzümlük and Gölgekonak (Siirt, Turkey) salts areas were evaluated with regard to element content, total phenolic content (Folin-Ciocalteu) and antioxidant activity (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine-DPPH). While for both regions some heavy metal contents (Pb, Zn, Fe) were below the allowed by the World Health Organization, toxic metals such as Cd and As were not detected. As a result of the analysis of the extracts obtained with methanol, it was determined that the total amount of soluble phenolics and antioxidant activity were among the acceptable values for both localities. According to the results, it is thought that *P. spicata* is a potential source of antioxidant which is not a concern in terms of toxic metal content.

Keywords: Total phenolic content; element analysis; *Psylliostachys spicata*; Siirt

Psylliostachys spicata (Willd.) Nevski'nin İki Farklı Lokasyondan Toplanan Örneklerinin Metanol Ekstraktlarının Bazı Biyolojik Aktiviteleri ve Element İçeriğinin Belirlenmesi

Öz - *Psylliostachys spicata*, bir çok üyesi tıbbi aromatik amaçla kullanılan Plumbaginaceae familyasından bir türdür. Bu çalışmada Üzümlük ve Gölgekonak (Siirt, Türkiye) tuzlası çevresinden toplanan *Psylliostachys spicata* bitkisi, element içerik, toplam fenolik madde miktarı (Folin-Ciocalteu) ve antioksidan aktivite (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin-DPPH) açısından değerlendirilmiştir. Element miktarları ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi) cihazıyla ppm düzeyinde belirlenmiş olup her iki bölge için bazı ağır metal içerikler, (Pb, Zn, Fe) Dünya Sağlık Örgütü'nün izin verdiği max. değer in altında çıkarken; Cd ve As gibi toksik metaller ise tespit edilememiştir. Metanol ile elde edilen ekstraktların analizi sonucunda, toplam çözünebilir fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesinin kullanım açısından her iki lokalite için kabul edilebilir değerler arasında olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *P.spicata*'nın toksik metal içerik bakımından endişe vermediği potansiyel bir antioksidan kaynağı olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Toplam fenolik içerik; element analizi; *Psylliostachys spicata*; Siirt

1. Giriş

Plumbaginaceae familyası üyeleri özellikle İran-Turan ve Akdeniz Bölgeleri başta olmak üzere dünyanın hemen hemen her yerinde yayılış göstermektedir. Familyanın bir çok üyesi ekstrem (uç) ortamlarda yaşayan (halofit, soğuğa uyumlu, kumlu topraklarda büyüyen) türlerdir.

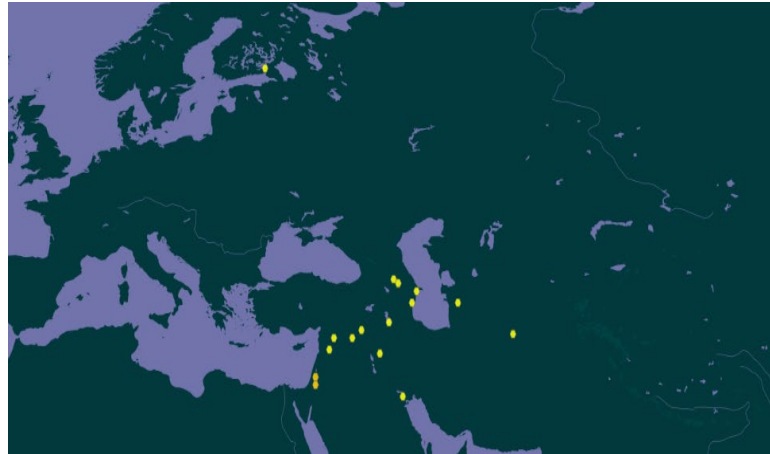
Plumbaginaceae, 28 cins ve yaklaşık 650 türü temsil etmekle beraber [1-3] Türkiye'de 84 taksonu vardır [4].

Psylliostachys spicata, bir çok üyesi tıbbi aromatik amaçla kullanılan Plumbaginaceae familyasından bir türdür. Türkiye'de *Psylliostachys* cinsi ilk kez Siirt ili Akdoğan köyü tuzcul alanından tanımlanmıştır [5].

Bitkisel ilaçlar yüksek oranda biyolojik aktif molekül, mineral ve eser element içermekle beraber birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [6]. Bitkisel ilaçlar geleneksel tıp sistemlerinin önemli bir basamağını oluşturmakla beraber son yıllarda hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde birinci basamak sağlık hizmeti olarak kullanımı giderek artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, dünya nüfusunun yaklaşık %65-80' inin öncelikli olarak alternatif tıbbi tercih ettiğini (çoğunlukla tıbbi bitkilerden elde edilen ilaçlar) rapor etmiştir [7,8].

Bitkisel ürünlerin terapötik yararlarına artan ilgiye paralel olarak doğal bitki ve piyasada mevcut olan formülasyonlarının toksisitesi ve güvenliği ile ilgili endişeler giderek artmaktadır. Doğal bitkilerin tabiatı gereği her zaman güvenli olduğuna dair yaygın bir yanlış kanı olsa da tıbbi bitki ve onların formülasyonlarının yan etkiler ve toksisite vakaları üzerine birçok rapor bulunmaktadır [9].

Bu çalışmada, Siirt ilinin farklı iki bölgesinde toplanan *P. spicata*'nın iki farklı lokaliteden toplanan örneklerinin bazı biyolojik aktiviteleri yanında element içerikleri de araştırılmıştır.



Şekil 1. *P. Spicata* bitkisinin yayılış haritası [10].

2. Malzeme ve Yöntem

Çalışmanın materyalini oluşturan *P.spicata* bitkisi (Şekil 2), Siirt ilinin Üzümlük (37°, 46'69, 90"K, 42°, 5'44, 3"D, yükseklik 730m) ve Gölgekonak (37°, 46'21, 46"K, 42°, 6'53, 96"D, yükseklik 768m) tuzlu alanlarından 2013 yılında toplanmıştır. Toplanan bitki örneklerin sistematik analizi yapıldıktan sonra bir örneği Siirt Üniversitesi Herbaryumunda muhafaza edilmiştir. Bitkilerin kalan diğer kısmı, laboratuvar ortamında hava akımının olduğu gölgelik bir alanda kurutulup, toprak üstü kısımları öğütüldükten sonra cam kavanozlarda çalışmalarda kullanılmak üzere oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

2.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite çalışmaları için 4 gr toz haline getirilmiş bitki örneği 40 mL metanol (%80) içerisinde çalkalayıcıda oda sıcaklığında 24 saat süreyle ekstrakte edilmiştir. Süzgeç kâğıdında süzülen ekstraktlar daha sonra vakum altında evapore edilip yoğunlaştırılmıştır. Son konsantrasyon 20 mg mL⁻¹ olacak şekilde stok çözeltiler hazırlanarak analize kadar +4 °C'de saklanmıştır. Tüm analizler 1 mg mL⁻¹ konsantrasyon üzerinden hesaplanmıştır.

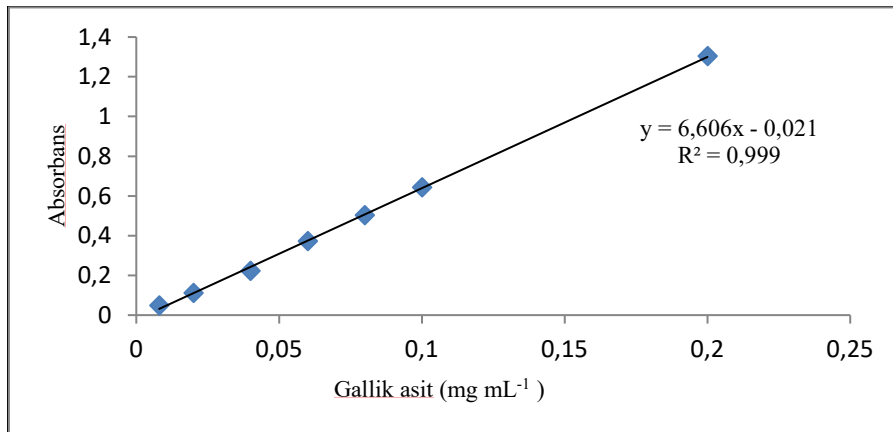


Şekil 2. *P. spicata* bitkisinin doğal alandaki görüntüsü

2.2. Toplam Fenolik Madde İçeriği

Bitki metanol ekstraktlarının toplam fenolik bileşik içeriği, gallik asit eşdeğeri olarak Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir [11]. Bunun için 1 mL ekstrakt üzerine 1 mL FCR reaktifi ilave edilip 3 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Bu çözeltiliye, daha sonra doymuş Na_2CO_3 (%7, 1 mL) eklenerek, karışım oda sıcaklığında karanlıkta 90 dk süreyle çalkalanıp 760 nm de absorpsiyon ölçülmüştür. Aynı işlemler kontrol numunelere ve gallik asit standart ($0.05\text{-}1 \text{ mg mL}^{-1}$) çözeltilerine de uygulanıp kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 3). Elde edilen kalibrasyon denkleminde, bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği mg gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Kontrol numune: 1 mL çözücü + 1 mL FCR + 1 mL 7% Na_2CO_3



Şekil 3. Toplam fenolik madde tayini için gallik asit kalibrasyon eğrisi

2.3. Antioksidan Aktivite Tayini

Antioksidan aktivite, DPPH radikalini süpürme etkisi açısından Blois' in 2002 metoduna göre belirlenmiştir [12]. Bunun için bitki metanol ekstraktı (1 mL) ile DPPH çözeltisi (4 mL, 0.001M) iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra çözeltilerin 517 nm'de absorpsiyonları ölçülmüştür. Kontrol olarak 1 mL çözücü içeren deney tüpüne 4 mL DPPH eklenerek aynı işlemler gerçekleştirilmiş olup inhibisyon yüzdesi aşağıdaki ifade edilen (1) nolu eşitlik doğrultusunda hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(Abs_{kontrol} - Abs_{numune}) / Abs_{kontrol}] \times 100 \quad (1)$$

2.4. Element Analizi

Toplanan bitkilerin element analizi için, bitki örneklerinden 0.6-1.0 g arası tartılarak mikro dalga yardımıyla çözünürleştirme işlemi yapılmıştır. Bunun için tartılan numuneler basınca dayanıklı politetrafloroetilen (PTFE) kaplara aktarılmış ve üzerine HNO₃/H₂O₂ (10.0/2.0) asit karışımı ilave edildikten sonra Tablo 1'de belirtilen koşullarda Speedwave MWS-3 Berghof marka mikrodalga fırınında parçalama işlemi gerçekleştirilmiştir. Gerekli prosedürlerden sonra element analizi Model Optima™ 7000 DV ICP-OES (Perkin Elmer, Inc., Shelton, CT, ABD) cihazıyla yapılmıştır [3,13].

Tablo 1. Mikrodalga cihazının çalışma koşulları

	1	2	3	4
T (°C)	150	190	100	100
Ta (dk) ^a	10	10	10	10
t (dk) ^b	5	10	10	5

^aİstenilen sıcaklıkta bekleme süresi

^bİki ardışık sıcaklık arasındaki süre

ICP-OES cihazının çalışma koşulları ise Tablo 2'de verilmiş olup kalibrasyon grafiklerine ait denklem ve korelasyon katsayıları Tablo 3'te belirtilmiştir.

Tablo 2. ICP-OES cihazının çalışma koşulları

Parametreler	
Güç(W)	1450
Plazma gaz akış oranı (Ar) (L·dk ⁻¹)	15
Yükseltgen gaz akış oranı (L·dk ⁻¹)	0.2
Nebülizör gaz akış oranı (L·dk ⁻¹)	0.8
Numune akış oranı (L·dk ⁻¹)	1.5
Görünür modu	Aksiyal-radyal
Entegrasyon zamanı (s)	1.0
Temizleme gazı	Azot
Kesme gazı	Hava

3. Bulgular

P. spicata bitkisinin biyolojik aktivite analizleri kapsamında antioksidan aktivite DPPH radikaline proton transferiyle azalan absorbansın (517 nm) ölçülmesi esasına göre hesaplandı. Üzümlük ve Gölgekonak tuzlu alanlarından toplanan örneklerin metanol ekstraktlarının DPPH değerleri sırasıyla 79.6% ve 86.6 %; toplam fenolik içerik ise 73.0 ve 49.5 mg_{gallik}/mL_{ekstrakt} olarak hesaplanmıştır (Tablo 4).

Tablo 3. Elementlerin kalibrasyon grafiklerine ait denklem, korelasyon katsayısı (R²) değerleri

Element	Dalgaboyu (nm)	Denklem	R ²
As	193.696	f(x) = 10657x + 346.52	0.9980
Co	228.616	f(x) = 258750x + 2156.4	0.9980
Cr	267.716	f(x) = 426198x + 4130.2	0.9987
Cu	327.393	f(x) = 755145x + 9532.2	0.9984
Fe	228.204	f(x) = 512703x + 3704	0.9987
K	766.490	f(x) = 23939x + 3824.9	0.9972
Li	670.784	f(x) = 3E+07x + 83728	0.9986
Mg	285.213	f(x) = 141701x + 322792	0.9988
Mn	257.610	f(x) = 20414x + 485.24	0.9989
Mo	202.031	f(x) = 69409x + 932.24	0.9983

Na	589.592	$f(x) = 114008x + 176759$	0.9993
Ni	231.604	$f(x) = 185263x + 2170.2$	0.9978
Pb	220.353	$f(x) = 30582x + 1141.2$	0.9972
Sb	206.836	$f(x) = 18506x + 373.74$	0.9988
Ti	334.940	$f(x) = 3E+06x + 365$	0.9984
V	292.464	$f(x) = 291244x + 9635.4$	0.9987
Zn	206.200	$f(x) = 121192x + 2729.4$	0.9992
Be	313.107	$f(x) = 9E+06x + 72084$	0.9984
Cd	228.802	$f(x) = 562992x + 8124$	0.9985
Se	282.8	$f(x) = 11123x + 256.49$	0.9988
Sr	407.771	$f(x) = 6E+07x + 550778$	0.9984

Tablo 4. *P. spicata* bitkisine ait metanol ekstraktlarının biyolojik aktivitesi

Bölge	Toplam Fenolik (mg _{gallik} /mL _{ekstrakt})	% DPPH
Üzümlük	73.0	79.6
Gölgeli konak	49.5	86.6

Üzümlük ve Gölgelikonak tuzlu alanlarından toplanan *P. spicata* bitkisinin element analizi ICP-OES cihazı ile 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş olup ortalama değerler Tablo 5'te sunulmuştur.

Tablo 5. Kurutulmuş *P. spicata* bitkisinin ICP-OES ile elde edilen element değerleri

Bölge	Element konsantrasyonu (mg L ⁻¹)					
	As	Be	Cd	Co	Cr	Cu
Üzümlük	*	*	*	0.02	0.18	0.23
	Mg	Mn	Mo	Na	Ni	Pb
	136.80	2.0	*	442.50	0.38	0.07
	Ti	V	Zn	Fe	K	Li
	0.17	0.07	0.7	28.75	255.10	0.15
	Sb	Se	Sr	0.01	*	*
Gölgelikonak	As	Be	Cd	Co	Cr	Cu
	*	*	*	0.05	0.34	0.39
	Mg	Mn	Mo	Na	Ni	Pb
	216.60	3.04	*	513.10	0.69	0.40
	Ti	V	Zn	Fe	K	Li
	0.29	0.13	0.46	69.11	314.80	0.32
Sb	Se	Sr	0.02	*	*	

*Miktarı tespit edilememiştir.

Tablo 5'te belirtildiği üzere Üzümlük ve Gölgelikonak *P. spicata* bitkisinin makro element derişimleri sırasıyla, 442.50 mg L⁻¹Na, 255.10 mg L⁻¹ K, 136.80 mg L⁻¹ Mg, ve 513.10 mg L⁻¹Na, 314.80 mg L⁻¹ K, 216.60 mg L⁻¹ Mg olarak tespit edilmiş ve her iki bölge için bu derişimlerin Na>K>Mg sırasında olduğu belirlenmiştir.

4. Değerlendirme ve Sonuç

Bitkiler, içerdikleri aktif bileşikler (flavonoid, alkaloid,terpenoid, tanen, berberin, kinin) nedeniyle birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır [14]. Yapılan kaynak taramasında

Plumbaginaceae familyasına ait bitkilerin fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesinin araştırıldığı kısıtlı sayıda çalışmaya rastlanılmıştır.

Bu çalışma kapsamında *P.spicata* bitkisine ait metanol ekstraktlarının antioksidan aktivite ve toplam fenolik içeriği tespit edilmiş, ayrıca bitki toksisitesini etkileyen metal içerik analizleri de yapılmıştır. Fidan'ın 2018 yılında yaptığı çalışmada Siirt Akdoğmuş tuzlu bölgesinden topladığı aynı tür bitkinin etanol ve su ekstraktlarındaki toplam fenolik değerleri sırasıyla 30.65 ve 6.39 mg mL⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda farklı bir çözücü (%80 metanol) kullanılmış ve elde edilen değerler 73.0 (Üzümlük) ve 49.5 (Gölgelikonak) mg mL⁻¹ şeklindedir. Bu değer çalışılan bitki örneğinin önemli bir fenolik bileşik kaynağı olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Fidan (2018)'in çalışmasında antioksidan aktiviteyi %DPPH bakımından %93.91 (etanol) ve %41.73 (su) olarak tespit ederken çalışmamızda yaklaşık %80 (metanol) olarak tespit edilmiştir. Bu değer, çalışılan bitkinin serbest radikal süpürme aktivitesi açısından önemli olduğunu göstermektedir.

Tıbbi bitki ve formülasyonlarının mineral ve eser element içerikleri yaşamsal organların düzgün işleyişinde önemli rol oynarken tahmini güvenli günlük alım miktarının üzerinde toksik olabilmektedir. Bu sebeple element içeriklerinin tespiti ile ilgili çalışmalar sıklıkla yapılmalıdır. Bu çalışmayla Siirt ilinin iki bölgesinden (Üzümlük ve Gölgelikonak) toplanan Plumbaginaceae familyasının bir türü olan *P.spicata* tuzcul alan bitkisinin toprak üstü kısımlarındaki 21 elementin (Na, K, Mg, Fe, As, Be, Cd, Cr, Cu, Co, Mn, Li, V, Mo, Ni, Sb, Ti, Pb, Sr, Se ve Zn) konsantrasyonu ICP-OES cihazı ile belirlenmiştir (Tablo 5). Element analiz sonuçları farklı coğrafi bölgelerde yetişen aynı şifalı bitki türlerinin farklı seviyelerde metal biriktirdiğini göstermiştir. Bunun yanı sıra bazı element içeriklerinin Türk Gıda Kodeksi ve WHO/FAO'nun meyve/sebze ve bazı gıdalarda izin verilen değerlerin Fe (200 mg kg⁻¹), Zn (5-50 mg kg⁻¹), Cr (2 mg kg⁻¹), Co (0.02-1 mg kg⁻¹), Cu (10 mg kg⁻¹), Pb (10 mg kg⁻¹) [15,16] altında kaldığı belirlenirken kadmiyum ve arsenik tespit edilememiştir.

Bu sonuçlar değerlendirildiğinde çalışılan bitkinin önemli bir antioksidan kaynağı olduğu ve içerdiği ağır metal içerik bakımından toksik etki yaratmayacağı söylenebilir.

Teşekkür

Bu çalışma Siirt Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri 2013-SİÜFED-F1 nolu proje ile desteklenmiştir.

Referanslar

- [1] K. Kubitzki, "Flowering Plants Dicotyledons. The Families and Genera of Vascular Plants", Germany: Springer, 2004.
- [2] M.D. Lledó, M.B. Crespo, M.F. Fay, M.W. Chase", Molecular phylogenetics of limonium and related genera (Plumbaginaceae): Biogeographical and systematic implications," Am. J. Bot, vol. 92, no 7, pp. 1189–98, 2005.
- [3] M. Fidan, "Assessment of biological activity and element analysis of *Psylliostachyspicata* (Willd.) Nevski", J. Anim. Plant Sci. Vol. 28, no 6, pp. 1635-1640, 2018.
- [4] A. Güner, S. Aslan, T. Ekim, M. Vural, M.T. Babaç, "Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). İstanbul, Turkey: Flora Araştırmaları Derneği ve Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayını", 2012.
- [5] F. Celep, O. Karabacak, M. Malekmohammadi, M. Fidan, M. Doğan, "First record of *Psylliostachys Spicata* (Plumbaginaceae), confirmation of *Salvia Pratensis* (Lamiaceae) from Turkey, and taxonomic status of *Salvia Ertekinii*", Turk. J Bot, vol. 40, no 2, pp. 226–30, 2016.

- [6] D.S. Fabricant, N.R. Farnsworth, "The value of plants used in traditional medicine for drug discovery", *Environ. Health Perspect*, vol: 109, no. 1, pp. 69–75, 2001.
- [7] N. Sahoo, P. Manchikanti, S. Dey, "Herbal drugs: standards and regulation", *Fitoterapia*, vol: 81, no. 6, pp. 462–471, 2010.
- [8] World Health Organization (WHO). *Traditional Medicine Strategy (2002–2005)*. World Health Organization. Geneva. Switzerland. 2002.
- [9] E. Ernst, "Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines", *Trends Pharmacol. Sci*, vol: 23, no. 3: pp. 136–139, 2002.
- [10] Global Biodiversity Information Facility (GBIF), URL: <https://www.gbif.org/species/7422531> (Erişim zaman; 24.12.2018).
- [11] L. Su, J.J. Yin, D. Charles, K. Zhou, J. Moore, L.L. Yu, "Total phenolic contents chelating capacities and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf", *Food Chem.* vol: 100, no. 3, pp. 990-997, 2007.
- [12] M.S. Blois, "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical", *Nature*. vol: 181, no. 4617, pp. 1199-1200, 1958.
- [13] U. Yüksel, I. Tegin, R. Ziyadanogullari, R. 2017. "Recovery of copper and cobalt from copper slags as selective", *J. Environ. Sci. Eng*, vol: 6, no. 8, pp. 388–94, 2017.
- [14] H. Tariq, M. Arshad, S. Khan, H. Sattar, M.S. Qureshi, "In vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity", *Pak. J Bot*, vol: 43,no.1, pp. 531-38, 2011.
- [15] World Health Organization, *WHO Guidelines for Assessing Quality of Herbal Medicines with Reference to Contaminants and Residues*, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2006.
- [16] World Health Organization (WHO), *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2005.