

İki *Ononis* Türünün Antioksidan Aktivitelerinin Karşılaştırılması

Cengiz SARIKÜRKÜ¹, Mustafa CENGİZ^{2*}, Zafer ÇOMAK², Gökhan ZENGİN³, Abdurrahman AKTÜMSEK³

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, 32260, Isparta

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 32260, Isparta

³Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 42030, Konya

(Alınış / Received: 11.03.2016, Kabul / Accepted: 04.05.2016, Online Yayınlanma / Published Online: 06.06.2016)

Anahtar Kelimeler

Ononis,
Antioksidan,
Serbest radikal,
Fenolik,
Türkiye

Özet: *Ononis* türleri Anadolu geleneksel halk hekimliğinde çeşitli rahatsızlıklar için kullanılmaktadır. Bu çalışmada, iki *Ononis* türünden (*O. pubescens* ve *O. ornithopodioides*) elde edilen iki özütün (etil alkol ve su) antioksidan aktivite araştırıldı. Antioksidan etkiler serbest radikal (DPPH ve O₂·), β-karoten ağartma yöntemi, indirgeme gücü ve metal şelatlama testleri içeren farklı test sistemleri ile değerlendirildi. Ayrıca, her bir özüt için toplam fenolik ve flavonoid miktarı da hesaplandı. Toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı gibi antioksidan aktivite de kullanılan çözücüyle güçlü bir ilişki göstermektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar *Ononis* türlerinin gıda ve farmasötik uygulamalarda doğal ajanların bir kaynağı olarak faydalı olabileceğini göstermiştir.

Comparison of Antioxidant Activities of Two *Ononis* Species

Keywords

Ononis,
Antioxidant,
Free radical,
Phenolics,
Turkey

Abstract: *Ononis* species are used for several ailments in Anatolian folk medicine. In this work, we investigated antioxidant properties of two solvent extracts (ethyl alcohol and water) from two *Ononis* species (*O. pubescens* and *O. ornithopodioides*). Antioxidant activities were evaluated by different test systems including free radical scavenging (DPPH and O₂·), β-carotene bleaching method, reducing power and metal chelating. Also, total phenolic and flavonoid contents were calculated for each extract. Antioxidant properties were strongly dependent upon the solvent used for extraction such as total phenolics and flavonoids. Results obtained in this work indicate that the *Ononis* species may be useful as a source of natural agents in food and pharmaceutical applications.

1. Giriş

Aerobik organizmalarda oksijenli solunumun doğal bir sonucu olarak serbest radikal olarak adlandırılan bir grup bileşik meydana gelmektedir. Serbest radikaller, atomik veya moleküler yapılarda çiftleşmemiş elektronlara sahip moleküller olarak tanımlanır. Bu moleküller oldukça reaktif olup en önemli grubunu reaktif oksijen türleri oluşturmaktadır. Reaktif oksijen türleri biyomoleküller ile kolaylıkla reaksiyona girerek onlarda zararlı etkiler meydana getirebilir. DNA'nın hasarı da kanser riskini arttırmaktadır. Reaktif oksijen türleri özellikle kanserin ilerleme aşamasında rol oynar [1]. Canlılarda, reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği zararları ortadan kaldırmak için çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları mevcuttur [1,2]. Ancak bu sistemler yetersiz kalırsa bu durumda diyetle antioksidanların alımı büyük

önem taşır [3]. Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini azaltırlar veya ortadan kaldırırlar. Antioksidan bileşikler sadece insan sağlığı açısından değil ayrıca gıda endüstrinde raf ömrünün uzatılmasında da büyük rol oynarlar. Bu duruma bağlı olarak gıdaların işlenmesi sırasında bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve propilgallat (PG) gibi çok sayıda sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda bu antioksidanların bazı toksik yan etkilere sahip oldukları belirtilmiştir [4]. Bu sebeple, tüketiciler tercihlerini doğal ürünlere yöneltmiş ve işlenmiş gıdalarda da sağlık, kalite ve güvenlik arayışlarını ön plana çıkarmıştır. Doğal biyoaktif bileşiklerle ilgilenen özellikle farmasötik ve gıda endüstrilerinden gelen talep üzerine, doğal bileşiklerin antioksidan aktiviteleri araştırmacılar tarafından yoğun şekilde çalışılmaktadır. Bitkiler, antioksidan aktivite gösteren çeşitli sekonder

metabolitleri içermektedir. Özellikle bitkisel polifenoller, serbest radikal süpürme, lipid peroksidasyonunu engelleme ve metal şelatlama gibi birçok antioksidan özelliklere sahiptir [5]. Birçok araştırmada bazı bitki türlerinin yüksek seviyede kanseri ve kardiyovasküler hastalıkları önlediği bildirilmiştir. Bu bitkilerin kimyasal bileşimlerinde özellikle polifenoller ve vitaminler gibi antioksidan özellik gösteren bileşiklerin yüksek düzeylerde bulunduğu tespit edilmiştir [6]. Bu bakımdan gıda ve ilaç endüstrisi için antioksidan kapasiteleri üzerine herhangi bir çalışma bulunmayan bitkilerin araştırılması ve bunların önemlerinin ortaya konması büyük önem taşımaktadır.

Ononis cinsi ülkemizde 17 tür ile temsil edilmektedir. Cins üyeleri "kayışkıran, kayık çiçeği, yandak, yandakta veya yantak gibi isimlerle bilinmektedir. Bu cins üyeleri Anadolu geleneksel halk hekimliğinde deri hastalıkları, gut ve inflamasyon gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır [7,8]. Halk hekimliğinde bu denli yoğun kullanımları *Ononis* türleri üzerine olan ilgiyi artırmış ve bu cins üyeleri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır [9-11]. Bu çalışmanın temel amacını iki *Ononis* taksonun antioksidan özelliklerini farklı test sistemleri kullanılarak ortaya koymak ve çeşitli endüstriler (gıda ve ilaç) için bir hammadde kaynağı olup olmayacağına değerlendirilmesi oluşturmaktadır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bitkisel materyal

Bu çalışmada değerlendirilen iki *Ononis* türü örnekleri aşağıdaki lokalitelerde doğal ortamlarından toplandı ve gölgede kurutulduktan sonra botanik tanımlamaları Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Botanik Ana Bilim Dalı Öğretim elemanı Dr. Olcay CEYLAN tarafından yapıldı. Bitkilerin kurutulmuş toprak üstü kısımları ev tipi parçalayıcı ile parçalanarak öğütüldü ve analize hazır hale getirildi.

1. *Ononis pubescens* L.. Kavaklıdere ilçesi, Nebiler Kuyualan köyü arası 1. km., *P. brutia* açıklığı, 1050 m, 2013 (Herbaryum No: MUH 1154).
2. *Ononis ornithopodioides* L.. Kuşadası-Aydın, 100 m, 2013 (Herbaryum No: MUH 1164).

2.2. Çözücü Özütlerinin Elde Edilmesi

Etil alkol özütü, 10 g öğütülmüş bitki örneklerinin 200 ml etanol ile oda sıcaklığında 24 saat süre ile çalkalamalı inkübatörde karıştırılması ile elde edildi. Bu işlem aynı şartlarda iki kez daha tekrarlandı ve etanol 50 °C'de rotary evaporator kullanılarak uzaklaştırıldı.

Su özütlerinde ise 10 g öğütülmüş bitki örnekleri 300 ml kaynar su ile 15 dk karıştırıldı ve bu işlemi takiben liyofilize edildi (-80 °C, 48 saat). Elde edilen özütlerin verimleri Tablo 1'de verildi.

2.3. Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde kullanılan yöntemler

Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde β -karoten-linoleik asit emülsiyon test sistemi, DPPH radikal süpürme aktivitesi, süperoksit anyon giderimi, indirgeme gücü ve metal şelatlama testleri kullanıldı. Ayrıca her bir özüt için toplam fenolik ve flavonoid içerik hesaplandı. Bu testler için kullanılan prosedürler bir önceki çalışmamızda rapor edildiği gibidir [12].

3. Bulgular ve Tartışma

İki *Ononis* türüne ait toplamda dört özütün toplam fenolik ve flavonoid içerikleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Sonuçlara göre en yüksek fenolik içerik *O. pubescens*'e ait etil alkol özütünde gözlenmiştir. Bunu yine *O. Ornithopodioides* etil alkol özütü izlemektedir. Her iki bitkinin su özütleri fenolik içerik bakımında etil alkol özütüne kıyasla daha fakirdir. Toplam flavonoid miktarı bakımından çalışılan etil alkol özütleri oldukça zengindir. Flavonoid içerik bakımından en fakir özüt *O. pubescens* su özütüdür (6.26 mg QEs/g özüt).

β -karoten/linoleik ağartma yöntemi bitki özütlerinin linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme yeteneğini ortaya koyması bakımında oldukça önemli bir testtir. Bu testin sonuçları bitkisel özütlerin yağlı gıdalarının raf ömrünü uzatmak için kullanılabilirliğini hakkında bir fikir vermektedir. Çalışılan *Ononis* özütlerinin linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme yetenekleri Tablo 1'de gösterilmiştir. En yüksek inhibisyon yeteneği *O. pubescens*'e ait su özütünde gözlenmiş bunu yine *O. ornithopodioides*'e ait su özütü takip etmektedir. Ayrıca bu su özütleri sentetik antioksidan olan BHT'den daha güçlü etkinlik sergilemiştir. Bu durum çalışılan *Ononis* türlerinin gıda katkı maddesi olarak değerlendirilmesinde önemli bir parametre olarak düşünülebilir.

Antioksidan kapasite üzerine yapılan çalışmalarda en yaygın kullanılan radikallerin başında DPPH gelir. Metodun kolaylığı, doğruluğu ve bitkisel özütlerden saf kimyasal maddelere kadar geniş bir yelpazede uygulanabilmesi metodun sıklıkla kullanılmasına yol açmaktadır. Metodun temelinde bitkisel özütlerin stabil ve mor renkli bir radikal olan DPPH'a hidrojen veya elektron aktarması ile rengin koyuluğunun azalması ve bu durum spektrofotometrik olarak incelenmesi yer alır. Çalışmamızda kullanılan özütlerin DPPH giderme aktiviteleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Açık bir şekilde DPPH giderim aktivitesi konsantrasyona bağlı olarak değişim göstermektedir. Tüm konsantrasyonlarda her iki

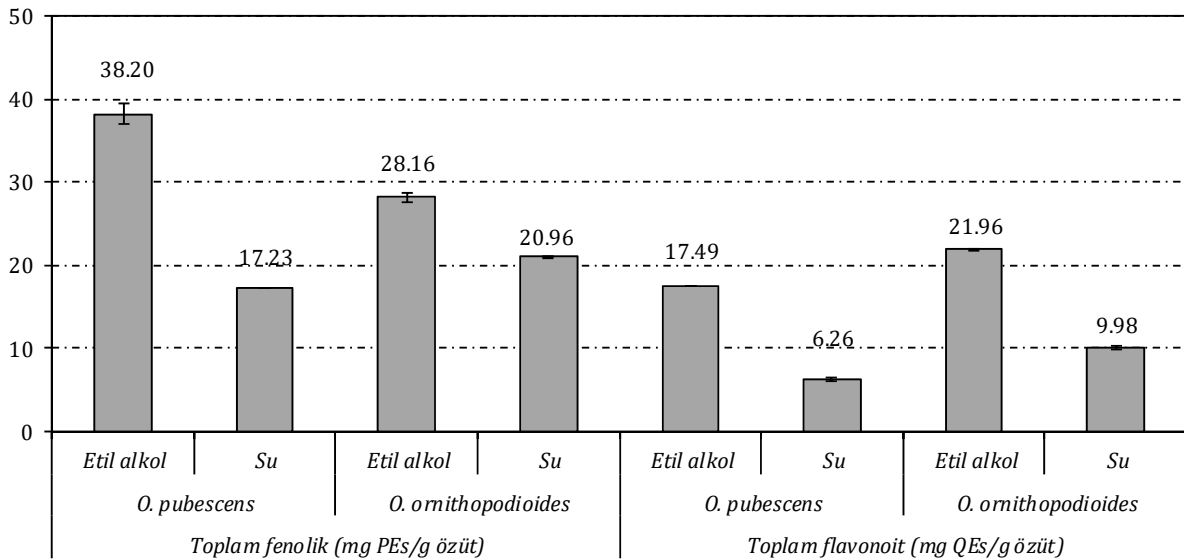
Ononis türü içinde su özütü etil alkol özütüne kıyasla daha güçlü etkinlik sergilemiştir. En güçlü etkinlik *O. ornithopodioides*' e ait su özütünde tespit edilmiştir. Bununla birlikte standart olarak kullanılan BHT, tokoferol ve kuarsetin oldukça düşük konsantrasyonda bile oldukça güçlü aktivite sergilemiştir. Çalışmamız sonuçlarını destekler nitelikte bitkisel özütler üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda DPPH radikali giderme aktivitesi açısından su özütleri oldukça yüksek etkinliğe sahiptirler [13,14].

İndirgeme gücü antioksidan kapasitenin değerlendirilmesinde oldukça önemli bir parametredir ve bitkisel özütlerin elektron verme yeteneğini göstermektedir. Tablo 2 çalışılan *Ononis* özütlerinin indirgeme potansiyellerini göstermektedir. İndirgeme potansiyeli konsantrasyona bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Genel itibariyle çalışılan özütlerin indirgeme güçleri birbirlerine oldukça yakınlık göstermektedir. 2 mg/ml konsantrasyonda en güçlü aktivite *O. pubescens*'e ait etil alkol özütünde gözlenmiş olup bunu *O. ornithopodioides*'e ait su özütü izlemiştir. Çalışılan standart antioksidan maddeler ise düşük derişimde bile *Ononis* özütlerinden daha güçlü etkinlik sergilemişlerdir.

Süperoksit anyon radikali oksijenden türelenen ilk radikal olması ve ilerleyen basamaklarda hidroksil radikalinin oluşumuna yol açması bakımından önemli

bir konumdur. Bu noktadan hareketle süperoksit radikalinin miktarının azalması devamında gelecek zararlı etkilerin önüne geçecektir. *Ononis* özütlerinin süperoksit süpürme yetenekleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Tüm konsantrasyonlarda çalışılan özütlerin etkin bir süperoksit giderim potansiyeline sahip oldukları gözlenmiştir. Özellikle 1.5 mg/ml konsantrasyonda *O. pubescens*'e ait etil alkol ve *O. ornithopodioides*'e ait su özütü sırasıyla %88.06 ve %85.54 oranında süperoksit giderim kapasitesine sahiptir. Standart olarak kullanılan kuarsetin ise 0.5 mg/ml konsantrasyonda %81.01 oranında süperoksit giderme etkisi sergilemiştir.

Geçiş metalleri özellikle Fenton ve Haber-Weiss tepkimelerinde bir katalizör gibi rol alarak serbest radikaller arasında en tehlikelilerinden olan hidroksil radikalinin üretimine katkı sağlarlar. Bu bağlamda geçiş metallerinin bağlanması olarak nitelendirilen şelatlama antioksidan parametreler arasında oldukça önemli bir konumdur. Bu amaçla çalışmamızda özütlerin demir şelatlama kapasitesi ferrozin test sistemi kullanılarak araştırılmıştır (Şekil 2). Şelatlama yeteneği bakımından su özütleri bariz bir şekilde etil alkol özütlerine kıyasla daha güçlü şelatlama kapasitesine sahiptir. Ek olarak çalışılan tüm özütler standartlardan daha güçlü etkinlik sergilemişlerdir. Birçok çalışmada su özütleri diğer özütlerle kıyasla daha etkin şelatlama özelliği göstermiştir [15,16].



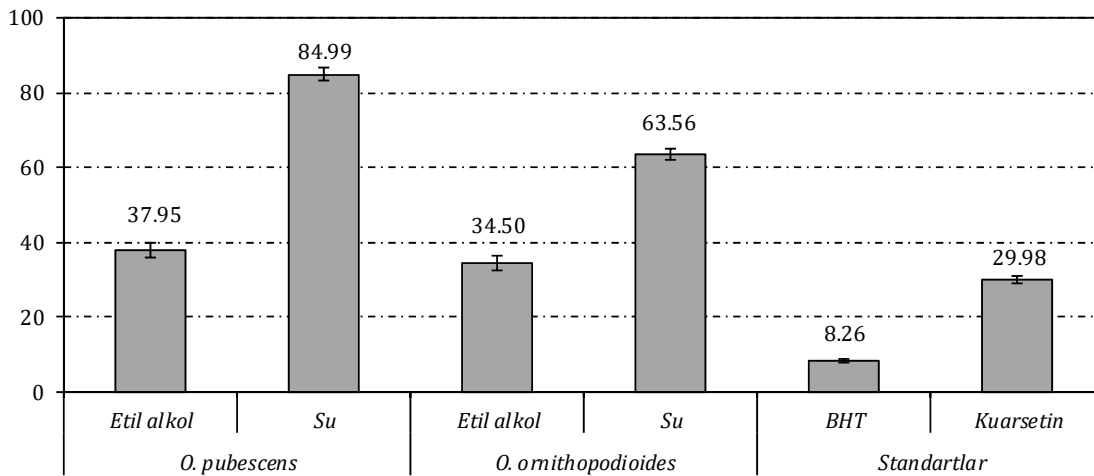
Şekil 1. İki *Ononis* bitkisi çözücü özütlerinin Toplam fenolik ve flavonoit bileşik miktarları (Değerler üç paralel ölçümün ortalamasıdır)

Tablo 1. İki *Ononis* bitkisi özütlerinin β -karoten-linoleik asit sistemindeki antioksidan kapasiteleri, DPPH radikal süpürme aktiviteleri ve özüt verimleri

Örnekler	Özüt verimi (%)	Toplam antioksidan aktivite (%) ^b	DPPH radikal süpürme aktivite (%)				
			Derişim (mg)				
			0.2	0.4	0.8	2.0	
<i>O. pubescens</i>	Etil alkol	10.02	83.48±0.56 ^a	5.80±0.20	12.20±1.62	22.35±0.96	48.30±1.13
	Su	13.81	98.12±0.78	6.12±0.02	14.12±1.10	27.60±2.16	63.31±2.00
<i>O. ornithopodioides</i>	Etil alkol	10.84	89.86±1.02	4.02±0.02	9.26±1.08	16.90±1.13	39.12±0.23
	Su	19.69	97.10±0.14	6.43±0.64	14.60±0.17	30.04±1.46	68.92±1.14
Standartlar	BHT	-	95.36±0.32	34.54±0.40	-	-	-
	α -Tokoferol	-	-	94.03±0.24	-	-	-
	Kuarsetin	-	-	94.09±0.04	-	-	-

^a Değerler üç paralel ölçümün ortalamasıdır^b 2 mg/ml derişimde**Tablo 2.** İki *Ononis* bitkisi çözücü özütlerinin ve standartların indirgeme gücü potansiyelleri ve süperoksit anyon radikal süpürme aktiviteleri

Örnekler		İndirgeme gücü (700 nm'deki absorbans)			Süperoksit anyon radikal (%)		
		Derişim (mg)			Derişim (mg)		
		0.4	0.8	2.0	0.5	1.0	1.5
<i>O. pubescens</i>	Etil alkol	0.256±0.00 ^{a6}	0.374±0.008	0.645±0.007	66.73±0.52	80.33±0.25	88.06±0.25
	Su	0.235±0.001	0.313±0.008	0.554±0.048	69.58±0.84	76.93±1.03	80.55±0.93
<i>O. ornithopodioides</i>	Etil alkol	0.226±0.001	0.299±0.013	0.546±0.008	21.05±0.92	42.00±1.43	53.13±0.79
	Su	0.244±0.007	0.377±0.030	0.626±0.004	75.94±1.23	84.54±0.74	85.54±1.27
Standartlar	BHT	0.944±0.033	-	-	-	-	-
	α -Tokoferol	0.894±0.032	-	-	-	-	-
	Askorbik asit	1.639±0.081	-	-	-	-	-
	Kuarsetin	-	-	-	81.01±0.01	-	-

^a Değerler üç paralel ölçümün ortalamasıdır.**Şekil 2.** İki *Ononis* bitkisi çözücü özütlerinin ve standartların metal şelatlama kapasiteleri (%) (Değerler üç paralel ölçümün ortalamasıdır)

4. Sonuç

Çalışmamızın sonuçları tümüyle değerlendirildiğinde çalışılan *Ononis* türlerinin antioksidan özelliklerinin kullanılan çözücüye bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Yapılan testlerin sonuçlarına göre çalışılan türlerin güçlü antioksidan özelliklere sahip oldukları söylenebilir. Bu bağlamda mevcut çalışma ile çalışılan *Ononis* türleri gıda ve ilaç endüstrisinde doğal biyolojik ajanların bir kaynağı olarak etkin bir şekilde kullanılabilceği sonucuna ulaşılmıştır.

Teşekkür

Yazarlar bu çalışmayı maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna (Proje No: 4485-YL1-15) teşekkür eder.

Kaynakça

- [1] Hsu, T.Y., Sheu, S.C., Liaw, E.T., Wang, T.C., Lin, C.C. 2005. Antioxidant Activity and Effect Of *Pinus morrisonicola* on the Survival of Leukemia Cell Line U937. *Phytomedicine*, 12, 663–669.
- [2] Salvatore, S., Pellegrini, N., Brenna, O.V., Del Rio, D., Frasca, G., Brighenti, F., Tumino, R. 2005. Antioxidant Characterization of Some Sicilian Edible Wild Greens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9465–9471.
- [3] Espin, J.C., Soler-Rivas, C., Wichers, H.L. 2000. Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil Fractions Using 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 648–656.
- [4] Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T., Tatematsu, M. 1986. Studies on Antioxidants: Their Carcinogenic and Modifying Effects on Chemical Carcinogenesis. *Food and Chemical Toxicology*, 24, 1071-1082.
- [5] Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B. 1995. The Relative Antioxidant Activities of Plant Derived Polyphenolic Flavonoids. *Free Radical Research*, 22, 375–383.
- [6] Block, G., Patterson, B., Subar, A. 1992. Fruit, Vegetables, and Cancer Prevention: A Review of the Epidemiological Evidence. *Nutrition Cancer*, 18, 1–29.
- [7] Liebezeit, G. 2008. Ethnobotany and Phytochemistry of Plants Dominant in Salt Marshes of the Lower Saxonian Wadden Sea, Southern North Sea. *Senckenbergiana Maritima*, 38, 1–30.
- [8] Süntar, İ. Baldemir, A., Coşkun, M., Keleş, H., Akkol, E.K. 2011. Wound Healing Acceleration Effect of Endemic *Ononis* Species Growing in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(1), 63-70.
- [9] Orhan, D.D., Özçelik, B., Hoşbaş, S., Vural, M. 2012. Assessment of Antioxidant, Antibacterial, Antimycobacterial, and Antifungal Activities of Some Plants Used as Folk Remedies in Turkey Against Dermatophytes and Yeast-Like Fungi. *Turkish Journal of Biology*, 36, 672-686.
- [10] Ghribi, L., Waffo-Téguo, P., Cluzet, S., Marchal, A., Marques, J., Mérillon, J.M., Jannet. H.B. 2015. Isolation and Structure Elucidation of Bioactive Compounds from the Roots of the Tunisian *Ononis angustissima* L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 3825-3830.
- [11] Yousaf, M., Al-Rehaily, A. J., Ahmad, M.S., Mustafa, J., Al-Yahya, M.A., Al-Said, M.S. Khan, I.A. 2015. A 5-Alkylresorcinol and three 3,4-Dihydroisocoumarins Derived from *Ononis natrix*. *Phytochemistry Letters*, 13, 1-5.
- [12] Sarikurkcu, C., Zengin, G., Aktumsek, A., Ceylan, R., Sanda, M.A., 2015. *Onopordum anatolicum* Tohumlarının Antioksidan Aktiviteleri. *Selcuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 41, 89-96.
- [13] Costa, R.M., Vaz, A.F., Xavier, H.S., Correia, M.T., Carneiro-da-Cunha, M.G. 2015. Phytochemical Screening of *Phthirusa pyrifolia* Leaf Extracts: Free-radical Scavenging Activities and Environmental Toxicity. *South African Journal of Botany*, 99, 132-137.
- [14] Uysal, S., Zengin, G., Aktumsek, A., Karatas, S. 2016. Chemical and Biological Approaches on Nine Fruit Tree Leaves Collected from the Mediterranean Region of Turkey. *Journal of Functional Foods*, 22, 518-532.
- [15] Wang, T., Jonsdottir, R., Ólafsdóttir, G. 2009. Total Phenolic Compounds, Radical Scavenging and Metal Chelation of Extracts from Icelandic Seaweeds. *Food Chemistry*, 116, 240-248.
- [16] Navanesan, S., Wahab, N.A., Manickam, S., Sim, K.S. 2015. Evaluation of Selected Biological Capacities of *Baeckea frutescens*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 186.