



**YILDIZ ANASONU EKSTRAKLARININ NADES (DOĞAL DERİN
ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜ) ve MASERASYON YÖNTEMLERİ KULLANILARAK
HAZIRLANMASI, EKSTRELERİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN ve
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Bilge ELİGÜL

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Ana Bilin Dalı

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. Hülya AKINCIOĞLU

OCAK-2025 AĞRI



T.C.

**AĞRI İBRAHİM ÇEÇEN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ KİMYA ANABİLİM DALI**

Bilge ELİGÜL

**YILDIZ ANASONU EKSTRAKLARININ
NADES (DOĞAL DERİN ÖTEKTİK
ÇÖZÜCÜ) ve MASERASYON
YÖNTEMLERİ KULLANILARAK
HAZIRLANMASI, EKSTRELERİN
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN ve
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. Hülya AKINCIOĞLU

AĞRI- 2025

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

	LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI	Doküman No	FR-211
		İlk Yayın Tarihi	26.02.2024
		Revizyon Tarihi	
		Revizyon No	00
		Sayfa No	1/1

YILDIZ ANASONU EKSTRAKLARININ NADES (DOĞAL DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜ) ve MASERASYON YÖNTEMLERİ KULLANILARAK HAZIRLANMASI, EKSTRELERİN ANTiOKSiDAN AKTİVİTELERİNİN ve BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Prof. Dr. Hülya AKINCIOĞLU danışmanlığında, Bilge ELİGÜL tarafından hazırlanan bu çalışma, 30/01/2025 tarihinde aşağıda isimleri belirtilen jüri tarafından değerlendirilmiş olup Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Dalında yüksek lisans tezi olarak **oybirliği(3/3)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Veysel ÇOMAKLI İmza:

Üye : Prof. Dr. Hülya AKINCIOĞLU İmza:

Üye : Doç. Dr. Namık KILINÇ İmza:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu .../.../... tarih ve / numaralı kararı ile onaylanmıştır.

.....
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

HAZIRLAYAN	KONTROL EDEN	ONAYLAYAN
-------------------	---------------------	------------------

BENZERLİK

Benzerlik Oranlarına Dair Beyannamedir		
Öğrenci Adı Soyadı	BİLGE ELİGÜL	
Numarası	226052323	
Ana Bilim Dalı	KİMYA	
Bilim Dalı	BİYOKİMYA	
Programı	TEZLİ YÜKSEK LİSANS	
Danışman Unvanı Adı Soyadı	Prof. Dr. HÜLYA AKINCIOĞLU	
Tez Başlığı	YILDIZ ANASONU EKSTRAKLARININ NADES (DOĞAL DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜ) ve MASERASYON YÖNTEMLERİ KULLANILARAK HAZIRLANMASI, EKSTRELERİN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN ve BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ	
Bölümler	Turnitin Sonucu	En Yüksek Değer
Giriş	%12	% 25
Kuramsal Temeller/Kavramsal Çerçeve	%9	% 30
Materyal ve Yöntem	%25	% 30
Araştırma Bulguları	%17	% 20
Sonuç/Tartışma/Öneri	%18	% 20
TEZ (GENEL)	%21	% 25

11/03/2025

Yukarıda bilgileri yazılı tez çalışmasının benzerlik oranları Turnitin raporundan alındığı haliyle yazılmış olup tüm bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

İmza

Bilge ELİGÜL

İmza

Hülya AKINCIOĞLU

ETİK VE BİLDİRİM SAYFASI

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına atıf yapıldığını bildiririm.



İmza
Bilge ELİGÜL

Tarih

KABUL VE ONAY TUTANAĞI	iv
BENZERLİK	v
ETİK VE BİLDİRİM SAYFASI	vi
ÖZET	3
ABSTRACT	4
ÖNSÖZ	5
TABLolar LİSTESİ.....	6
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	7
KISALTMALAR LİSTESİ	8
BİRİNCİ BÖLÜM	1
1.GİRİŞ	1
1.1.Enzimler	1
1.2.Enzim İnhibisyonu	3
1.3. Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütilkolinesteraz (BChE).....	4
1.4. Antioksidanlar.....	5
1.5. Antioksidanların Metabolizmadaki Etkisi	8
1.6. Antioksidan Tayin Yöntemleri	9
1.7.Yıldız anason (<i>illicium verum</i>)	10
1.8. Trans-anetol	11
1.9. DES ve NADES	13
1.10. Çalışmanın Amacı	16
İKİNCİ BÖLÜM	17
2. KAYNAK ÖZETLERİ	17
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM.....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM	20
3. 1. Materyal.....	20
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	20
3.1.2. Yararlanılan Aletler ve Cihazlar.....	20
3.1.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması.....	21
3.1.3.1. Enzim Tayininde Kullanılan Çözeltiler	21
3.1.3.2.Antioksidan Tayininde Kullanılan Çözeltiler	22
3.1.3.3. Mesarasyon Yöntemi ile İlgili Hazırlanan Ekstreler	23
3.1.3.4. NADES Çözeltilerinin Hazırlanması.....	23
3.2. Yöntem	24

3.2.1. Enzim İnhibisyonu Çalışmaları	24
3.2.2. Antioksidan Çalışmaları	25
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	27
4.1. İnhibisyon Çalışmalarına İlişkin Araştırma Bulguları	27
4.1.1. Yıldız Anason (<i>illicium verum</i>) Ekstrelerinin AChE Enzimi Üzerine İnhibisyon Çalışmaları	27
4.1.2. Yıldız anason (<i>illicium verum</i>) Ekstrelerinin BChE Enzimi Üzerine İnhibisyon Çalışmaları	30
4.2. Antioksidan Çalışmalar ile İlgili Araştırma Bulguları	33
4.2.1. ABTS Radikal giderme aktivesi bulguları	33
4.2.2. DPPH Serbest radikal aktivesi bulguları	35
4.2.3. Cu ⁺² -Cu ⁺ indirgeme kuvveti (Kuprak metodu) bulgular	37
BEŞİNCİ BÖLÜM.....	41
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	41
KAYNAKÇA.....	50
ÖZGEÇMİŞ	63

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bilge ELİĞÜL

**YILDIZ ANASONU EKSTRAKLARININ NADES (DOĞAL DERİN
ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜ) ve MASERASYON YÖNTEMLERİ KULLANILARAK
HAZIRLANMASI, EKSTRELERİN ANTiOKSiDAN AKTİVİTELERİNİN ve
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hülya AKINCIOĞLU

Çalışmada Yıldız anason (*illicium verum*) ile hazırlanan ekstrelerin ve *trans*-anetol'ün antioksidan ve biyolojik aktiviteleri belirlenmiştir. Biyolojik aktivitelerin belirlenme sürecinde maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstreler kullanıldı. Ardından Ellman metodu kullanarak bu ekstrelerin ve *trans*-anetol'un Asetilkolinesteraz (AChE) ve Butirilkolinesteraz (BChE) üzerine inhibisyon etkileri araştırıldı ve her bir ekstre ve *trans*-anetol için IC₅₀ değerleri hesaplandı. AChE enzimi için en iyi inhibisyon etkiyi yıldız anason metanol (YAM) (IC₅₀:237,15 µg/mL) gösterirken, BChE enzimi için en iyi inhibisyon etkiyi ise yıldız anason aseton (YAA) (IC₅₀:150,98 µg/mL) ektresi gösterdi.

Çalışmanın devamında antioksidan ve radikal giderme kapasitelerinin değerlendirilmesi için NADES ve maserasyon yöntemleri ile elde edilen Yıldız anason (*illicium verum*) ile hazırlanan ekstreleri kullanıldı. Bu iki metot ile hazırlanan Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrelerinin ve *trans*-anetol'un, antioksidan kapasitesini değerlendirmek için, Fe⁺³ indirgeme kapasitesi, KUPRAK metodu ile kuprik iyonları (Cu⁺²) indirgeme kapasitesi, 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil serbest radikal (DPPH·) giderme, 2,2'-azino-bis(3-etilbenztiyoazolin-6-sülfonik asit) radikal (ABTS⁺) giderme aktivitesi çalışıldı. Çalışmalar sırasında BHA, BHT, α-tokoferol, troloks standart antioksidan olarak kullanıldı ve kıyaslamalar bu dört standart yapıldı. ABTS radikal giderme aktivitesi sonuçlarına bakıldığında NADES-CA (IC₅₀:5,02 µg/mL) diğer ekstrelerle oranla daha yüksek antioksidan aktivite gösterirken DPPH radikal gidermede NADES-CA (IC₅₀:11,59 µg/mL) ekstresi yine en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterdi. Fe⁺³ indirgeme kuvvetinin sonuçları incelendiğinde NADES-G en yüksek Fe⁺³ indirgeme kuvveti gösterirken, KUPRAK metodu ile yapılan çalışmada da yine NADES-G en iyi indirgeme kuvveti göstermiştir. Çalışma sonucunda *trans*-anetol'un antioksidan kapasitesi ise hem NADES çözeltilerinden hem de standartlardan daha düşük çıktığı gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yıldız Anason(*illicium verum*) , NADES, Trans-anetol, Antioksidan,AChE,BChE

ABSTRACT
MASTER'S THESIS
PREPARATION OF STAR ANISE EXTRACTS USING NADES
(NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENT) AND MACERATION
METHODS, DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND
BIOLOGICAL ACTIVITIES OF EXTRACTS
Bilge ELİGÜL

Thesis Advisor: Prof. Dr. Hülya AKINCIOĞLU

In the study, it was tried to determine the antioxidant and biological activities of extracts prepared with star anise (*illicium verum*) and trans-anethol. The maserayon method was used in the process of determining the biological activities. Then, the inhibitory effects of Star anise (*illicium verum*) extracts and trans-anethol on Acetylcholinesterase (AChE) and Butyrylcholinesterase (BChE) were investigated using the Ellman method, and IC₅₀ values were calculated for each extract and trans-anethol. The best inhibitory effect for the AChE enzyme was observed in star anise methanol (YAM) extract (IC₅₀:237.15 µg/mL), while the best inhibitory effect for the BChE enzyme was observed in star anise acetone (YAA) extract (IC₅₀:150.98 µg/mL)..

In the rest of the study, extracts prepared with star anise (*illicium verum*) obtained by NADES and maceration methods were used to evaluate their antioxidant and radical scavenging capacities. To evaluate the antioxidant capacity of Star anise (*illicium verum*) extracts and trans-anethol prepared by these two methods, Fe⁺³ reduction capacity, CUPRAC method with cupric ions (Cu⁺²) reduction capacity, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl free radical (DPPH·) scavenging, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthioazoline-6-sulfonic acid) radical (ABTS⁺) scavenging activity was studied. During the studies, BHA, BHT, α-tocopherol, and trolox were used as standard antioxidants and comparisons were made with these four standards.

When looking at the results of ABTS radical scavenging activity, NADES-CA(IC₅₀:5.02 µg/mL) showed higher antioxidant activity compared to other extracts, while NADES-CA (IC₅₀:11.59 µg/mL) extract also showed the highest antioxidant activity in DPPH radical scavenging. When the results of Fe⁺³ reduction force were examined, NADES-G showed the highest Fe⁺³ reduction force, while NADES-G showed the best antioxidant activity in the study conducted by the CUPRAC method. As a result of the study, the antioxidant capacity of trans-anethole was observed to be lower than both NADES solutions and standards.

Keywords: Star Anise(*illicium verum*), NADES, Trans-anethol, Antioxidant, AChE,BChE

ÖNSÖZ

Derin öteklik çözücüler (DES) hidrojen bağı donörü (HBD) ve hidrojen bağı alıcısı (HBA) molekülleri arasında farklı molar oranlarda hidrojen bağı oluşumuyla meydana gelen, hazırlanması sırasında yan reaksiyonlar oluşmadığından herhangi bir ek saflaştırma adımı gerektirmeyen basit işlemler sonucu meydana gelen çözücülerdir. Bu çalışmada kullanışlı ve pratik olan bu çözücülerle ve normal maserasyon metodu ile hazırlanan Yıldız anason (*illicium verum*) eksrelerinin ve trans-anetol'ün antioksidan ve enzim inhibisyonu etkileri incelenmiştir. Farklı yöntemlerin sonuçlara olan etkisi tartışılmıştır. Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde amaçlanana uygun verilerin elde edildiği görülmüştür.

Bu çalışmam boyunca bana sürecin her aşamasında destek olan yardımlarını benden esirgemeyen, süreci titizlikle takip ederek bana rehberlik eden sevgili danışmanım Prof. Dr. Hülya AKINCIOĞLU'na, yine süreç boyunca benden yardımlarını esirgemeyip, beni ilgiyle dinleyip yol gösteren Dr. Öğr. Üyesi Rüya SAĞLAMTAŞ'a, Yüksek lisans öğrencisi Neslihan AYDEMİR ve Dilara TOĞRUL'a teşekkürü bir borç bilirim. Çalışmaları gerçekleştirmem için imkanlarından yararlandığım Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı Müdür'ü Doç. Dr. Akın AKINCIOĞLU'na ve ayrıca tüm sevdiklerime ve aileme bana gösterdikleri destekten dolayı teşekkür ederim.

Bilge ELİGÜL

AĞRI/2025

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Doğal ve Sentetik antioksidanların karşılaştırılması	7
Tablo 2. 1. DES oluşumunda H bağı alan ve veren bazı maddeler	15
Tablo 2. 2. DES oluşum tipleri	13
Tablo 3. 1. Kullanılan Alet ve Cihazlar	20
Tablo 4.1. Yıldız anason (<i>illicium verum</i>) Ekstreleri, trans-anetol ve Pozitif kontrol'ün AChE enzimi için IC ₅₀ Sonuçları.....	30
Tablo 4. 2. Yıldız anason (<i>illicium verum</i>) ekstreleri, trans-anetol ve pozitif kontrol'ün BChE enzimi için IC ₅₀ sonuçları	33
Tablo 4.3. DPPH Serbest radikal aktivesi ve ABTS Radikal giderme aktivesi sonuçları (Standart antioksidanlar ve t-Anetol için µM; Yıldız anasonu ekstreleri için µg/mL).....	36
Tablo 4.4. Cu ⁺² -Cu ⁺ indirgeme kuvveti (Kuprak metodu) ve Fe ³⁺ -Fe ²⁺ indirgeme kuvveti sonuçları (30 µg /mL)	39
Tablo 4. 5. Antioksidan Çalışmalarının Tüm Sonuçları	40
Tablo 5. 1. Yıldız anason (<i>illicium verum</i>) ekstreleri ile trans-anetolün IC ₅₀ değerlerine ilişkin enzim inhibisyon sonuçları.....	42
Tablo 5. 2. Antioksidan Çalışmalarının Tüm Sonuçları	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. 5. <i>Illicium verum</i>	11
Şekil 1. 6. Trans-anetol'ün molekül yapısı	12
Şekil 4.1. AChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAE konsantrasyonunda IC ₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAE] grafiği	27
Şekil 4.2. AChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAM konsantrasyonunda IC ₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAM] grafiği	28
Şekil 4.3. AChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAA konsantrasyonunda IC ₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAA] grafiği	29
Şekil 4.4. AChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı Trans-anetol konsantrasyonunda [Trans-anetol] IC ₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[Trans-anetol] grafiği	29
Şekil 4. 5. BChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAE konsantrasyonunda IC ₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAE] grafiği	30
Şekil 4. 6. BChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAM konsantrasyonunda IC ₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAM] grafiği	31
Şekil 4.7. BChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAA konsantrasyonunda IC ₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAA] grafiği	32
Şekil 4.8. BChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı trans- anetol konsantrasyonunda IC ₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[trans- anetol] grafiği	32
Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlardaki Yıldız anason (<i>illicium verum</i>) ekstrelerinin, trans- anetol'un ve standartların (10-30 µg /mL) ABTS ⁺ giderme aktivitesi için çizilen grafiği	34
Şekil 4.10. Farklı konsantrasyonlardaki Yıldız anason (<i>illicium verum</i>) ekstrelerinin trans-Anetol'un ve standartların (10-30 µg /mL) DPPH radikal giderme aktivitesi için çizilen grafiğ	35
Şekil 4.11. Farklı konsantrasyonlardaki Yıldız anason (<i>illicium verum</i>) ekstrelerinin Trans- anetol'un ve standartların (10-30 µg /ml) Cu ⁺² -Cu ⁺ indirgeme aktivitesi için çizilen grafiği	37
Şekil 4.12. Farklı konsantrasyonlardaki Yıldız anason (<i>illicium verum</i>) ekstrelerinin Trans- anetol'un ve standartların (10-30 µg /mL) (Fe ⁺³) indirgeme kuvvetleri için çizilen grafiği	38

KISALTMALAR LİSTESİ

ABTS: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat Antioksidan Kapasite Yöntemi

AChE: Asetilkolinesteraz Enzimi

BChE: Butirilkolinesteraz Enzimi

BHA: Bütil Hidroksianisol

BHT: Bütil Hidroksitoluen

CAT: Katalaz

CU: Bakır

CUPRAC: Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi

DES: Derin Öteklik Çözücüler

DPPH: Difenil-1-pikrihidrazil Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi

DTNB: 5,5'-Ditiyo-bis(2-Nitrobenzoik Asit Çözeltisi

ET: Elektron Tayini

FC: Folin-Ciocalteu Yöntemi

FCR: Folin-Ciocalteu reaktifi

FRAP: Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü Yöntemi

GPx: Glutatyon Peroksidaz

HAE: Homojenat Destekli Ekstraksiyon

HAT: Hidrojen Atomu Transferi

HBA: Hidrojen Bağ Alıcısı

HBD: Hidrojen Bağ Donörü

HHPAE: Yüksek Hidrostatik Basınç Destekli Ekstraksiyon

IUB: Uluslararası Biyokimya Birliği

IUBMB: Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği

MAE: Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

NADES: Doğal Derin Ötektik Çözücüler

ORAC: Oksijen Radikal Absorbsiyon Kapasitesi Yöntemi

POD: Peroksidaz

TRAP: Toplam Radikal Tuzaklayıcı Antioksidan Parametre Yöntemi

UAE: Ultrason Destekli Ekstraksiyon

YAA: Yıldız anason (*illicium verum*) Aseton

YAE : Yıldız anason (*illicium verum*) Etanol

YAM :Yıldız anason (*illicium verum*) Metanol

YAS : Yıldız anason (*illicium verum*) Su



BİRİNCİ BÖLÜM

1.GİRİŞ

1.1.Enzimler

Enzimler, biyokimyasal tepkimeleri katalizleyen neredeyse tamamına yakınının protein yapısında olan biyolojik katalizörlerdir. Katalizleme sürecinde kendileri herhangi bir değişikliğe uğramadan %100 verim ile ürün oluşumunu gerçekleştirir ve tepkime hızını artırır (Kalaycıoğlu vd. 2013; Nelson and Cox 2013). Enzimler hücre içi (*in vivo*) veya yeterli koşullar sağlandığında hücre dışı (*in vitro*) etkileşimler gösterebilmektedirler. Bu hücre dışında etkileşim gösterebilme özelliği sebebiyle enzimlerden birçok saha çalışmasında yararlanılmaktadır (Kara 2009).

Kimyasal reaksiyon sürecinde hızlandırma işlevi gören bileşikler katalizör olarak ifade edilmektedir. Enzimler ise reaksiyonları hızlandırmanın yanında protein yapısında olmaları ve metabolizmada yer almalarından dolayı biyokatalizör olarak tanımlanmaktadır (Lehninger 2005). Metabolizmada gerçekleşen tepkimeler solunum, kas hareketleri, sindirim, boşaltım, sinyal iletimi gibi ciddi süreçlerin kusursuz ilerlemesine yardımcı olurlar (Nelson and Cox 2013).

Enzimler, DNA seviyesinde düzenlenerek kontrol edilen biyokatalizörlerdir. Hücre içinde gerçekleşen tepkimeler eğer hücrede enzim bulunmazsa neredeyse hiç gerçekleşmezler. Tepkimeler hücre içerisinde enzimler olmadan kendiliğinden yürümezler. Tepkimelerin bu enzim varlığı olmadan iş yürütememeleri enzimlere sadece katalizör denilemeyeceğini, denilirse de bu ifadenin eksik kalacağını göstermektedir. Enzim molekülleri, DNA'da hücrelerin birbiri ile farklılaşan özelliklerini aktarmada görev alan en önemli mekanizmadır (Keha and Küvrevioğlu 2009). Enzimler gerekli koşullar sağlandığında hücre dışında da tepkime gösterebilme özelliğine sahiptirler. Bu özelliği sayesinde endüstride katalizör olarak kullanılırlar. Enzimler canlı organizmaların hepsinde bulunurlar. (Jegannathon and Nielson 2013).

Enzimlerle ilgili yapılan ilk çalışmalar incelendiğinde sistematik bir adlandırma çalışmasının güdüldüğü görülmektedir. Bu çalışmalarda enzimlerin, vücutta bulunan ve enzim işlemeye yarayan substratların isimlerinin sonuna –az eki

getirilmesi ile adlandırıldığı görülmektedir. Yeni çalışmalarla birlikte farklı enzimler bulunmuş ve bu da sistematik adlandırma çabasının son bulmasına neden olmuştur. Sistematik isimlendirme çalışması son bulduktan sonra Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUBMB), enzimler için 4 rakamlı bir kod tanımlamıştır. İlk rakam enzimin ait olduğu grubu, ikinci rakam etkide bulunduğu kimyasal yapıyı, üçüncü rakam akseptörü, son rakam ise enzimin grubundaki sıra numarasını belirler. IUBMB enzimleri altı gruba ayırmıştır (Keha and Küfrevioğlu 2009; Tekman and Öner 1986). Altı gruba ayrılmış olan enzim çeşitleri ve görevleri sırasıyla şu şekilde ifade edilebilir;

1. **Oksidoredüktazlar:** Redoks tepkimelerinde,
2. **Transferazlar:** Fonksiyonel grupların transferinde,
3. **Hidrolazlar:** Hidroliz tepkimelerinde,
4. **Liyazlar:** Çift bağ tepkimelerinde,
5. **İzomerazlar:** Molekül yapıları ve geometrik değişkenlerde,
6. **Ligazlar:** Kimyasal bağ oluşturmada kullanılırlar.

Enzimlerin kullanım alanı incelendiğinde sadece sağlık ya da kimya alanında çalışmaların olmadığı endüstri, tekstil ve gıda gibi birçok farklı alana yayılım gösterdiği görülmektedir. Kullanım alanı arttıkça enzimlere oluşan talep de artmaktadır. Artık farklı alanlar farklı enzim kaynakları saptamaya yönelmişlerdir. Enzimlerin bu alanlarda kullanımlarında ise direk kaynağın kendisi değil izole edilmiş hali tercih edilmektedir. Çünkü izole edilmiş hallerini saklama koşulları ve özellikleri daha iyidir. Bir başka ifade ile kaynağın kendisinin kullanılmasından daha faydalı ve elverişlidir (Yaman 2023).

Bazı enzim türlerinin etki ettikleri alanlar incelendiğinde peroksidaz enzimlerinin çevresel ve temizlik alanlarında kullanım alanının ve etkilerinin daha fazla olduğu görülmektedir. Sentetik boyaların kullanımı sebebiyle oluşmuş olan renklerin giderilmesi ve suların temizlenip ayrıştırılması bu enzim türünün kullanım örneklerindendir. Bu alanlarda bu enzimin tercih edilme sebebi ise aktivite ölçümünün daha kolay olması ve termal yapıda bir kararlılığa sahip olmasıdır.

Saflaştırılma işlemini ilk olarak gerçekleştiren enzim katalaz enzimidir. Bu enzim günümüzde iki önemli yaygın sağlık problemi olarak ifade edilen kanser ve diyabetle ilişkili olması sebebiyle oldukça önemlidir. Katalaz enziminin bitkilerde

savunma sistemi ve büyüme sistemi içerisinde önemli rolleri olduğu çalışmalarca belirlenmiştir. Bir başka önemli kullanım alanı kâğıt endüstrisidir. Bu alanda kâğıdın beyazlatılma sürecinde önemli görevi vardır. Katalaz enzimi saflaştırılan ilk enzimlerden biridir. Bir diğer kullanım alanı da gıda sektörüdür. Gıdaların üretim sürecinde steril ortam ve maddelerin oluşturulup kullanılmasında ‘ajan’ olarak görev almaktadır (Yaman 2023). Enzimlerin genel özellikleri şu şekildedir;

- Hücre içi sentezlenme, Hücre içi ve dışı kullanılabilme,
- Aktivasyon enerjisini düşürme, tepkimeleri hızlandırma,
- Spesifik olma,
- Tepkime çeşitleri ve etki ettikleri maddelere göre sonuna -az eki almış isimlere sahip olma,
- Multienzim sistemi olarak çalışabilme, son ürünün diğerinin ana ürünü olabilmesi,
- Tepkimelerinin büyük kısmının dönüşümlü olabilmesi,
- Tepkime yönlerini termodinamik kanunla belirlemeleri,
- Uluslararası biyokimya birliği (IUB) tarafından altı sınıfta toplanmalarıdır (Keha and Küfrevioğlu 2009).

Enzimler parçalanacak bağı aktif işlemin olacağı merkeze substrat molekülünü bağlarlar. Bazıları dayanıksız ara ürün oluşturur ve katalitik etki gösterir. Bu katalitik etki sırasında asit- baz katalizi yapıp substrattaki bağı gerilmesine neden olurlar. Katalitik etkinin enzimler tarafından gösterilebilmesi için bazı şartların oluşması gereklidir. Enzim aktivitelerini etkileyen faktörler şu şekilde sıralanır; zaman, pH, sıcaklık, konsantrasyon, inhibitör veya aktivatör varlığı, UV, radyoaktivite, tepkime ürünleri, iyon konsantrasyonları ve dış etmenlerdir (Nelson and Cox 2013).

1.2.Enzim İnhibisyonu

Bazı moleküller enzim aktivitelerini durdurması veya azaltması durumu enzim inhibisyonu olarak adlandırılır. Bu inhibisyon sürecinde inhibisyona sebep olan bileşikler inhibitör olarak isimlendirilir. Bu yapılar genellikle küçük molekül ve iyonlardır. Aynı zamanda, biyolojik sistemlerde bu yapılar süreçler üzerinde etkili olur. Bu bakımdan büyük öneme sahiptir (Keha and Küfrevioğlu 2004).

İnhibisyon olayı, dönüşümlü ve dönüşümsüz olmak üzere 2 gruba ayrılır. Bunlardan dönüşümlü olanlar ise kendi içerisinde 4 gruba ayrılmaktadır. Bu 4 grup şu şekilde ifade edilir;

Yarışmalı inhibisyon: Dönüşümlü inhibisyonun en basit tipi yarışmalı inhibisyonudur. İnhibitör yapı olarak substrata benzer ve enzimin aktif bölgesine bağlanırlar. Aktif merkeze, ikisi birlikte balanmak istediklerinden dolayı aktif bir yarış söz konusudur (Gözükara 2011). Yarış anında inhibitör konsantrasyonu artırıldığında substratın K_m değeri artar ve enzimin substrata olan ilgisi azalır. Bu ilgi azalmasıyla substrat yerine inhibitörler enzime bağlanmış olurlar.

Yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyon: Bu inhibisyon türünde inhibitörler aktif olan bölge dışında başka bir bölgeye bağlandığı için aktif merkeze bağlanmak için substrat ile inhibitör arasında bir yarış söz konusu değildir. Bu inhibitörler enzimin üçboyutlu yapısının bozulmasına sebep olur. Yarışmalı inhibisyonadaki gibi konsantrasyonu artırmak bu grupta bir değişiklik oluşturmaz (Gözükara 2011). İnhibitör aktif olmayan bir bölgeden enzime bağlandığı için K_m değerinde bir farklılaşma meydana gelmemektedir ancak V_{max} değeri azalmaktadır.

Yarı yarışmalı (unkompetitif) inhibisyon: Bu gruba ait olan inhibitörlerin doğrudan enzimle bağlantısı yoktur. Substrat enzim kompleksine bağlanır. Burada oluşan inhibisyona yarı yarışmalı inhibisyon denilmektedir. (Gözükara 2011). Bu inhibisyon sürecinde K_m ve V_{max} azalır.

Lineer-Karışık inhibisyon: Bu inhibisyon çeşidi ise enzim, substrat ve inhibitörlerin bağlanma sabitleri farklılaşır ve daha özel bir örüntü oluştururlar. Bu inhibisyon türü yarışmasız inhibisyonu farklı bir türü olarak ifade edilmektedir. Nonkompetitif inhibisyonun özel bir durumudur. Substrat EI kompleksine, inhibitör ES kompleksine bağlanarak gerçekleşir. Sonuç olarak ESI kompleksi oluşur. Bağlantı ve kompleks oluşması sonucu V_{max} azalırken K_m artar (Nelson and Cox 2013).

1.3. Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütilkolinesteraz (BChE)

Kolinesterazlar (ChE'ler), kolinin esterlerinin hidroizini katalizyen bir enzim grubudur. İyi bilinen bir örnek, önemli nörotransmitter asetilkolini (ACh) hidrolize etmekten sorumlu enzim olan asetilkolinesterazdır ve Bütilkolinesterazdır (AChE, EC 3.1.1.7 ve BChE, E.C. 3.1.1.8). Hücre değişimleri ve hücre yenilenmesinde kolinesterazlar görevlidirler (Wilson and Nachmansohn 1954; Carlson 1992; Temel

2008). Kolinesterazın insanlarda iki formu bulunmaktadır bunlar AChE ve BChE olarak adlandırılan iki türdür (Shidore *et al.* 2016). AChE insan beyindeki kolinesteraz aktivitenin ortalama %80'inden sorumlu olduğu ve sinir, kırmızı kan ve beyinde yüksek miktarda bulunduğu ve kolin esterlerini hidrolize edildiği bildirilmiştir. (Kaplay 1976; Rao *et al.* 2007). Bu enzimin aktivitesi dışında kalan ortalama %20'lik kısımdan ise BChE enzimi sorumludur. Karaciğer, pankreas, kan serumu ve merkez sinir sisteminde yer alır. Kolin ve diğer esterleri hidrolize eder (Kaplay 1976; Rao *et al.* 2007). BChE enzimi AChE'nin adeta bir yardımcısı olarak çalışır. AChE beyin ve sinir sisteminde asetilkolinin hidrolizini katalizler. Asetilkolinesteraz etkisini, beyin ve otonom sinir sisteminin kolinerjik sinapslarında asetilkolinin hidrolizini katalize ederek gerçekleştirir. Sinir sistemini enzimlerinden olan AChE, biyolojik açıdan oldukça önemlidir. (Nacmansohn 1952). BChE enziminin beyindeki rolü olduğu ancak hala belirsizliğini korumaktadır (Das 2012).

Bu iki kolinesterazın substrat seçicilikleri de birbirinden farklıdır. Asetilkolini AChE daha hızlı hidrolizlemektedir (Chatonnet and Lockridge 1989). Kolinesteraz enzimlerle ilgili yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda sonuçlar farklılaşmıştır. AChE'nin bilinen bazı görevlerinin dışında kas lifleri ve sinir hücrelerinde biyoelektriksel akım oluşumunda görev aldığı saptanmıştır (Wilson and Nachmansohn 1954; Carlson 1992). Bu enzimin çalışma durumunda yaşanan aksaklıkların merkezi sinir sisteminde de problemlere yol açtığı bildirilmiştir (Lotti 1995).

1.4. Antioksidanlar

En genel ifadeyle antioksidanlar, oksidatif strese neden olarak hücrelerin ve dokuların hasar görmesine sebep olan serbest radikallerin istenmeyen reaksiyonlarını engelleyen ya da geciktiren bileşiklerdir. Serbest radikaller kararsız yapıdaki dış yörüngelerinde eşlenmemiş bir ya da daha fazla elektron bulunduran atom veya moleküllerdir. Hücrelerin metabolik işleyişi veya dış etkenler sebebiyle var olan serbest radikal molekülleri oldukça reaktif yapıda olup hücre DNA, protein ve lipidleri okside ederek hasara yol açarlar (Mercan 2004; Darley-USmar and Halliwell 1995) Metabolizmada oksidan ve antioksidan bir denge söz konusudur. Oksidan ve antioksidan dengenin oksidanların lehine bozulması ile oksidatif stres meydana gelir böylece serbest radikallerin metabolizmadaki varlığı artar ve bunun sonucu olarak Parkinson hastalığı, hücre yaşlanması ve deformasyonu, kanser türleri, organ

bozuklukları, doku kaybı, hemodiyaliz hastalıkları gibi, bireylerin yaşamsal faaliyetlerini önemli ölçüde etkileyen olumsuzluklar meydana gelir (Aruoma 1994). Antioksidanlar serbest radikallerin (ROS ve RNS gibi) verebileceği zararları daha düşük konsantrasyonlarda bile engelleme özelliğine sahiptirler (Apak *et al.* 2016).

Biyolojik olarak üretilen enzimatik (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz vb.) antioksidanların yetersiz kalması durumunda denge, dışarıdan alınan gıda veya takviyelerle sağlanan ve enzimatik olmayan antioksidanlar (vitamin C, koenzim Q vb.) yardımıyla desteklenmektedir. Sonuç olarak, dışarıdan alınan antioksidanların belirli miktar alınması ve vücut üzerinde etki gösteriyor olabilmesi önemli bir parametredir (Prior and Cao 1999).

Antioksidanların ilk kullanımları metallerdeki kimyasal aşınmayı önleyici etkisi ile 19.yy da gerçekleşmiştir. Bu amaçla kullanılmaya başlanan antioksidanlar, 20. yy ortalarında besin raf ömrü üzerine etkisinin keşfedilmesi ile gıda sektörüne giriş yapmıştır. Raf ömrü uzatımı ile birlikte kötü tat ve kokuyu engelleme özelliği gıdalara eklenmesine neden olmuştur (Gülçin vd. 2003).

Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadırlar. Antioksidanların bazıları, enzimler, enzim ko-faktörler gibi endojen olarak vücut tarafından üretilirken; vitaminler, organosülfürler, mineral gibi vücut tarafından üretilmeyen antioksidanlar gıda yoluyla vücuda alınmaktadırlar. Dışarıdan alınan antioksidanların büyük bir kısmını ise polifenoller grubu oluşturmaktadır (Shadidi 1997; Güçlü vd. 2009).

Gıda alanında besinlerin ömür süresinin artırılabilmesi için doğal ve doğal olmayan (sentetik) antioksidanlar belirli miktarlarda kullanılmaktadır. Besinler içerisinde yer alacak antioksidan oranları ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği ile yasal olarak belirlenmektedir (Türk Gıda Kodeksi 2011). Besinlerin ömür uzatımında kullanılan bu antioksidanlar insan vücuduna girdikten sonra metabolizmada da antioksidan olarak görev alırlar (Yavaşer 2011). Gıda sektörü incelendiğinde besin ömrü için kullanılan antioksidan türünün sentetik olduğu görülmektedir. Gıdalarda yaygın olarak kullanılan antioksidanlar sentetik olarak üretilmektedir. Kullanılan bu sentetik antioksidanlara örnek olarak bütil hidroksitoluen (BHT), bütil hidroksianisol (BHA), tersiyer bütilhidrokinon (TBHQ) ve etoksiguin verilebilir. Bu sentetik antioksidan örneklerinin kullanım sebebi olarak yüksek kararlılık sergilemeleri ve diğerlerine oranla daha ucuz olmaları gösterilebilir. Fakat

ekonomik boyutu dışında besinlerde zehirli yan etkiler oluşturabilmeleri noktasında hala şüpheler vardır (Chen *et al.* 1992; Wanasundara and Shadidi 2005). Doğal ve Sentetik antioksidanların karşılaştırılmasına ilişkin tablo **Tablo 1.1.**'de sunulmuştur.

Tablo 1.1. Doğal ve Sentetik antioksidanların karşılaştırılması

Antioksidan Türleri	
Sentetik Antioksidanlar	Doğal Antioksidanlar
Maliyet olarak ucuzdur.	Maliyetleri pahalıdır.
Uygulanma alanı geniştir.	Kullanım sınırları mevcuttur.
Güvenirliği giderek azalmaktadır.	Daha güvenilir ve zararsızdırlar.
Yasaklanmış kullanımları mevcuttur.	Uygulama alanları geniştir.
Çözünürlük kapasitesi düşüktür.	Çözünürlükleri yüksektir.
Gösterilen ilgi azalmaktadır.	Gösterilen ilgi artmaktadır.
Apidoz dokuda depolananlar vardır.	Metabolize olurlar.

(Yaman, 2023)

Tablo 1.1. İncelendiğinde Sentetik ve Doğal antioksidanlar arasında işlev, ekonomik boyut, yasallık, kullanım alanları gibi açılardan farklılıkların olduğu görülmektedir.

Mekanizma özelliklerine göre antioksidanlar ikiye ayrılırlar. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerin yer aldığı birinci grup makromoleküller olarak engelleyiciler olarak isimlendirilirler. Bu makromoleküller radikallerle tepkimeye girerler ve radikallerin olumsuz etkilerini engellemeye çalışırlar. Diğer grup ise radikal zincir tepkimelerini kıran bileşikler olarak ifade edilir. Bu zincir kırma etkisinde C vitamini, ürik asit ve polifenoller gibi molekülle oksijen radikalini yakalayarak süpürürler (Ou *et al.* 2002).

Mekanizma özelliklerine göre ayrıışan antioksidanları ayrıca genel olarak kaynaklarına göre iki şekilde gruplamak mümkündür. Vücut içinde üretilen ve besin kaynaklı antioksidanlar bu ayrışmayı oluştururlar (Ak ve Gülçin 2008). Hücre içi antioksidan denildiğinde SOD, GPx, POD ve CAT enzimleri örnek olarak verilebilir. Belirtilen enzimlerin yapılarında çinko, bakır ve manganez ve selenyum iyonu bulundurulur. Yapılarında yer alan metaller sebebiyle bu enzimler metaloenzim olarak da adlandırılırlar (Halliwell 1991). Bu antioksidan enzimleri vücut içinde bulunan oksijen türlerinin zararlarına karşı farklı doğal savunma sistemlerini uygulayıp serbest

radikalleri kontrol altında tutmaktadır. Antioksidanların oluşturduğu bu sistemler farklı farklı yerlerde rol aldıkları için birbirlerini tamamlayıcı niteliktedirler (Diplock 1998).

1.5. Antioksidanların Metabolizmadaki Etkisi

Oksidatif stres sonucu ortaya çıkan hastalıkların tanı ve tedavisinde, gıdaların antioksidan içerikleri açısından değerlendirilmesinde gıdalarda ve biyolojik sıvılarda yapılan antioksidan aktivite/kapasite ölçümleri önem arz etmektedir. Antioksidan aktivite, bir antioksidan bileşiğinin, serbest radikalleri etkili bir şekilde süpürmesi, lipid peroksidasyon reaksiyonlarını inhibe etmesi ve oksidatif hasarı önleyerek hücre yapısını ve işlevini sürdürme yeteneği ya da becerisi olarak tanımlanmaktadır (Bravo 1998).

Serbest radikaller, hücre hasarına neden olan son derece reaktif moleküllerdir. Hücre hasarına, DNA hasarına, hücre ölümüne ve bunun sonucunda çeşitli hastalıklara neden olan oksidatif stres, aşırı serbest radikal üretimi gerçekleştiğinde ortaya çıkmaktadır. Hücrelerde serbest radikallerin oluşumunu engellemek için antioksidan savunma mekanizmaları gelişmektedir (Göçer vd. 2013; Binici vd. 2023; Palabıyık vd. 2024). Bu antioksidan savunma mekanizmaları hücreleri bu hasarlardan korumaktadır ve olası hastalıkların gelişimini engellemektedir. En genel ifade ile antioksidanlar, oksidatif stresin neden olduğu hasarları önleyen veya azaltan bileşiklerdir. Antioksidanların doğal olarak bulunduğu birçok gıda ve bitki kaynağı vardır. Gıdaların birçoğu (meyve, sebze, tahıl, kuruyemiş, baharat, çay, kahve ve kırmızı şarap vb.) önemli antioksidan kaynaklarıdır. Bu nedenle antioksidan tayini, gıdalardaki antioksidan miktarını belirlemek için önemlidir. Çünkü gıdaların antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesi ile doğru beslenme bilgisi sağlanarak hastalıklara karşı önlem almak mümkündür (Doldolova *et al.* 2020).

Genellikle antioksidan etkinliği, büyük ölçüde antioksidanların kimyasal yapılarına bağlıdır. Antioksidan aktivite ve antioksidan kapasite farklı anlamlara sahip iki farklı terimdir. Antioksidan aktivite, spesifik bir antioksidan ve oksidan arasındaki reaksiyonun hız sabiti veya antioksidanların reaktif türleri süpürme yüzdeleri ile ilişkili iken antioksidan kapasite, 1 mol antioksidan madde tarafından belirli bir süre boyunca süpürülen radikal türlerin mol sayısı olarak tanımlanmıştır (Apak *et al.* 2006). Antioksidanların yapıları, konsantrasyonu, ortam sıcaklığı, oksidasyona duyarlı

substratın özellikleri, ara yüzey etkileşimleri gibi birçok faktör antioksidan aktiviteyi etkilemektedir. Ayrıca antioksidan ile oksidan arasındaki reaksiyon hızı, reaksiyonun termodinamiğini ve reaksiyona girme yeteneğini etkilemektedir (Apak *et al.* 2006).

Antioksidanların etki yöntemleri düşünüldüğünde birçok farklı şekilde yer alabildiği görülmektedir. Bir tepkime sırasında antioksidanlar bunlardan bir veya birkaçını gösterebilmektedirler. Metabolizmada yer alan serbest radikal ve antioksidanlar arasındaki etkileşimde dengeyi sağlayabilmek için ortaya çıkan dört etki yönteminden söz edilmektedir. Bu dört yöntemden birisi süpürücü etki olarak ifade edilmektedir (Krinsky 1992; Pinchuk and Lichtenberg 2002; Klouche *et al.* 2004; Gök *et al.* 2021). Süpürücü etki olarak ifade edilen metabolizmada oluşan radikallerine etkisinin azaltılması ve yeni radikallerin oluşmasının önlenmesinde antioksidanların sergilediği etki olarak tanımlanmaktadır. Bir diğer antioksidan etkisi baskılayıcı etki olarak ifade edilir. Baskılayıcı etkide antioksidanlar oksidanlara hidrojen veriler ve onları inaktive ederler, ya da bu oksidanların etkisini azaltırlar. Üçüncü antioksidan etkisi olarak zincir kırıcı etki söz edilmektedir. Antioksidanların serbest radikalleri kendine bağlayıp bu radikallerin zincirlerini kırma esasına dayanır. Dördüncüsü onarıcı etkidir. Metiyonin sülfoksit redüktaz ve DNA tamir enzimleri kullanılır (Krinsky 1992 ; Klouche *et al.* 2004).

1.6. Antioksidan Tayin Yöntemleri

Antioksidanların oksidatif stresi azaltma ve inhibe etme özellikleri sayesinde canlı sağlığının korunmasında, hastalıkların önüne geçilmesi veya tedavi edilmesinde oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Gıdaların ve biyolojik örneklerin antioksidan aktivitesinin/kapasitesinin ölçülmesi, gıda kalite analizlerinin sağlanmasının yanı sıra dışarıdan sağlanan antioksidanlarının insan sağlığına etkilerinin araştırılmasında da yeri oldukça büyüktür.

Antioksidan tayin yöntemleri genel olarak elektron transferi (ET) ve hidrojen atomu transferi (HAT) esaslı yöntemler olarak sınıflandırılabilir. Günümüzde gıda bileşenlerinde en sık kullanılan yöntemler; linoleik asit sisteminde lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, toplam radikal tuzaklayıcı antioksidan parametre yöntemi (TRAP), oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi yöntemi (ORAC), demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç yöntemi (FRAP), bakır (II) iyonu indirgeme esaslı antioksidan kapasite yöntemi (KUPRAK), Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR), 2,2-difenil-

1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal yakalama yöntemi, 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat (ABTS) radikali süpürme yöntemi, süperoksit anyonu radikal süpürme ve demir iyonları (Fe^{2+}) şelatlama aktiviteleri olarak bilinmektedir (Gülcin 2012).

1.7.Yıldız anason (*illicium verum*)

Yıldız anason (*illicium verum*) veya bir başka ifade ile Çin anasonu olarak bilinen *Illicium verum*, Schisandraceae familyasına ait olan (Kaman 2023) aslen Güney Çin' e ait olmasına rağmen Japonya ve Doğu Hindistan'da da yetiştirilen, kabuğu beyaz ve gri, 8-15 metre uzunluğa ulaşabilen dallara sahip, düz yuvarlak gövdeli ve yeşil renkli ağaçlardır (Bayram 2020). Yıldız anason (*illicium verum*) yaprak dökmeyen tohumu tatlı ve meyan köküne benzeyen ağaçlardır (Akdeniz, 2022). Mutfakta baharat olarak kullanılan Yıldız anason (*illicium verum*) yağı, aynı zamanda Çin'in şifalı bitkilerinden biridir ve antiviral etkileri ile yaygın olarak bilinmektedir (Kaman 2023; George 2012). Antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinden dolayı gıda ve ilaç endüstrisinde giderek artan kullanıma sahiptir. Antiviral potansiyel dışında, Yıldız anason (*illicium verum*) antioksidan, antimikrobiyal, antifungal, antelmintik, insektisidal, sekretolitik, antinosiseptif, antiinflamatuar, gastroprotektif, sedatif özellikler, balgam söktürücü ve spazmolitik ve östrojenik etkiler gibi bir dizi başka potansiyele sahiptir (Patra *et al.* 2020).

Yıldız anason (*illicium verum*) hazım ve sindirimi kolaylaştırma için (Kartal, Demirbolat ve Demirci, 2021) ve dispepsi, spazmodik kolonalji, dizanteri, öksürük, astım, romatizma gibi hastalıkların tedavisinde (Patra vd., 2020) kullanılmaktadır. Bilinen bu yaygın kullanımlarının yanı sıra yıldız anasonun (*illicium verum*) karın ağrısı, kusma ve kolik gibi rahatsızlıkların tedavilerinde de kullanım örnekleri mevcuttur (Sharafan *et al.* 2022).

Yıldız anason (*illicium verum*) kancasının uçucu yağının ana bileşenleri trans-anetol, limonen, linalool ve α -pinendir (Wang vd., 2006). Terapi olarak, anetol, anti-enflamatuar ve antifungal aktivite sergilediği gösterilen önemli bir bileşiktir. Bununla birlikte, antimikrobiyal aktivitesi klinik izolatlardan olan antibiyotiğe dirençli bakterilere karşı araştırılmamıştır ve yıldız anason(*illicium verum*)'daki diğer bazı küçük aktif maddeler bugüne kadar tanımlanmamıştır (Aly, Sabry, Shaheen and Hathout 2016).



Şekil 1. 1. *Illicium verum*

Yıldız anason (*illicium verum*) köken olarak güneydoğu Çin, Vietnam, Hindistan ve Japonya'ya özgüdür. Endonezya'da yabani olarak yetişir ve günümüzde Filipinler, Molucca Adaları ve Madagaskar'da yetiştirilmektedir (Dzamic *et al.* 2009). Yıldız şeklinde olan Yıldız anason (*illicium verum*) meyveleri beş ila on köşe arasında değişen kapsüllere benzemektedirler. Meyvenin her kolunda tohum kabukları mevcuttur. Meyvelerin dış yapısı oldukça serttir ve pas rengine sahiptirler. Bu meyveler yüksek yağ porsiyonlarına sahiptirler (Chouksey, Upmanyu and Pawar 2013). Yıldız anason, trans-anetol açısından zengin olan bir uçucu yağdır ve esas olarak gıda ve ilaç endüstrilerinde kullanılmaktadır. Bu yağ alkollü ve alkolsüz içeceklerin yanı sıra gıdalarda da lezzet verici bir bileşen olarak yaygın olarak kullanılır. Ayrıca trans-anetol maddesi kas gevşetici özelliklere sahiptir ve bu alanda da kullanılmaktadır (Dzamic *et al.* 2009; Bhadra, Mukherjee, Kumar and Bandyopadhyay 2011). Geleneksel olarak Karayipler ve Latin nüfusu, bebek koliklerinin tedavisinde gaz giderici ve yatıştırıcı olarak Yıldız anason (*illicium verum*) çayı infüzyonu tüketirler. Japon ve Çin kültüründe dispeptik şikâyetlerin ve nezlelerin tedavisi, solunum yolu hastalıklarına, karın ağrıları ile ilgili hastalıkların tedavisinde ve ayrıca nörotropik, hipotermik ve analjezik gibi rahatsızlıklarda yıldız anasonu kullanılmaktadır (Bhadra, Mukherjee, Kumar and Bandyopadhyay 2011).

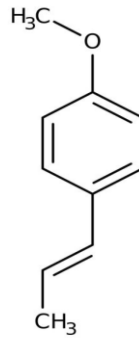
1.8. Trans-anetol

Trans-anetol, bazı baharatların (anetol, anason ve rezene gibi) ve 20 türden fazla bitkinin ana kokusu ve biyoaktif bileşiği olarak ifade edilir. Kozmetik, parfümeri

ve farmasötiklerde aynı zamanda gıda enstitüsü başta olmak üzere diğer enstitülerde aroma maddesi olarak yaygın bir kullanım alanına sahiptir (<https://www.eurolab.net/>).

Trans-anetol, birçok uçucu yağın ana bileşeni olarak ifade edilir. Bu yağların başlıcaları; yıldız anason (*illicium verum*), anason tohumu yağı ve tatlı rezenedir. Aynı zamanda ticari bir aroma maddesi olarak şekerlemede, dondurmada, sakızda, unlu mamüllerde ve alkollü içeceklerde kullanılabilmektedir. Bu bileşik, anksiyolitik, antioksidatif, antifungal ve antienflamatuar aktiviteler sergiler (<https://www.eurolab.net/>).

Anetol bir terpenoiddir. Çeşitli bitki ve bazı yağlarda bulunan terpenoidler, mutasyon, kanser ve yükseltgenme gibi önleyici özellikleri olan, fonksiyonel grupları doymamış karbonlarla birlikte içeren ve lezzet için önemli bir bileşen oldukları kabul edilen uçuculardır. Terpenler biyosentetik olarak izopren birimlerden meydana gelirler, bu birimin kimyasal formülü C_5H_8 olup terpenlerin temel moleküler formülleri de bunun katlarıdır, yani $(C_5H_8)_n$ (n: izopren birimlerinin sayısıdır). Terpenler, en yaygın doğal ürün gruplarından biridir. Gıdalarda aroma bileşeni olarak kabul görüp kullanılan terpenlerin bitkilerde ve hayvanlarda birçok farklı işlevleri bulunmaktadır. Örneğin turunçgiller, tarçın ve diğer baharat aromaları birkaç terpen ile karakterize edilir (<https://www.eurolab.net/>). Trans-anetol'ün molekül formülü $C_{10}H_{12}O$ 'dir. Formülü verilen trans-anetolün molekül yapısı **Şekil 1.6**'da sunulmuştur.



Şekil 1. 2. Trans-anetol'ün molekül yapısı

1.9. DES ve NADES

Derin öteklik çözücüler (DES) hidrojen bağı donörü (HBD) ve hidrojen bağı alıcısı (HBA) molekülleri arasında farklı molar oranlarda hidrojen bağı oluşumuyla meydana gelen, hazırlanması sırasında yan reaksiyonlar oluşmadığından herhangi bir ek saflaştırma adımı gerektirmeyen basit işlemler sonucu meydana gelen çözücülerdir (Xie *et al.* 2017). DES'ler, bir ötektik karışım oluşturan Lewis veya Bronsted asit ve bazlarının çözeltileridir (Smith *et al.* 2014). DES'ler ana bileşik oranlarının istenilen derecede değiştirilmesi ile istenilen oranda istenilen çözelti hazırlama olanağı sağlar.

Tablo 1.9. DES oluşum tipleri

DES Oluşum Tipleri	Organik tuz+ Metal tuzu (Örn: $ZnCl_2$ + kolin klorür)
	Organik tuz+ Metal tuzu hidrat (Örn: $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ + kolin klorür)
	Hidrojen bağı donörü+ Organik tuz (Örn: kolin klorür + üre)
	Hidrojen bağı donörü+ Metal tuzu (hidrat) (Örn: $ZnCl_2$ + üre)

(Abbott 2003).

Tablo 1.9'de Abbott (2003) tarafından çalışmasında oluşturulan DES oluşum tiplerine yer verilmiştir. Dört DES oluşum tipi ve formülleri mevcuttur. Çalışmalarda DES kullanılırken bu oluşum tiplerinden uygun olan metot olarak kullanılabilir.

DES'ler, yüksek ısı kararlılık, düşük uçuculuk, düşük buhar basınçları ve ayarlanabilir polarite gibi bazı özellikleri açısından benzerlik gösterdiği iyonik sıvılar gibi yeşil çözücülerin bir sınıfıdır (Hansen *et al.* 2021; Płotka-Wasyłka *et al.* 2020). Asit ve bazların çözeltileridir (Smith *et al.* 2014). DES'ler iyonik sıvılarla aynı sınıfta yer almasına rağmen, iyonik sıvılar onlara göre oldukça pahalıdırlar, genellikle biyolojik olarak parçalanamayıp yüksek derecede toksiklerdir (Hansen *et al.* 2021; Xu *et al.* 2015). Bu bağlamda kıyaslandığında DES'ler çözücüler olarak ait olduğu sınıfın hem ekonomik anlamda daha iyi hem de kullanımı daha kolay ve zararsız bir çeşidi olarak görülebilmektedir.

DES'ler, hidrojen bağ donörü (HBD) ve hidrojen bağ alıcısından (HBA) oluşan ve hidrojen bağları ile supramoleküler bir yapı oluşturan iki veya daha fazla bileşenin karışımından üretilir (López *et al.* 2020). DES'ler ana bileşenlerinde oluşan bu karmaşık hidrojen bağı ana bileşiklere oranla donma noktası depresyonu ile sonuçlanmaktadır (Abbott *et al.* 2004). Erime noktaları kendilerini oluşturan bileşiklerinkinden çok daha düşüktür ve birçok öklektik çözücüler oda sıcaklığında sıvı formdadırlar (Kutlu vd. 2021).

DES'ler biyodizel, aromatik hidrokarbonlar, gaz, biyoaktif bileşikler ve metaller gibi çeşitli alanlarda uygulanmaktadır (Tang *et al.* 2015). DES'ler nanopartiküllerin stabilizasyonu (Iqbal *et al.* 2020), polifenoller (Barbieri *et al.* 2020), çevresel kirleticilerin uzaklaştırılması ve azeotropların ayrılması (Kussainova and Shah 2020; Pena-Pereira and Namieşnik 2014; Shi *et al.* 2020), biyotoksik metal tespiti (Silva *et al.* 2020; Perna *et al.* 2020), metal işleme ve biyodizelin saflaştırılması (Smith *et al.* 2014), polar organometalik kimya ve biyokataliz (Perna *et al.* 2020), çevresel kirleticilerin uzaklaştırılması ve azeotropların ayrılması (Kussainova and Shah 2020; Pena-Pereira and Namieşnik 2014; Shi *et al.* 2020), bileşiklerin izolasyonu ve fraksiyonlanması (Tan vd. 2018; Wang *et al.* 2017; Zhou *et al.* 2018; Zuo *et al.* 2018; Chen *et al.* 2020; Hong *et al.* 2020) ve kapsüllemenin kolaylaştırılması (Mano *et al.* 2015, 2017; Di Pietro *et al.* 2019) gibi birçok alanda uygulanmaktadır.

NADES, amaçlanan uygulamaya göre özel solventler şeklinde hazırlanabilir (Mişan *et al.* 2020). Hazırlanabilecek özel solventlere ilişkin bilgilendirme tablosu **Tablo 1.9.1**'de sunulmuştur.

Tablo 1.9.1 DES oluşumunda H bağı alan ve veren bazı maddeler (Abbott 2003)

	Asitler ($\text{HO}_2\text{C}-\text{R}_1$)	Oksalik asit ($\text{HO}_2\text{CCO}_2\text{H}$); Malonikasit($\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{CO}_2\text{H}$); Laktik asit; Malik asit Nikotinik asit
Hidrojen Bağ Donörleri(H vericileri)	Amidler($\text{H}_2\text{N}-\text{C}=\text{OR}_2$)	Üre (NH_2CONH_2); Tiyoüre (NH_2CSNH_2)
	Alkoller ($\text{HO}-\text{R}_3$)	Gliserin ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$); Etilen glikol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$)
Hidrojen Bağ Akseptörleri (H alıcıları)	Kolin klorür Beatin Glisin Alanin Histidin	

Yapılan çalışmalar ve alandaki ilerlemelerle birlikte, doğal derin ötektik çözücüler (NADES) terimi, genellikle organik asitler, şekerler, alkoller, aminler ve amino asitler gibi bitki bazlı birincil metabolitler olan iki veya daha fazla bileşikten oluşan DES'leri belirtmek için kullanılmıştır (Choi *et al.* 2011; Dai *et al.* 2013). DES'in bileşenleri, şekerler, polioller ve amino asitler gibi hayvanlarda ve bitkilerde yaygın olarak bulunan doğal metabolitler olduğunda, bunlara doğal derin ötektik çözücüler (NADES) adı verilir (Choi *et al.* 2011). NADES'lerin hazırlanması üç ana prosedürle gerçekleştirilebilir:

- ❖ Dondurarak Kurutma,
- ❖ Vakumla Buharlaştırma
- ❖ Isıtma ve Karıştırma (Meneses *et al.* 2019).

NADES'ler geleneksel çözücülerle kıyaslandığı zaman farklı özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Polaritelerinin oldukça yüksek olduğu ve klasik çözücülerde çözünmeyen inorganik ve organik maddeleri çözebilme özelliğinin yanı sıra NADES'ler organik maddelerden oluşmakta olup, ucuz, biyobozunur, yanıcı olmayan, uçucu olmayan, çevre dostu, hazırlanması kolay, kokusuz ve renksiz çözücülerdir (Liu *et al.* 2018).

1.10. Çalışmanın Amacı

Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin ötesinde, yeni ve etkili bir ekstraksiyon yöntemi olan NADES, bitkisel materyallerden biyoaktif bileşenlerin elde edilmesinde öne çıkan bir yöntemdir. NADES, yeşil kimya içinde yer alır. Bu durumda metodun geliştirilmesi ve uygulanması önem kazanır. Litaratürde bu yenilikçi yöntemin, yıldız anasonu (*illicium verum*)’nun antioksidan potansiyeli üzerindeki etkileri henüz detaylı bir şekilde incelenmemiştir. Bu bağlamda NADES metodu ve geleneksel ekstraksiyon metotları ile elde edilen yıldız anasonu (*illicium verum*) ekstrelerinin, antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi çalışmalarının yapılması ve çalışmaların sonuçları karşılaştırılması NADES metodu ve geleneksel ekstraksiyon metotlarının antioksidan kapasiteleri üzerine olan etkisinin belirlenmesi bu çalışmanın en önemli amaçlarından biridir. Bunun yanında geleneksel ekstraksiyon metotları ile hazırlanan yıldız anasonu (*illicium verum*) ekstreleri ve trans-anetol’ün AChE ve BChE enzimleri üzerine inhibisyon etkisinin olup olmadığının belirlenmesi de çalışmanın amaçları arasındadır.

İKİNCİ BÖLÜM

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Yıldız anason (*illicium verum*) ile ilgili yapılan çalışmaları incelendiğinde, bu çalışmaların beslenme ve diyetetik (Bayram 2020), gastronomi ve mutfak sanatları (Kutal 2022) ve dermatoloji (Kaman 2023) alanlarında olduğu görülmektedir. Bayram (2020) çalışmasında yıldız anasonun metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Kutal (2022), Yıldız anason (*illicium verum*) kullanarak balık pişirmiş ve ilgili değerleri ölçmüştür. Kaman (2023) ise uçuk üzerinde etkili bitkisel kaynaklı antiviralleri içeren topikal nanoemüljel formülasyonlarının geliştirilmesine ilişkin çalışma yürütmüş ve burada yıldız anasonu kullanmıştır.

Literatürde NADES uygulamasının kullanıldığı bazı çalışmalar mevcuttur. Airouyuwa *et al.* (2023), yapmış oldukları çalışmalarında hurma tohumlarından oluşan ve bu tohumların biyoaktif bileşiklerinin araştırıldığı bölümde doğal derin öklektik çözelti (NADES) kullanmışlardır. Bu çalışma sonucunda NADES'lerin ekstrasyon verimliliklerinin yüksek olduğu, biyoaktif bileşik geri kazanım etkinliklerinin yüksek olduğu saptanmıştır.

Çeşitli ilaçların çözünürlüklerini saptamak için NADES kullanılmış. Test edilen NADES'te ilaç çözünürlüğünde bir iyileşme gözlemlenmiştir ve aynı zamanda çalışmada NADES ile ilaç molekülleri arasında bir hidrojen bağları ağının oluştuğunu öne sürmüşlerdir (Mustafa vd. 2021). Yapılan bir çalışmada da farklı boyutlarda da olsa, ilaçların H-bağına dayanan ve NADES bileşenlerinden, ilacın kendisinden ve sudan oluşan yeni bir moleküller arası düzeneğin parçası haline gelmiş olabileceğini öne sürdüler (Mokhtarpour *et al.* 2020).

Doldolova (2020), yaptığı çalışmada zerdaçal kullanarak antioksidanların mikrodalga destekli ekstaksiyonunu araştırmıştır. Bu çalışmasında NADES yöntemini uygulamıştır. Araştırma sonucunda da ekstraksiyon sıcaklığının, tüm NADES'ler için ekstraksiyon işleminde en önemli operasyonel faktör olduğu bulmuştur. Yapılan bir başka çalışma da farklı NADES'lerle böğürtlenden pigment eldesi ve karakterizasyonu çalışmasıdır. NADES'lerle yapılan bu çalışmada geleneksel çözücülere daha yüksek toplam fenolik madde, toplam flavonoid, toplam antosiyanin,

DPPH serbest radikal giderme etkisi, indirgeme gücü ve metal şelatlama aktivite değerleri elde etmişlerdir (Zannou 2022).

Antioksidanlarla ilgili alan yazında oldukça fazla çalışma görmek mümkündür. Bazı tahıl türlerinden elde edilen fenolik antioksidanların tespiti (Kardaş 2014), Demir (II,III)-esaslı antioksidan aktivite/kapasite tayin yöntemlerinin geliştirilmesinde kinetik ve termodinamik öğeler (Berker 2011), Üç farklı kabak türünün antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi (Tümer 2023), bazı polifenolik bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin tayini (Karademir 2005), farklı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi (Bilge 2023), Oksidatif protein hasarı ve antioksidanların önleyici etkisinin belirlenmesi için bir sensör geliştirilmesi (Bayarsaikhan 2018) gibi birçok çalışma mevcuttur.

Literatürde antioksidan tayini için birçok yöntem bulunmaktadır. Antioksidan tayin yöntemlerinden bazıları; TRAP yöntemi (Wayner *et al.* 1985), ORAC yöntemi (Ghiselli *et al.* 1995), ABTS radikali süpürme yöntemi (Miller *et al.* 1993), FC yöntemi (Slinkard and Singleton, 1977), CUPRAC yöntemi (Apak *et al.* 2004), FRAP yöntemi (Benzie and Szeto 1999), DPPH radikal yakalama yöntemi (Brand-Williams *et al.* 1995)'dir. Bu yöntemlerin mekanizma, uygulama şekli, uygulama süresi, pratikliği ve maliyeti açısından pek çok avantajı ve dezavantajı bulunmaktadır (Okan vd. 2013). Literatüre yeni antioksidan yöntemlerinin kazandırılmasının yanı sıra mevcut yöntemleri geliştirmek ve iyileştirmek üzere modifikasyon, sensör ya da kit geliştirmek için yapılan çalışmalar son zamanlarda önem kazanmıştır (Apak *et al.* 2020). DES veya NADES de bu yöntemlerden birisidir. NADES yöntemi ile bileşik içinde bulunan bazı moleküller ayrıştırılıp incelenebilmektedir. Enzimlerde bunlardan birisidir.

DES, biyo-kataliz, organik sentez ve elektrokimyasal işlemler gibi çok çeşitli potansiyel uygulamalara sahiptir (Smith *et al.* 2014; Gurkan *et al.* 2019; Svigelj *et al.* 2021). Diğer solventlere kıyasla gelişmiş biyolojik bozunabilirlik ve daha düşük toksisite sergilerler, bu özellikleri ile yeşil kimyada yerini almaktadır (Svigelj *et al.* 2021).

DES'lerin oldukça yaygın kullanım alanları mevcuttur. Birçok çalışmada ana çözücü uygulama metodu olarak kullanılmıştır. Alan yazın incelendiğinde, metodunda DES kullanan birtakım çalışmalar şu şekilde sıralanabilir:

- ❖ Cvjetko Bubalo *et al.* (2016), üzüm kabuğundan fenolik bileşikleri özütlemeye mikrodalga (MAE) ve ultrason destekli ekstraksiyon (UAE) yöntemleriyle birlikte DES'leri kullanmışlardır.
- ❖ Bakirtzi *et al.* (2016), rezene, mercanköşk, nane ve adaçayı gibi aromatik bitkilerden polifenollerini elde etmek için laktik asit bazlı NADES'leri kullanmışlardır.
- ❖ Dai *et al.* (2014), aspiden doğal pigmentlerin eldesinde kullanılan şeker bazlı NADES'lerin su veya %40 etanol çözeltisine göre daha stabil olduğunu saptamışlardır.
- ❖ Chanioti *et al.* (2018), homojenat (HAE), mikrodalga (MAE), ultrason (UAE) veya yüksek hidrostatik basınç (HHPAE) destekli ekstraksiyonlar ile birlikte farklı NADES'leri (HBA olarak kolin klorür ve HBD olarak sitrik asit, laktik asit, maltoz ve gliserol) kullanarak zeytin pirinasından fenolik bileşiklerin geri kazanımını araştırmışlardır.
- ❖ Barbieri *et al.* (2020), *Rosmarinus officinalis*'ten fenolik bileşiklerini elde etmede ultrason destekli ekstraksiyon ile kolin klorür bazlı derin ötektik çözünüyü kullanmışlardır.
- ❖ Alsaud *et al.* (2021), manuka ağacının (*Leptospermum scoparium*) yapraklarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda farklı polialkoller ve karboksilik asitlerle kombine kolin klorür ve tetrabütülamonyum klorür bazlı DES'leri kullanmışlardır.
- ❖ Tong *et al.* (2021), aspiden biyoaktif bileşiklerini çıkarmak ve biyoyararlanımını test etmek için ultrason destekli ekstraksiyon (BAE) ile birlikte farklı NADES'leri kullanmışlardır.
- ❖ Doldolova *et al.* (2021), zerdeçalın kurkumin ve antioksidan kapasitesini araştırmada mikrodalga destekli ekstraksiyon ile farklı NADES'ler kullanmışlardır.

İncelenen çalışmalarda NADES yönteminin gıda ve ilaç sektöründe çeşitli alanlarda kullanıldığı görülmektedir. Geleneksel yöntemlere göre birçok avantajı olan bu yöntemin Yıldız anasonu (*illicium verum*) üzerinde kullanılarak antioksidan aktivitelerinin incelenmesinin litartüre hem metotların kıyaslanması açısından hem de bilimsel veriler açısından katkı sunacağını düşünmekteyiz.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu bölümde tezde kullanılan kimyasal maddeler, alet ve cihazlar ile enzim inhibisyon çalışmaları ve antioksidan ölçüm süreçlerinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması ve kullanılan yöntemlerin esasları alt başlıklar halinde sunulup verilmiştir.

3. 1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada aseton, etanol, metanol, kolinklorür ve glikoz karışımı, kolinklorür ve sitrik asit karışımı, AChE ve BChE enzimleri, 5,5'-ditiyo-bis(2-nitrobenzoik Asit (DTNB), Asetiltiyokolin iyodat (AChI), Bütiriltiyokolin iyodat (BChI), 2,2'-azino-bis(3-etilbenztiyoazolin-6-sülfonik asit) (ABTS), neokuprin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH·) radikali, trikloroasetik asit (TCA), $K_3Fe(CN)_6$, $CuCl_2$, CH_3COONH_4 , bütillenmişhidroksianisol (BHA), bütillenmişhidroksitoluen (BHT), α -tokoferol ve troloks Sigma Aldrich'den temin edilmiştir. Çalışmanın ana maddesi olan Yıldız anason (*illicium verum*) ise Bangladeş'ten getirilmiş ve çalışmada kullanılmıştır.

3.1.2. Yararlanılan Aletler ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan materyaller Tablo 3.1.'de ifade edilmiştir.

Tablo 3. 1. Kullanılan Alet ve Cihazlar

	UV-VIS Spektrofotometre: Shimadzu, UV-1208
	Derin dondurucular (-30 ve -86oC) : Sanyo, Japan
	pH metre : Thermo
Kullanılan Alet ve Cihazlar	Hassas terazi: Denver Instrument
	İnkübatör: Wiseven
	Otomatik pipetler: Eppendorf ve Socorex
	Çalkalayıcı: Nüve SL 350
	Vorteks: Fisons, Whirlimixer

Saf su cihazı: Firstreem Calypso MK 1 Glass Still

Magnetik karıştırıcı: Jeio Tech

UV-Spektrofotometre küveti: 1 cm³ lük Kuartz Küvet

3.1.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

Araştırma sürecinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması, bu çözeltilerin kullanım yerleri ve uygulanan metotların kullanım süreçlerine ilişkin bilgiler alt başlıklar halinde sunulmuştur.

3.1.3.1. Enzim Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- **Asetilkolinesteraz Enzimin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler**

1. 1M'lık Tris-HCl Tamponunun (pH:8) Hazırlanışı: Hassas terazide 30,27 g Tris tartılıp hazırlanmıştır. 200 mL destile suda 5 mM'lık 0,370 g EDTA ile çözülüp pH'sı 8'e pH metre kullanılarak ayarlandı. Bu ayarlardan sonra 250 mL'ye destile su ile son hacim tamamlandı.
2. 10 mM'lık Asetilkolinyodat Çözeltisinin Hazırlanışı: hassas terazide 0.145 g Asetilkolinyodat tartıldı. Daha sonra miktarı 50 mL olan destile suda çözüldü.
3. 10mM'lık DTNB (5,5'-Ditiyo-bis(2-Nitrobenzoik Asit) Çözeltisinin Hazırlanışı: hassas terazide 0.01 g DTNB ve 0,5 g sodyum sitrat tartıldı. Ardından miktarı 50 mL olan destile suda çözüldü.

- **Butirilkolinesteraz Enzimin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler**

1. 50 mM'lık Fosfat Tamponunun (pH: 8) Hazırlanışı: hassas terazide 1,7745 g disodyum fosfat (Na₂HPO₄) tartılıp belirlenen miktar ayarlandı. Daha sonra miktarı 200 mL olarak hazırlanan destile suda çözüldü. Çözeltinin pH'ı 8'e ayarlanmak için pH metre kullanıldı. Karışımın son hali için 250 mL destile su ile edilerek son hacim tamamlandı.
2. 0,5 mM'lık Bütirilkolin iyodat Çözeltisinin Hazırlanışı: hassas terazide 0.008 g Bütirilkolin iyodat tartıldı. Tartılan gramaj miktarı 50 mL olan destile suda çözüldü.

3. 0,35 mM'lık DTNB Çözeltisinin Hazırlanışı: hassas terazide 7 mg DTNB tartıldı. 7 mg olarak elde edilen numune miktarı 50 mL olan destile suda çözüldü.

3.1.3.2. Antioksidan Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- **$\text{Fe}^{+3} - \text{Fe}^{+2}$ İndirgeme Tayini ile İlgili Çözeltiler**

1. 0,2 M fosfat tamponunun (pH: 6,6) hazırlanışı: miktarı yaklaşık 180 mL olarak belirlenen destile suda 6,24g Na_2HPO_4 numune çözüldü. Çözülümün pH'ı 6,6 olarak pH metre kullanılıp hazırlandı. Elde edilen numunenin son hacmine ulaşabilmesi için destile su kullanıldı. Numune 200 mL haline getirildi.
2. %1'lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ çözeltisinin hazırlanışı: Destile suda 1,5 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ çözüldü. Ardından hacmin 150 mL'ye ulaşması için destile su ilave edildi.
3. %10'luk TCA çözeltisinin hazırlanışı: Destile suda 10 g TCA çözüldü. Çözeltinin hacminin 100 mL'ye ulaşabilmesi için kalan miktar destile suyla tamamlandı.
4. %0,1'lik FeCl_3 çözeltisinin hazırlanışı: Destile suda 85 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözüldü. Çözeltinin son hacmi için 50 mL'ye destile su ilave edilerek tamamlandı.

- **Kuprak Metoduna Göre İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler**

1. 0,01 M'lık CuCl_2 çözeltisinin hazırlanması: Hassas terazi kullanılarak 47 mg CuCl_2 tartıldı. Tartılan miktar 50 mL destile suda çözüldü.
2. $7,5 \times 10^{-3}$ M'lık etanolik neokuprin çözeltisinin hazırlanışı: Hassas terazide 78 mg Neokuprin tartıldı ve elde edilen miktar 50 mL etanolda çözüldü.
3. 1 M'lık $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tamponunun (pH: 6,5) hazırlanışı: Hassas terazide 7,7 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tartıldı. Tartılan miktar 80 mL saf suda çözüldü. Ardından pH'ı 6,5 olarak pH metre kullanılarak ayarlandı. pH'ı ayarlanan çözeltinin son hacmi 100 mL'ye saf su ilave edilerek tamamlandı.

- **DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi ile İlgili Çözeltiler**

- 3 M'lık DPPH $\cdot$ çözeltisinin hazırlanışı: 40 mg DPPH $\cdot$ 100 mL etanolda manyetik karıştırıcı ile tamamen çözününceye kadar bir gece etanolda karıştırıldı.

- **ABTS⁺ Giderme Aktivitesi ile İlgili Çözeltiler**

1. 0,1 M'lık fosfat tamponunun hazırlanışı (pH: 7,4): 180 mL destile suda miktarı 2,84 g Na₂HPO₄ olarak belirlenen numune çözüldü. Çözeltinin pH'ını 6,6 olarak ayarlanmak için pH metre kullanıldı. Çözeltiye son hacim verilmek üzere destile su ilave edilerek çözelti 200 mL'ye tamamlandı.
2. 2 mM'lık ABTS çözeltisinin hazırlanışı: Bir gece boyunca manyetik karıştırıcı ile 0,1 M'lık 1 mg ABTS ve pH'sı 7,4 olan fosfat tampona tamamen çözününceye kadar karıştırıldı. Çözeltiye son hacmi destile su ilave edilerek 100 mL olarak belirlendi.
3. 2,5 mM'lık potasyum persülfat çözeltisinin hazırlanışı: Manyetik karıştırıcı ile 0,1 M'lık 66,25 mg K₂O₈S₂ ve pH'sı 7,4 olan fosfat tampon kullanılarak karışım tamamen çözülünceye kadar karıştırıldı. Karışımın son hacmi 100 mL'ye destile su kullanılarak tamamlandı.

3.1.3.3. Mesarasyon Yöntemi ile İlgili Hazırlanan Ekstreler

Yıldız anason (*illicium verum*) parçalayıcı öğütülmüştür. Öğütülen ürün hassas terazide tartılıp 10'ar gram şeklinde cam balonlara konulmuştur. Bu işlem için 4 ayrı cam balon kullanılmıştır. 10 gram Yıldız anason (*illicium verum*) yerleştirilen cam balonlar içerisinde sırasıyla 100 mL su, 100 mL aseton, 100 mL etanol ve 100 mL metanol karıştırılmıştır.

Yıldız anasonun öğütülmüş 10 gr ile 100'er mL su, aseton, etanol ve metanol karışımları ile elde edilen ilk ekstreler 1 gün bekletilip süzölmüştür. Bu 4 cam balonda olan çözeltilerden elde edilen süzüntüye 100 mL çözücü daha eklenerek birleşim işlemi yapılmıştır. Daha sonra evaporotör yardımı ile çektirme işlemi yapılmış ve çözücüler uzaklaştırılıp stoklar oluşturulmuştur. Su ekstresi -80 °C'de dondurulduktan sonra liyofilizatör yardımıyla su ortamdan uzaklaştırılarak yıldız anasonun su ekstresi hazırlanarak kullanılmaya kadar -20 °C'de tutuldu.

3.1.3.4. NADES Çözeltilerinin Hazırlanması

NADES'lerin hazırlanmasında hidrojen bağı donörü olarak kolin klorür (ChCl) ve 2 çeşit hidrojen bağı alıcısı olarak sitrik asit (CA) ve glikoz (G) kullanılmıştır. ChCl kullanılmadan önce etüvde kurutulmuştur. Hazırlanan NADES'ler 80°C'de homojen renksiz bir sıvı oluşuncaya kadar su banyosunda tutulmuştur. Çalışmada hazırlanan

çözeltiler amber renkli hava almayan cam şişelerde oda şartlarında saklanmıştır. **Tablo 3.1.3.4**'de verilen formülasyonlarla NADES'ler hazırlanmış ve kodları verilmiştir.

Tablo 3.1.3.4 Hazırlanan NADES'lerin içerikleri

Hidrojen bağı donörü (HBD)	Hidrojen bağı alıcısı (HBA)	Molar	Su	KOD
Kolin klorür (1,39 g)	Sitrik asit (6,30 g)	1/3	%50	NADES-CA
Kolin klorür (1,39 g)	Glikoz (7,20 g)	1/3	%17	NADES-G

Toz haline getirilmiş olan yıldız anason (*illicium verum*)'dan 0.25 g alınarak falkon tüplere konuldu. Daha sonrasında hazırlanmış olan NADES'lerden 5 mL eklendi. İyice vortekslenen karışım ultrasonik banyoda ortalama 50-60°C 'de 60 dk boyunca ekstraksiyona tabi tutuldu. Ekstraksiyon sonunda süzme işlemi yapılarak süzüntüler toplandı. Toplanmış süzüntüler çalışmalar yapılana kadar buzdolabında +4°C 'de tutuldu.

3.2. Yöntem

Bu bölümde Enzim inhibisyonu ve antioksidan çalışmaları ilgili başlıklar halinde sunulmuştur.

3.2.1. Enzim İnhibisyonu Çalışmaları

a) AChE ve BChE Enzimlerinin Tayini

Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrelerinin ve trans-anetol'un, AChE ve BChE üzerindeki inhibisyon etkisi araştırıldı. Ellman (Ellman 1961) yöntemiyle yapıldı. Daha sonra IC₅₀ değerleri bulundu. Kullanılan bu metot şu şekilde ifade edilebilir; çalışmada bahsedildiği üzere bu enzimler asetilkolinin tiyokolin ve asetata parçalanması reaksiyonunu katalizlerler. Ürün olarak açığa çıkan tiyokolin ile DTNB'nin reaksiyonu sonucu sarı renk veren 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit oluşur. Oluşan renk 412 nm'de ölçülür (Ellman 1961). Örnek ve kör kuvvetlerinin 412 nm dalga boyunda, 0. ve 5. dakikadaki absorbansları ölçülür (Göçer, 2014).

Bu çalışmada AChE ve BChE enzimleri üzerine Ellman yöntemi kullanılarak inhibisyon işlemleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar kaydedilmiştir. Çalışmalarda yıldız anason aseton (YAA) (12,3 mg/1,23 mL), yıldız anason metonol (YAM) (10,0 mg/ 1

mL), yıldız anason etanol (YAE) (11,2 mg/1,12 mL) ve yıldız anason su (YAS) (10,4 mg/ 1,04 mL) ve trans-anetol (10 mg/10 mL) stok çözeltilerden örnekler alınıp önce seyreltilmeden daha sonra da sırasıyla 2, 2.5, 5, 7 ve 10 kat seyreltilerek pipetleme yapılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir.

3.2.2. Antioksidan Çalışmaları

a) 2,2-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikali giderme aktivitesi:

ABTS radikali giderme aktivitesi bu çalışmada Re ve arkadaşlarının metodu doğrultusunda gerçekleştirildi (1999). Çalışmanın ilk aşamasında ABTS çözeltisi 7 mM'lık olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiye 2,45 mM'lık persülfat çözeltisi ABTS radikalleri üretmek için ilave edildi. Aktivite incelenmeden önce, kontrol çözeltisi 734 nm'de absorbansı $0,700 \pm 0,025$ olarak pH'ı 7,4 olan 0,1 M ve fosfat tamponu hazırlandı. Yıldız anason (*illicium verum*)'lu stok çözeltileri ve trans-anetol stok çözeltisi 1 mg/mL konsantrasyonunda hazırlandı. ABTS radikal çözeltisi, ekstrelerin ve trans-anetol'un farklı konsantrasyonlarına (10-30 µg/mL) ilave edildi. Ardından çözelti yarım saat inkübe edildi. Etanoldan oluşan 734 nm'deki köre karşı absorbans değerleri kaydedildi.

b) 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikali giderme aktivitesi:

Serbest radikal olarak 1 mM'lık DPPH çözeltisi kullanıldı. Önceden hazırlanan stok çözeltilerden deney tüplerine 1 mg/mL miktarlarla eklendi. Hazırlanan bu stok çözeltilerden sırayla 10, 20 ve 30 µg/mL miktarlarda deney tüplerine eklendi. Deney tüplerindeki toplam hacimler etanol ile 3 mL olarak ayarlandı. Bu ayarlamaların sonucunda numune tüplerinin her birine DPPH çözeltisinden 1 mL ilave edildi. Karanlık ve oda sıcaklığında yarım saat inkübe edildi. Etanol kör olarak kullanıldı ve 517 nm'de absorbans okundu. 1 mL DPPH çözeltisi ve 3 mL etanol bu aşamada kontrol olarak kullanıldı (Göçer ve Gülçin 2011).

c) Cu^{2+} - Cu^{+} indirgeme kapasitesi (Kuprak metodu):

Apak metodunun (Apak *et al.* 2006) hafif bir modifikasyonu ile Cu^{2+} indirgeme aktivitesi trans-anetol molekülünde ve yıldız anasonu çözeltileri üzerinde yapıldı (Ak

ve Gülçin 2008). Hazırlanan yıldız anasonlu stok çözeltileri ve trans-anetol stok çözeltisi 1 mg/mL madde miktarı ile miktarları 10, 20, 30 µg/mL olarak düzenlenip pipetlendi. Ardından bu pipetlenen karışımlara sırasıyla 0,25 mL CuCl₂ çözeltisi (0,01 M), 0,25 mL etanolikneokuprin çözeltisi (7,5x10⁻³ M) ve 0,25 mL CH₃COONH₄ tampon çözeltisi (1 M) ilave edildi. Bu ekleme işleminden yarım saat sonra destile su olan köre karşı 700 nm’de absorbans değerleri ölçüldü.

d) Fe³⁺ -Fe²⁺ indirgeme kapasitesi:

İlk olarak yıldız anasonlu stok çözeltileri ve trans-anetol 1 mg/mL madde miktarı ile hazırlanmıştır. Deney tüplerine sırasıyla 40, 80, 120 µg/mL madde miktarı ile stok çözelti aktarılmıştır. 1 mL olacak şekilde destile su kullanılarak deney tüplerindeki çözelti tamamlanmıştır. Tamamlanan çözeltilere 2,5 mL 0,2 M’lık fosfat tamponu (pH:6,6) ve 2,5 mL %1’lik potasyum ferrisiyanür [K₃Fe(CN)₆] maddelere eklendi. Elde edilen bu karışım, 50°C’de 20 dakika olarak inkübe edildi. Elde edilen bu tepkime karışımına daha sonra 2,5 mL %10’luk TCA ilave edildi. Çözeltinin üst fazından 2,5 mL alınıp ve bunun üzerine 2,5 mL destile su ve 0,5 mL %0,1’lik FeCl₃ ilave edildikten sonra absorbans 700 nm’de okundu. Bu işlem aşamasında destile su kör olarak kullanıldı. Destile su numune yerine kontrol olarak bu işlemde kullanıldı.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

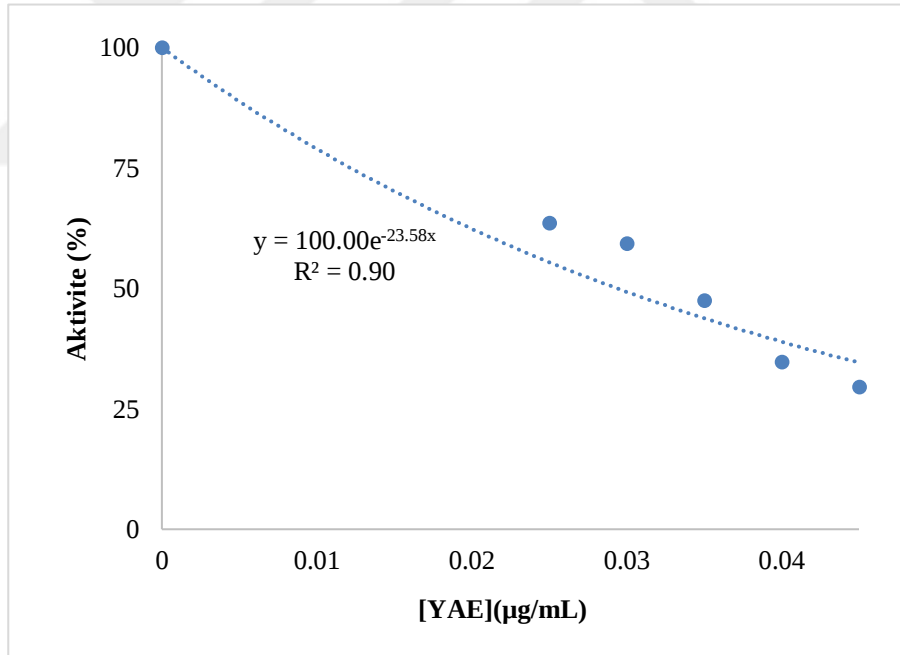
Bu bölümde araştırmaya ilişkin bulgular ilgili alt başlıklar halinde tablo, grafik ve yorumlamalar ile birlikte verilmiştir.

4.1. İnhibisyon Çalışmalarına İlişkin Araştırma Bulguları

4.1.1. Yıldız Anason (*illicium verum*) Ekstrelerinin AChE Enzimi Üzerine İnhibisyon Çalışmaları

a) Etanol ekstresinin inhibisyon etkisinin belirlenmesine ilişkin sonuçlar

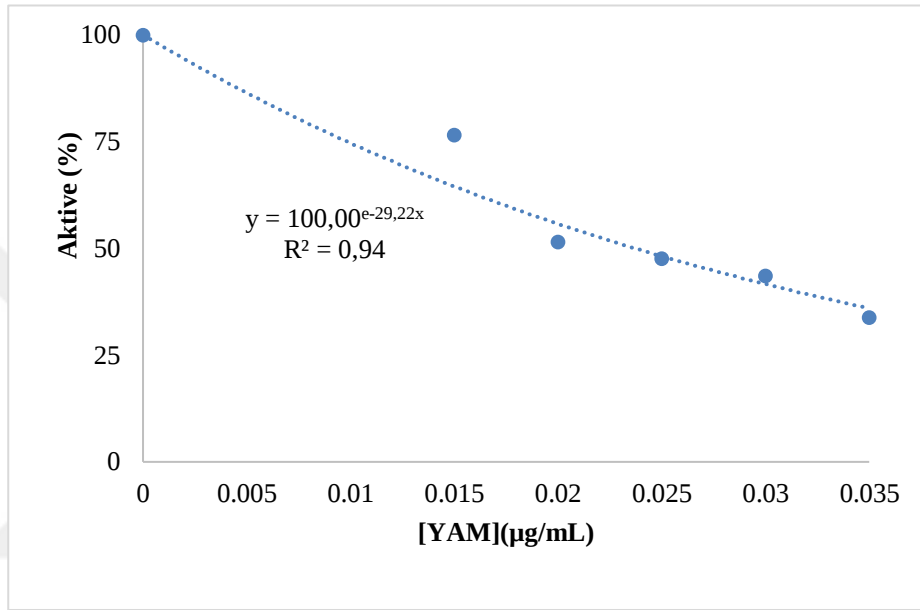
AChE için yıldız anason etanol (YAE) 'ün inhibisyon çalışmaları doygun substrat konsantrasyonunda gerçekleştirildi. İnhibisyon etkisi gösteren YAE için Aktivite (%)- [I] grafiği çizildi. Daha sonra bu grafikten % 50 inhibisyona sebep olan YAE konsantrasyonu (IC₅₀ değeri) hesaplandı. İlgili grafik Şekil 4.1.'de sunulmuştur.



Şekil 4.1. AChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAE konsantrasyonunda IC₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAE] grafiği

b) Metanol ekstresinin inhibisyon etkisinin belirlenmesiyle ilgili yapılan çalışma sonuçları

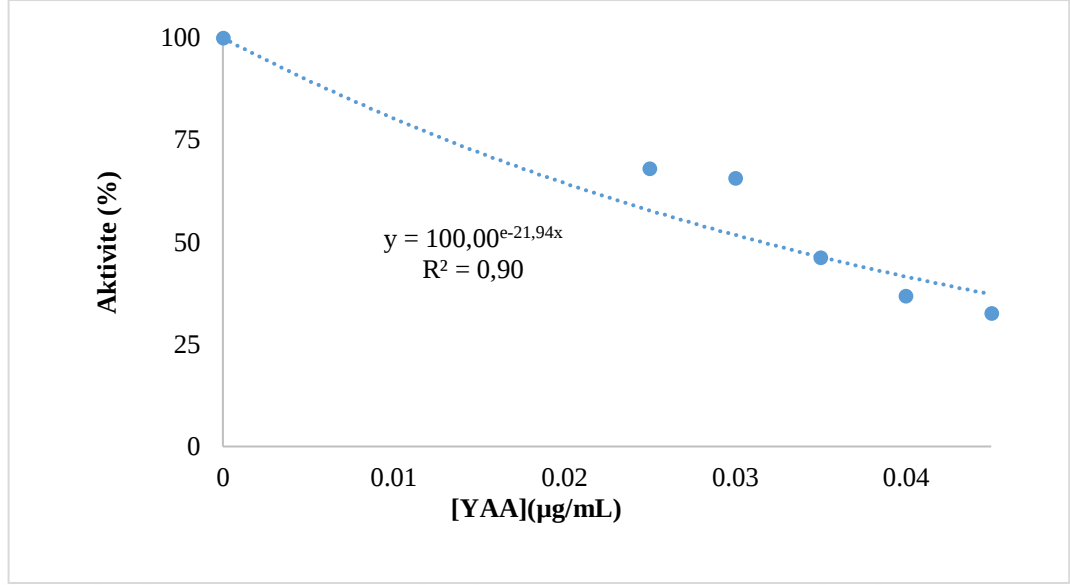
AChE için yıldız anason metanol (YAM)'ün inhibisyon çalışmaları doymuş substrat konsantrasyonunda gerçekleştirildi. İnhibisyon etkisi gösteren YAM için Aktivite (%) - [I] grafiği çizildi. Daha sonra bu grafikten %50 inhibisyona sebep olan YAM konsantrasyonu (IC₅₀ değeri) hesaplandı. İlgili grafik Şekil 4.2'de sunulmuştur.



Şekil 4.2. AChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAM konsantrasyonunda IC₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAM] grafiği

c) Aseton ekstresinin inhibisyon etkisinin belirlenmesiyle ilgili yapılan çalışma sonuçları

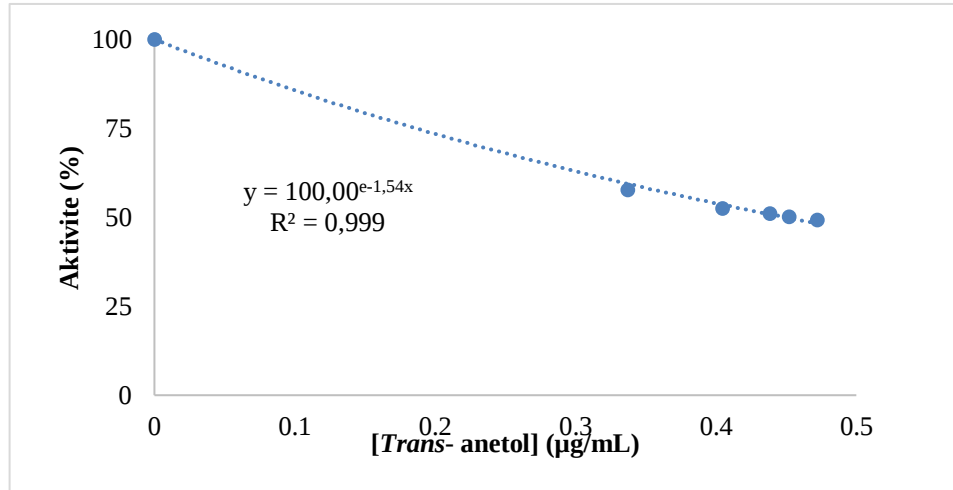
AChE için yıldız anason aseton (YAA) 'un inhibisyon çalışmaları doymuş substrat konsantrasyonunda gerçekleştirildi. İnhibisyon etkisi gösteren YAM için Aktivite(%)- [I] grafiği çizildi. Daha sonra bu grafikten % 50 inhibisyona sebep olan YAA konsantrasyonu (IC₅₀ değeri) hesaplandı. İlgili grafik Şekil 4.3'te sunulmuştur.



Şekil 4.3. AChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAA konsantrasyonunda IC₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAA] grafiği

d)Yıldız anasonu (*illicium verum*)’ nun majör maddesi olan Trans-anetol’un inhibisyon çalışmaları

AChE için Trans-anetol’ün inhibisyon çalışmaları doymuş substrat konsantrasyonunda gerçekleştirildi. İnhibisyon etkisi gösteren Trans-anetol için Aktivite(%)- [I] grafiği çizildi. Daha sonra bu grafikten %50 inhibisyona sebep olan Trans-anetol konsantrasyonları (IC₅₀ değerleri) hesaplandı. İlgili grafik **Şekil 4.4**’de sunulmuştur.



Şekil 4.4. AChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı Trans-anetol konsantrasyonunda [Trans-anetol] IC₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[Trans-anetol] grafiği

Tablo 4.1. Yıldız anason (*illicium verum*) Ekstreleri, trans-anetol ve Pozitif kontrol'ün AChE enzimi için IC₅₀ Sonuçları

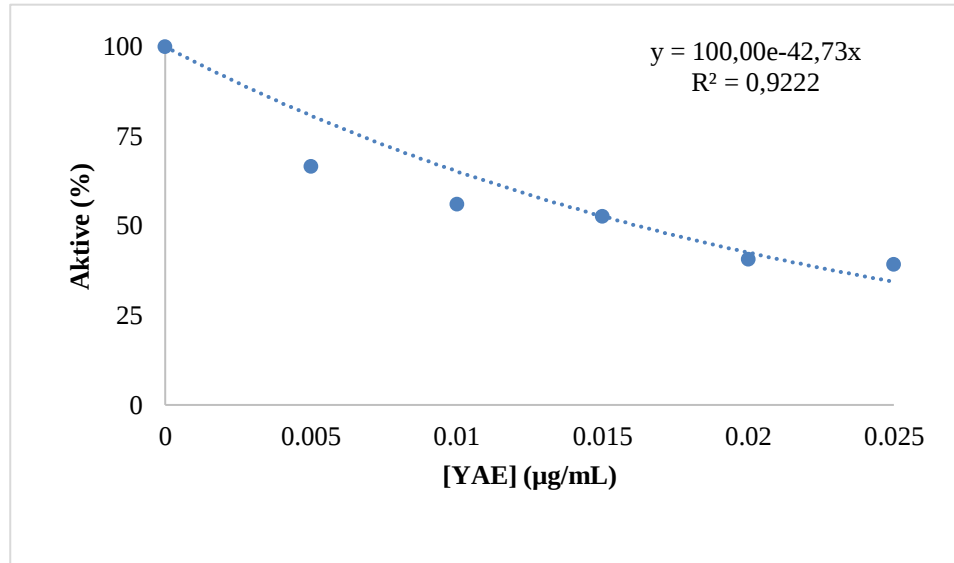
Ekstreler	AchE((µg/mL)	
	IC ₅₀	R ²
YAM	237,15	0,9479
YAA	315,79	0,9050
YAS	-	-
YAE	293,91	0,9399
t-Anetol*	449,0	0,9973
Takrin**	98,92	0,9898

*: µM, **:nM

4.1.2. Yıldız anason (*illicium verum*) Ekstrelerinin BchE Enzimi Üzerine İnhibisyon Çalışmaları

a) Etanol ekstresinin inhibisyon etkisinin belirlenmesiyle ilgili yapılan çalışma sonuçları

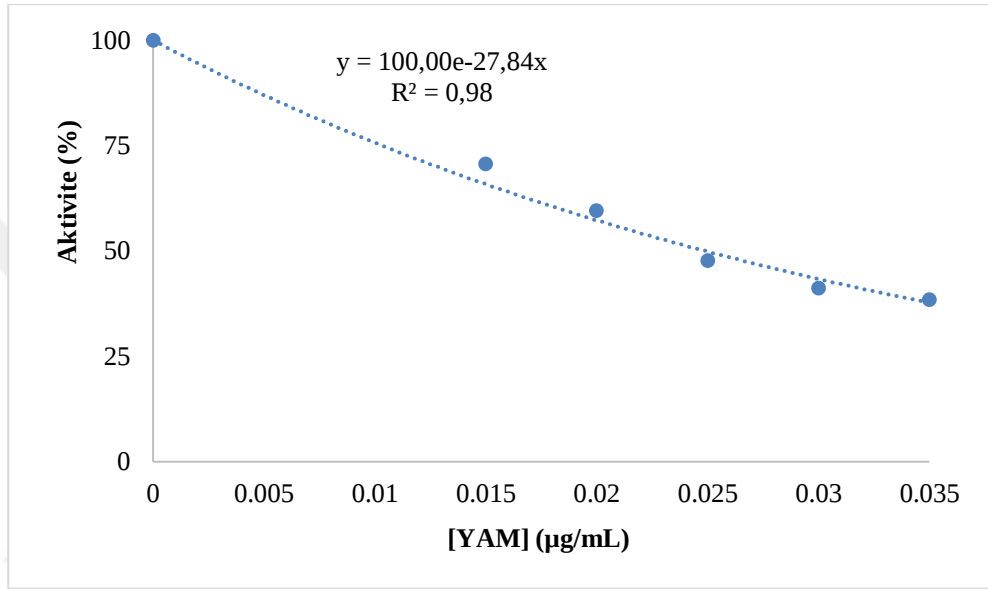
BchE için yıldız anason etanol (YAE) 'ün inhibisyon çalışmaları doymuş substrat konsantrasyonunda yapıldı. İnhibisyon etkisi gösteren YAE için aktivite(%)-[I] grafiği çizildi. Daha sonra bu grafikten %50 inhibisyona sebep olan YAE konsantrasyonu yani IC₅₀ hesaplandı. İlgili grafik **Şekil 4.5**'de sunulmuştur.



Şekil 4. 5. BchE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAE konsantrasyonunda IC₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAE] grafiği

b) Metanol ekstresinin inhibisyon etkisinin belirlenmesiyle ilgili yapılan çalışma sonuçları

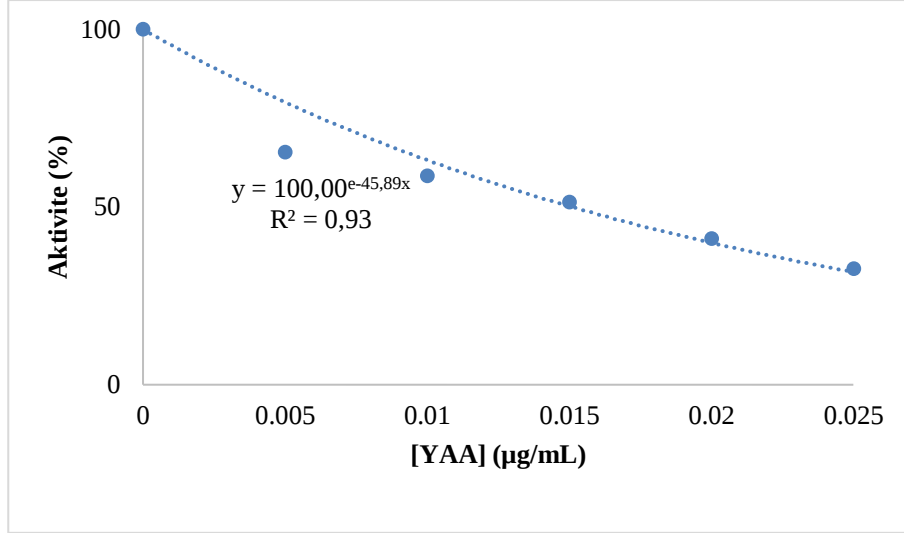
AchE için yıldız anason metanol (YAM) 'ün inhibisyon çalışmaları doymuş substrat konsantrasyonunda gerçekleştirildi. İnhibisyon etkisi gösteren YAM için Aktivite (%)- [I] grafiği çizildi. Daha sonra bu grafikten % 50 inhibisyona sebep olan YAM konsantrasyonu (IC₅₀) hesaplandı. İlgili grafik **Şekil 4.6**'da sunulmuştur.



Şekil 4. 6. BChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAM konsantrasyonunda IC₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAM] grafiği

c) Aseton ekstresinin inhibisyon etkisinin belirlenmesiyle ilgili yapılan çalışma sonuçları

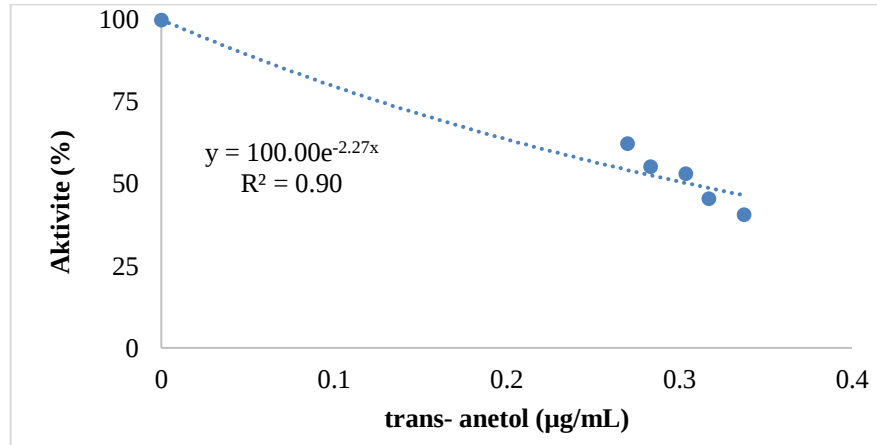
BChE için yıldız anason aseton (YAA) 'un inhibisyon çalışmaları doymuş substrat konsantrasyonunda gerçekleştirildi. İnhibisyon etkisi gösteren YAA için Aktivite(%)- [I] grafiği çizildi. Daha sonra bu grafikten %50 inhibisyona sebep olan YAA konsantrasyonu (IC₅₀) hesaplandı. İlgili grafik **Şekil 4.7.**'de sunulmuştur.



Şekil 4.7. BChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı YAA konsantrasyonunda IC₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[YAA] grafiği

d) Yıldız anasonunun majör maddesi olan trans-anetol'un inhibisyon çalışmaları

BChE için trans-anetol'un inhibisyon çalışmaları doygun substrat konsantrasyonunda gerçekleştirildi. İnhibisyon etkisi gösteren trans-anetol için Aktivite(%)- [I] grafiği çizildi. Daha sonra bu grafikten %50 inhibisyona sebep olan trans-anetol konsantrasyonu IC₅₀ değeri hesaplandı. İlgili grafik **Şekil 4.8.**'de sunulmuştur



Şekil 4.8. BChE enziminin Ellman metodu ile çalışılan beş farklı trans- anetol konsantrasyonunda IC₅₀ değerinin bulunması için çizilen Aktivite(%)-[trans- anetol] grafiği

Tablo 4. 2. Yıldız anason (*illicium verum*) ekstreleri, trans-anetol ve pozitif kontrol'ün BChE enzimi için IC₅₀ sonuçları

Ekstreler	BChE((µg/mL)	
	IC ₅₀	R ²
YAM	248,88	0,9873
YAA	150,98	0,9471
YAS	-	-
YAE	162,15	0,9222
t-Anetol*	763,99	0,9458
Takrin**	14,83	0,9518

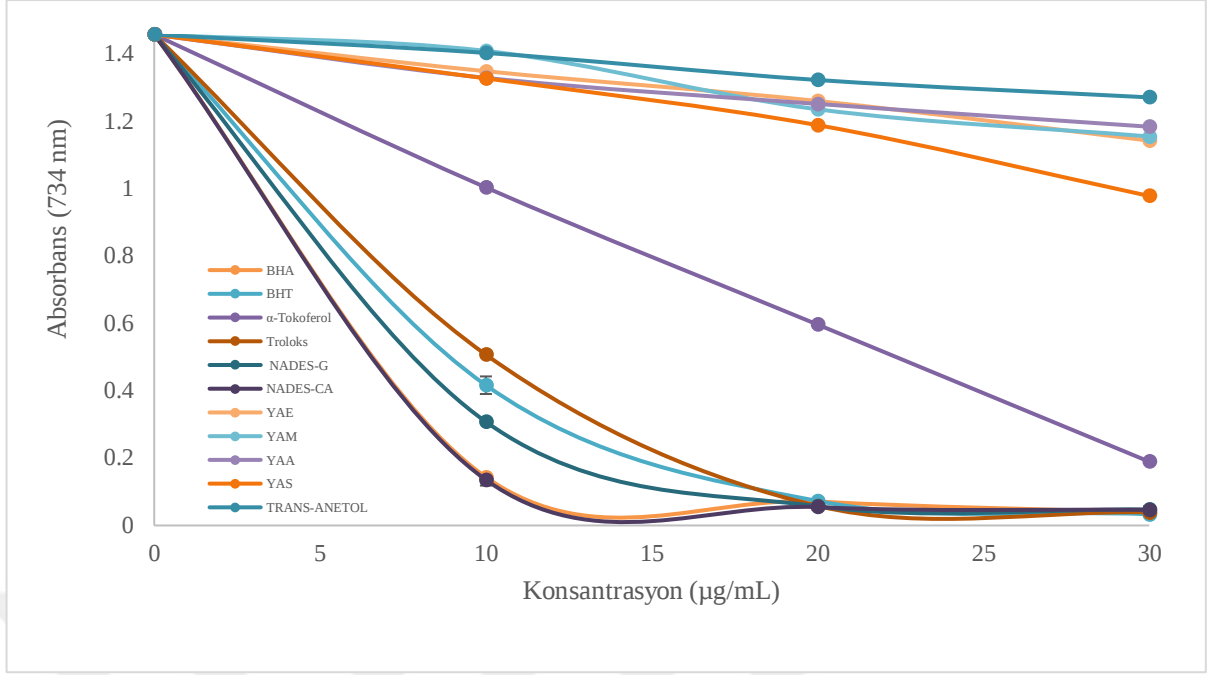
*: µM, **:nM

4.2. Antioksidan Çalışmalar ile İlgili Araştırma Bulguları

4.2.1. ABTS Radikal giderme aktivesi bulguları

ABTS⁺ giderme aktivitesi, ekstreler, içecekler, sulu karışımlar ve saf maddelerin radikal giderme çalışmalarına sık sık kullanılmaktadır (Miller 1996; Gülçin vd. 2007b). Radikal giderme aktivitesi için ilk yapılması gereken ABTS'den ABTS⁺⁺'nin oluşturulmasıdır. Belirtilen önceliğin gerçekleştirilmesi için bir erlen içerisinde 0,1 M, pH 7,4 olan fosfat tamponu içerisinde 2 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlandı. 2,45 mM'lık potasyum persülfat (K₂O₈S₂) çözeltiye ilave edildi (Gülçin 2007).

Ekstrelerin dış yüzeyi alüminyum folyo yardımı ile sarılıp kapatıldı, 12 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Ekstre hazırlandıktan sonra 734 nm'deki absorbans değeri 0.750-1,200 olacak şekilde tampon ekstre ile seyreltildi. Seyreltilme işleminin ardından Yıldız anason (*illicium verum*) ile hazırlanmış ekstrelerin çalışmada kullanılan standart antioksidan bileşiklerin (BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks gibi) ABTS⁺ giderme aktiviteleri tayini için grafik oluşturuldu. Yapılan ölçümlere ilişkin grafik **Şekil 4. 9**'da sunulmuştur.

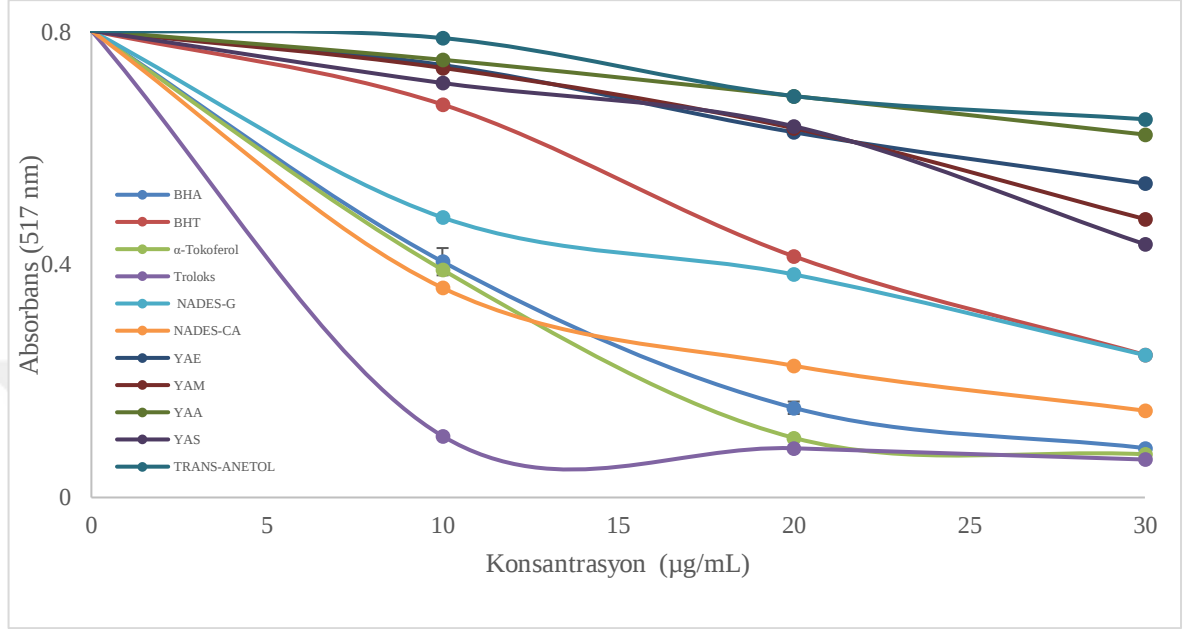


Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlardaki Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrlerinin, *trans*- anetol'un ve standartların (10-30 µg /mL) ABTS^{•+} giderme aktivitesi için çizilen grafiği

Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrlerinin ve *trans*-anetol'un ABTS^{•+} radikali giderme aktivitesi çizildikten sonra her standart ekstre için ayrı ayrı IC₅₀ değerleri hesaplandı. Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrlerinin ve *trans*-anetolun kullanılan standart antioksidan moleküller sırasıyla şu şekilde ABTS^{•+} giderme aktivitesi sergilediler: NADES-CA (IC₅₀:5,02 µg/mL)>BHA (IC₅₀:5,03 µM)>BHT (IC₅₀:5,21 µM)>Troloks (IC₅₀:5,29 µM)>NADES-G (IC₅₀:5,30 µg/mL)>α-Tokoferol (IC₅₀:11,75 µM)> YAS (IC₅₀:57,75 µg/mL)>YAM(IC₅₀:86,60 µg/mL)> YAE (IC₅₀:88,85 µg/mL)> YAA (IC₅₀:99,00 µg/mL) > *Trans*-anetol (IC₅₀:138,60 µM) şeklindedir.

4.2.2. DPPH Serbest radikal aktivesi bulguları

Yıldız anason (*illicium verum*) çözeltilerinin ve *trans*- Anetol'un DPPH radikali giderme aktivitesi Şekil 4.10'da görüldüğü gibi konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artmaktadır.



Şekil 4.10. Farklı konsantrasyonlardaki Yıldız anason (*illicium verum*) ekstraktlarının *trans*-Anetol'un ve standartların (10-30 µg /mL) DPPH radikal giderme aktivitesi için çizilen grafiğ

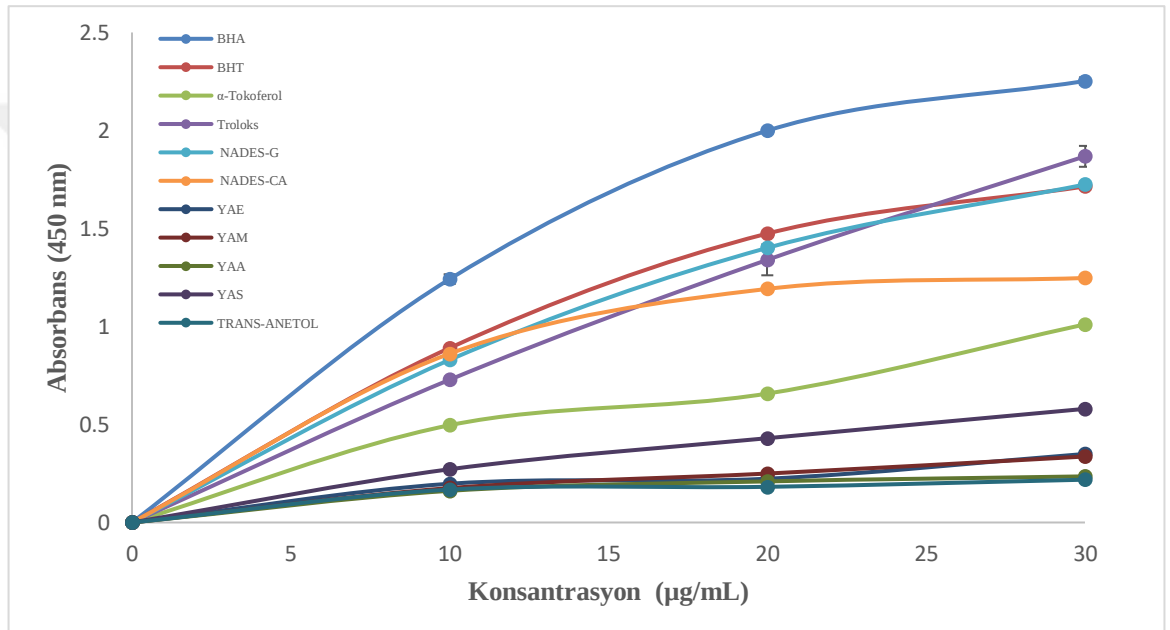
Yıldız anason (*illicium verum*) ekstraktlarının ve *trans*- anetol'un DPPH radikali giderme aktivitesi grafiği çizildikten sonra her bir standart ve Yıldız anason (*illicium verum*) ekstraktları için ayrı ayrı IC₅₀ değerleri hesaplandı. Yıldız anason (*illicium verum*) ekstraktlarının ve *trans*- anetol kullanılan standart antioksidan moleküller sırasıyla şu şekilde DPPH radikali giderme aktivitesi sergilediler: Troloks(IC₅₀:6.90 µM)> αTokoferol (IC₅₀:8,11 µM) > BHA(IC₅₀:9,05 µM)> NADESCA(IC₅₀:11,59 µg /mL)> NADESG(IC₅₀:17,50 µg /mL)> BHT(IC₅₀:19,20 µM)> YAS(IC₅₀:40,29 µg /mL)> YAM(IC₅₀:46,20 µg /mL)> YAE (IC₅₀:55,00 µg /mL)> YAA (IC₅₀:86,63 µg /mL)> *Trans*-anetol (IC₅₀:99,00 µM) şeklindedir.

Tablo 4.3. DPPH Serbest radikal aktivesi ve ABTS Radikal giderme aktivesi sonuçları
(Standart antioksidanlar ve t-Anetol için μM ; Yıldız anasonu ekstreleri için $\mu\text{g/mL}$)

Antioksidanlar	DPPH $\cdot$ Giderme		ABTS $^{++}$ Giderme	
	IC ₅₀	R ²	IC ₅₀	R ²
BHA	9,05	0,9958	5,03	0,9739
BHT	19,2	0,9422	5,21	0,9986
α-Tokoferol	8,11	0,9875	11,75	0,9507
Troloks	6,90	0,9274	5,29	0,9894
NADES-G	17,50	0,9805	5,30	0,9952
NADES-CA	11,59	0,9792	5,02	0,9722
YAE	55,00	0,9750	88,85	0,9948
YAM	46,20	0,9356	86,60	0,9512
YAA	86,63	0,9905	99,00	0,9843
YAS	40,29	0,9069	57,75	0,9708
t-Anetol	99,00	0,9175	138,6	0,9926

4.2.3. Cu^{+2} - Cu^+ indirgeme kuvveti (Kuprak metodu) bulgular

Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrlerinin ve *trans*- anetol'un kuprik iyonlarını (Cu^{+2}) indirgeme kapasitesi, konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrlerinin ve *trans*- anetol'un kuprik iyonlarını (Cu^{+2}) indirgeme kapasitesi farklı konsantrasyondaki (10-30 $\mu\text{g/mL}$) ekstrlerinin 450 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlendi. İlgili grafik Şekil 4.11'de sunulmuştur.

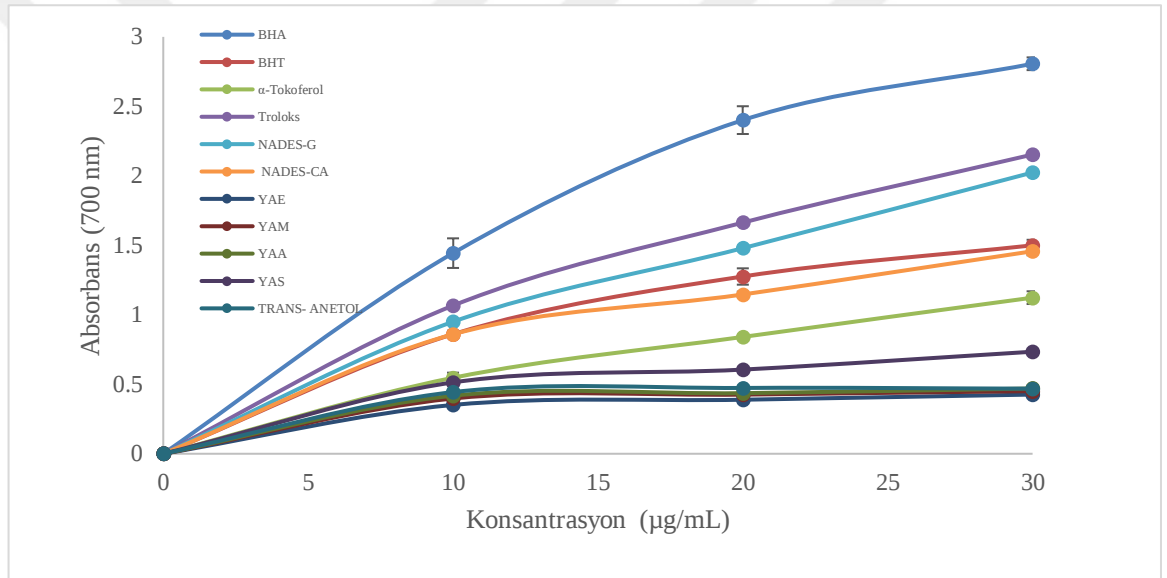


Şekil 4.11. Farklı konsantrasyonlardaki Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrlerinin *Trans*- anetol'un ve standartların (10-30 $\mu\text{g /ml}$) Cu^{+2} - Cu^+ indirgeme aktivitesi için çizilen grafiği

Bu konsantrasyonda Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrlerinin ve *trans*- anetol'un kuprik iyonlarını (Cu^{+2}) kupröz iyonlarına (Cu^+) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında λ_{450} absorbans değerleri; BHA(λ_{450} :2,252 $\pm$ 0,018) > Troloks(λ_{450} :1,868 $\pm$ 0,053)>NADESG(λ_{450} :1,724 $\pm$ 0,108)>BHT(λ_{450} :1,714 $\pm$ 0,138) >NADESCA(λ_{450} :1,247 $\pm$ 0,085)> α Tokoferol(λ_{450} :1,010 $\pm$ 0,111)>YAS(λ_{450} :0,579 $\pm$ 0,03>YAE(λ_{450} :0,349 $\pm$ 0,007)>YAM(λ_{450} :0,336 $\pm$ 0,036)>YAA(λ_{450} :0,235 $\pm$ 0,006)>*Trans* - anetol (λ_{450} :0,218 $\pm$ 0,013) şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi.

4.2.4. Fe³⁺ -Fe²⁺ indirgeme kuvveti bulguları

Antioksidan etkileri araştırırken kullanılan bu biyoanalitik metotta renk değişimleri söz konusudur. Antioksidan maddelerin indirgeme aktiviteleri test ekstre rengini sarıdan yeşile dönüştürmektedir (Gülçin, 2006). Bu çalışma kapsamında kullanılan Yıldız anason (*illicium verum*) ile hazırlanmış olan NADES ekstraları ve Yıldız anason (*illicium verum*) Etanol ve Yıldız anason (*illicium verum*) Metanol antioksidan indirgeme kapasiteleri ekstre konsantrasyonundaki artışla doğru orantılı bir şekilde artış göstermektedir. Farklı konsantrasyonlarda (10-30 µg/mL) görülen bu değişim ekstraların 700 nm'deki absorbanslarında ölçümü yapılarak belirlenmiş ve Şekil 4.12'de sunulmuştur.



Şekil 4.12. Farklı konsantrasyonlardaki Yıldız anason (*illicium verum*) ekstralarının *Trans-* anetol'un ve standartların (10-30 µg /mL) (Fe³⁺) indirgeme kuvvetleri için çizilen grafiği

Şekil 4.12'de sunulan grafikte Yıldız anason (*illicium verum*) ekstralarının ve *Trans-* anetol'un ferrik iyonlarını (Fe³⁺) indirgeme kuvvetlerinin birbirleriyle karşılaştırılmaları λ_{700} 'de absorbans; BHA(λ_{700} :2,806±0,045)> Troloks(λ_{700} :2,153±0,114)> NADES-G (λ_{700} :2,024±0,043)> BHT(λ_{700} :1,5±0,039)> NADESCA(λ_{700} :1,457±0,029)>αTokoferol(λ_{700} :1,123±0,045)>YAS(λ_{700} :0,734±0,01>YAA(λ_{700} :0,469±0,012)>*Trans-* anetol(λ_{700} :0,468±0,006)> YAM (λ_{700} :0,450±0,014)>YAE(λ_{700} :0,426±0,016) şeklinde olduğu belirlendi.

Tablo 4.4. Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme kuvveti (Kuprak metodu) ve Fe³⁺ -Fe²⁺ indirgeme kuvveti sonuçları (30 µg /mL)

Antioksidanlar	Fe ³⁺	Cu ²⁺
	indirgeme λ_{700}	indirgeme λ_{450}
BHA	2,806±0,045	2,252±0,018
BHT	1,5±0,039	1,714±0,138
α -Tokoferol	1,123±0,045	1,010±0,111
Troloks	2,153±0,114	1,868±0,053
NADES-G	2,024±0,043	1,724±0,108
NADES-CA	1,457±0,029	1,247±0,085
YAE	0,426±0,016	0,349±0,007
YAM	0,450±0,014	0,336±0,036
YAA	0,469±0,012	0,235±0,006
YAS	0,734±0,019	0,579±0,037
t-Anetol	0,468±0,006	0,218±0,013

4.2.5. Antioksidanlara İlişkin Tüm Sonuçlar

Antioksidan tayinlerine ilişkin gerçekleştirilen analizlerin toplam sonuçları **Tablo 4.5'**de sunulmuştur.

Tablo 4. 5. Antioksidan Çalışmalarının Tüm Sonuçları

Antioksidanlar	Fe ³⁺	Cu ²⁺	DPPH· Giderme		ABTS ⁺ Giderme	
	indirgeme λ_{700}	indirgeme λ_{450}	($\mu\text{g/mL}$) IC ₅₀	R ²	($\mu\text{g/mL}$) IC ₅₀	R ²
BHA	2,806±0,045	2,252±0,018	9,05	0,9958	5,03	0,9739
BHT	1,5±0,039	1,714±0,138	19,2	0,9422	5,21	0,9986
α -Tokoferol	1,123±0,045	1,010±0,111	8,11	0,9875	11,75	0,9507
Trolaks	2,153±0,114	1,868±0,053	6,9	0,9274	5,29	0,9894
NADES-G	2,024±0,043	1,724±0,108	17,5	0,9805	5,3	0,9952
NADES-CA	1,457±0,029	1,247±0,085	11,59	0,9792	5,02	0,9722
YAE	0,426±0,016	0,349±0,007	55	0,975	88,85	0,9948
YAM	0,450±0,014	0,336±0,036	46,2	0,9356	86,6	0,9512
YAA	0,469±0,012	0,235±0,006	86,63	0,9905	99	0,9843
YAS	0,734±0,019	0,579±0,037	40,29	0,9069	57,75	0,9708
t-Anetol	0,468±0,006	0,218±0,013	99	0,9175	138,6	0,9926

Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrelerininve Trans-anetol'un gerçekleştirilen tüm antioksidan tayin yöntemleri sonuçları **Tablo 4.5'**de sunulmuştur. Tabloda da görüldüğü üzere NADES yöntemi ile hazırlanan NADES-G ve NADES-CA ekstrelerinin antioksidan ölçümleri daha yüksek bulunmuştur. Tüm ekstrelerin konsantrasyonu arttıkça doğru orantılı olarak antioksidan etkilerinde artış görüldüğü saptanmıştır.

BEŞİNCİ BÖLÜM

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Kolinestazın insanlarda bulunan ilk formu olan AChE enzimi işlevi bakımından oldukça önemlidir. Beyin işlevinin % 80'inden bu enzim sorumludur (Shidore *et al.* 2016). Kırmızı kan ve beyinde yüksek miktarda bulunan bu enzim kolin esterleri hidrolize etmektedir (Kaplay 1976). AChE enzimi asetilkolini hızlı hidrolizleyebilmektedir (Chatonnet and Lockridge 1989). Bu enzim sinaptik boşluklarda var olan asetilkolini, asetat ve koline hidrolize edip inaktive eder. İlk kez 1914 yılında Henry Hallet Dale tarafından ilk kez AChE enzimi keşfedilmiştir. Otto Lewi, gerçekleştirmiş olduğu çalışmada kurbağaların kalplerini ele aldığı deneysel çalışmalarında asetilkolinin nörotransmitter olduğu sonucuna ulaşmıştır. Yaptığı bu çalışma Lewi'ye 1936 yılında Nobel Ödülünü kazandırmıştır. Böylece Parkinson ve Alzheimer hastalıklarının, metabolizmasında, asetilkolinin etkili olduğu ortaya çıkmıştır (Jokanović and Maksimović 1997). Aşırı AChE salgılanmasının neden olduğu bu bozuklukların tedavisinde günümüzde donepezil ve takrin gibi sentetik ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların istenmeyen yan etkilere neden olduğu da bilinmektedir (Bal vd. 2020).

Bu çalışmada da AChE enzimi üzerine Yıldız anason (*illicium verum*) ile hazırlanmış ekstraktların ve trans-anetol'ün inhibisyon etkileri araştırılmıştır. AChE ile gerçekleştirilen deney sonuçlarında kullanılan çözeltiler konsantrasyonlarının artışına doğrusal olarak inhibisyon etkilerinin de artış gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışmada da Yıldız anason (*illicium verum*) ve trans-anetol'ün AChE enzim inhibisyon etkisinin olması nedeniyle yapılacak ilaç dizayn çalışmalarında yol gösterici ya da fikir verici olabileceği düşünülmektedir.

Kolinestazın insanlarda bulunan diğer formu olan BChE enzimi AChE enzim aktivitesinden geriye kalan %20'lik kısımdan sorumludur. BChE enzimi spesifik bir enzim değildir. AChE enziminin yedeği olarak çalışmaktadır (Kaplay, 1976; Rao vd., 2007). Sentetik yollarda BChE enziminin hidrolizleme işlemini daha fazla gösterdiği görülmektedir (Chatonnet and Lockridge 1989).

Bu çalışmada BChE enzimi ile gerçekleştirilen deneylerde kullanılan çözeltiler konsantrasyonlarının artışına doğrusal olarak inhibisyon etkilerinin de artış gösterdiği

saptanmıştır. Bitkilerin BChE enzim aktivasyonu gösterdiği, güçlü antioksidan etkiler gösterdiği literatürde mevcuttur. Yıldız anason (*illicium verum*) ekstreleri BChE enzimi üzerine inhibisyon etki göstermiştir. Ancak su ekstresinde inhibisyon gözlemlenmemiştir. **Tablo 5.1.**'de enzimlere ait IC₅₀ değerleri verilmiştir. AChE enzmi için en iyi inhibisyon etkiyi sırasıyla yıldız anason metanol(YAM), yıldız anason etanol(YAE) ve yıldız anason aseton(YAA) ekstreleri göstermiştir. Yıldız anason (*illicium verum*) majör maddesi olan trans-anetol ise µM seviyede inhibisyon etki göstermiştir. BChE enzimi için bakıldığında en iyi inhibisyon etkiyi göstere ekstreler sırasıyla YAA, YAE, YAM göstermiştir. Yıldız anason (*illicium verum*) majör maddesi olan trans-anetol ise µM seviyede inhibisyon etki göstermiştir.

Tablo 5. 1. Yıldız anason (*illicium verum*) ekstreleri ile trans-anetolun IC₅₀ değerlerine ilişkin enzim inhibisyon sonuçları

Ekstreler	AChE (µg/mL)		BChE (µg/mL)	
	IC ₅₀	R ²	IC ₅₀	R ²
YAM	237,15	0,9479	248,88	0,9873
YAA	315,79	0,9050	150,98	0,9471
YAS	-	-	-	-
YAE	293,91	0,9399	162,15	0,9222
t-Anetol*	449,00	0,9973	763,99	0,9458
Takrin**	98,92	0,9898	14,83	0,9518

*: µM, **:nM, -: Etki göstermedi

Bayram (2020) gerçekleştirmiş olduğu çalışmada Yıldız anason (*illicium verum*) bitkisini de kullandığı çeşitli bitkilerin mikroorganizmalardaki antibakteriyel özelliklerini incelemiştir. Gerçekleştirdiği çalışma, sonuçların Yıldız anason (*illicium verum*)'nun antibakteriyel özellikleri sergilediği sonucuna ulaşmıştır. Literatürde Yıldız anason (*illicium verum*) ile ilgili yürütülen çalışmalar çok fazla değildir. Ama bitkinin kökeni ve özelliklerini araştırmak için gerçekleştirilen çalışmaların antibakteriyel ve antioksidan özelliklerini vurguladığı görülmektedir. Yıldız anason (*illicium verum*)'nun ilaç endüstrisinde, gıda sektöründe ve sağlık sektöründe kullanımlarının olduğu görülmektedir (Dzamic *et al.* 2009; Bhadra, Mukherjee, Kumar and Bandyopadhyay 2011).

Antioksidan çalışmalarının gerçekleştirilebilmesi için ilk olarak ABTS tekniği seçilmiştir. Seçilen bu tekniğin çalışma kapsamında analiz edilmesinde ABTS ve bir oksidan olan $K_2S_2O_8$ arasındaki reaksiyon temel alınmıştır. ABTS ve bu oksidan arasında oluşan reaksiyonda mavi yeşil ABTS kromoforunun oluşumu ya da oluşan radikal katyonun ölçülmesi analizin temelini oluşturmaktadır. 734 nm’de ABTS ve katyon birleşimi maksimum seviyede absorbanans gösterir. Bu yüzden çalışma kapsamında 734 nm’de incelemeler gerçekleştirilmiştir. Radikal katyonun oluşturulmasında çalışma kapsamındaki belirlenen oksidan madde dışındaki başka maddelerde hazırlanıp kullanılabilir. Oksidan olarak potasyum persülfat kullanılabilirdiği gibi Mn_2O_3 ’de kullanılabilir. $K_2S_2O_8$ veya Mn_2O_3 varlığında ABTS’den $ABTS^{+}$ meydana gelebilir (Kaviarasan *et al.* 2006).

ABTS radikalleri DPPH radikallerine göre daha reaktif hareketler sergilemektedirler. DPPH reaksiyonlarında H atom transferi gerçekleşmesi gerektiğinden bunlar farklı seyreder. ABTS radikallerindeyse DPPH’nin aksine bir elektron transferi söz konusudur (Kaviarasan *et al.* 2006). Çalışmada ABTS radikali giderme aktivitesi ile ilgili sonuçlara bakıldığında (**Tablo 5.2.**) çalışma kapsamında kullanılan Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrelerinin ve Trans-anetol’ün ABTS radikali giderme aktivitesi ile ilgili IC_{50} değerleri sırasıyla NADES-CA(IC_{50} :5,02 $\mu g/mL$)> BHA(IC_{50} :5,03 μM) > BHT (IC_{50} :5,21 μM)> Troloks (IC_{50} :5,29 μM) > NADES-G (IC_{50} :5,3 $\mu g/mL$)> α -Tokoferol (IC_{50} :11,75 μM) > YAS (IC_{50} :57,75 $\mu g/mL$) > YAM (IC_{50} :86,60 $\mu g/mL$) > YAE(IC_{50} :88,85 $\mu g/mL$)> YAA (IC_{50} :99,00 $\mu g/mL$) > trans-anetol (IC_{50} :138.60 μM) şeklinde olmuştur. Karadağ (2019) yapmış olduğu çalışmada Türkiye’deki bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan potansiyelleri ve fenolik kompozisyonlarını incelemiştir. Çalışma içerisinde antioksidan aktivitesi incelemesinde ABTS radikal giderme aktivitesi metotunu kullanmış ve tartışmıştır. İncelediği bitkilerde IC_{50} değerlerini, düşük olarak saptamıştır. Bu da bu bitkilerin sahip olduğu antioksidan aktivitenin yüksek olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada da kullanılan Yıldız anason (*illicium verum*) bitkisinin NADES karışımları diğer ekstrelelere oranla daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

DPPH bir serbest radikal olup daha uzun ömürlüdür. Ömür süresinin diğer radikallere göre daha uzun olması radikal giderme aktivitelerinde kullanılmasının

sebebinin oluşturur. Genellikle antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerinde kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu yöntemde antioksidan maddeler sarı renkli difenil-pikrilhidrazine indirgeyerek DPPH radikallerinin değişimini gerçekleştirir. Bu yöntemin esasında alkolde çözülen DPPH radikallerinin redüksiyonu söz konusudur. Antioksidan maddeler bu redüksiyonu oluşturmaktadır. Oluşan bu redüksiyonun sonucunda radikal olmayan bir DPPH molekülü oluşur. Oluşan bu molekülün ölçümünde 517 nm esas alınmaktadır. Çünkü bu birimde bu molekül herhangi bir absorbans vermemektedir. Bu sebeple 517 nm'de aktivite tayini gerçekleştirilebilmektedir.

Son zamanlarda radikal giderme aktivitesine konu olan birçok çalışma söz konusudur. İlgili alan yazında radikal giderme aktivitesine inceleyen mekanizmalara ilişkin çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Gülçin tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise DPPH radikal giderme aktivitesinin mekanizması detaylı bir şekilde incelenerek sunulmuştur (2006). Çalışmasında L-Karnitin ile DPPH radikal giderme aktivitesini gerçekleştirmiştir. Bu çalışmadaki sonuçlar DPPH radikal giderme aktivitesine ilişkin bir kontrol mekanizması oluşturmaktadır.

Çalışmamız kapsamında, DPPH radikali giderme aktivitesi ile ilgili sonuçlara bakıldığında (Tablo 5.2.) çalışma kapsamında kullanılan Yıldız anason (*illicium verum*) ekstreleri ve *Trans*- anetol'un DPPH radikali giderme aktivitesi ile ilgili IC₅₀ değerleri sırasıyla Troloks (IC₅₀:6.90 µM) > α-Tokoferol (IC₅₀:8,11 µM) > BHA (IC₅₀:9,05 µM) > NADES-CA (IC₅₀:11,59 µg/mL) > NADES-G (IC₅₀:17,50) > BHT (IC₅₀:19,20 µM) > YAS (IC₅₀:40,29 µg/mL) > YAM (IC₅₀:46,20 µg/mL) > YAE (IC₅₀:55,00 µg/mL) > YAA (IC₅₀:86,63 µg/mL) > *trans*- anetol (IC₅₀:99,00 µM) olarak bulunmuştur (Tablo 5.2).

Bilindiği üzere metabolizmada serbest halde demir ve bakır metalleri mevcuttur ve bunlar metabolizma tarafından kontrol edilebilmektedir. Demir iyonları barsaklar tarafından emildikten sonra transferin proteinleri tarafından ferrik iyonları (Fe³⁺) formunda demir ihtiyacı olan hücrelere iletilir ve ferröz iyonları (Fe²⁺) şeklinde ferritin ve hemosferin proteinlerinde depolanır. İnsan plazmasında bulunan bakır ise büyük bir kısmı serbest radikal reaksiyonlarını uyarmazlar seruloplazmin proteinine bağlı haldedir (Halliwell 1994). Ancak durum böyle iken, metabolizmadaki

normal dengeleri değiştiği durumlarda hidroksil radikali oluşur (Chevion et al. 1993). Oluşan bu radikaller ciddi hücre hasarına ve dolayısıyla doku hasarlarına sebep olur bunun neticesinde fagositlerin aktivasyonu veya liziz olmuş hücrelerden geçiş metal iyonlarının serbest kalması sonucunda serbest oksijen türleri oluşabilmektedir. Fagositler, vücut içerisindeki yabancı organizma ve maddeleri sindirip yok eder. Serbest radikal oluşumu doku ve hücrelere zarar vererek dolaylı bir yolla geçiş metallerinin yayılmasıyla daha fazla serbest radikal oluşumuna ve onların da hücredeki zararlarının kat kat artmasına sebep olmaktadır. Enzim ve proteinlerin yapılarında bulunan amino asitlerin tiyol gruplarını da oksitleyerek deaktive ederler. Serbest radikaller aynı zamanda hücre membranında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini de oksitleyerek büyük ölçüde hücre hasarlarına da sebep olur (Gülçin 2012).

İndirgeme kapasitesi bir bileşiğin ya da ekstrelerin antioksidan kapasitesinin varlığı ile ilgili en önemli faktörlerden biridir (Meir et al. 1995). Bunun yanında saf bir maddenin antioksidan özelliği ve ekstrelerin antioksidan özelliği farklı mekanizmalar üzerinden yürüyebilir. Örneğin geçiş metallerinin sebep olduğu oksidasyonlar için antioksidan bileşiğin indirgeme gücü antioksidan özellikleri açısından önemli değildir ancak bileşiğin ya da ekstrenin metal şelatlama özelliğinin olması sistemde oksidasyonu durduracak veya hızını yavaşlatacak olması açısından önemlidir. Enzimatik sistemlerde de olduğu gibi örneğin; katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi primer antioksidan enzimlerin antioksidan özelliği, onların indirgeme glerinden veya fenolik bileşik içerdiklerinden değil, hidrojen peroksiti uzaklaştırabilme kabiliyetlerinin olmasından kaynaklanır (Halliwell and Gutteridge 1989). Sonuç olarak denilebilir ki antioksidan bileşikler antioksidan aktivitelerini geçiş metal iyonlarını bağlama, peroksitleri parçalama, radikal giderme gibi değişik mekanizmalar ile ortaya koyabilirler (Diplock 1997; Gülçin 2002).

Çalışmamızda yapılan iki ayrı indirme kapasitesi metodu bu anlamda önem taşımaktadır. Bunlardan biri olan (Fe^{+3}) indirgeme kuvvetinin sonuçları incelendiğinde (**Tablo 5.2**) Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrelerinin ve *Trans*- anetol'un ferrik iyonlarını (Fe^{+3}) indirgeme kuvvetlerinin birbirleriyle karşılaştırılmalarında $BHA(\lambda_{700}:2,806\pm0,045)>Troloks(\lambda_{700}:2,153\pm0,114)>NADESG(\lambda_{700}:2,024\pm0,043)>BHT(\lambda_{700}:1,5\pm0,039)>NADESCA(\lambda_{700}:1,457\pm0,029)>\alpha$ Tokoferol($\lambda_{700}:1,123\pm0,045)>YAS(\lambda_{700}:0,734\pm0,01) >YAA(\lambda_{700}:0,469\pm0,012)>Trans$ - anetol($\lambda_{700}:0,468\pm0,006)>$

YAM ($\lambda_{700}:0,450\pm0,014$) >YAE($\lambda_{700}:0,426\pm0,016$) şeklinde sıralamanın olduğu görülmektedir. NADES-G karışımının standart BHT ve α -Tokoferol den indirgeme kuvveti bakımından daha yüksek olduğu görülmekle birlikte çalışmadaki diğer kullanılan çözelti ve maddelerden yüksek olduğu görülmüştür. İndirgeme kapasitesinin artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Bu çalışmada da NADES-G karışımı bazı standartlardan daha yüksek Fe^{+3} indirgeme kuvveti göstermiştir.

Diğer bir indirgeme yöntemi olarak KUPRAK metodu kullanılmaktadır. Apak ve grubu tarafından yapılan çalıştırmalar kapsamında geliştirilen bir metot olan KUPRAK (2006) özellikle Gülçin ve grubu tarafından yaygın bir şekilde kullanılmıştır (Gülçin 2008, 2010; Gülçin vd. 2010). KUPRAK metodunun yaygın kullanımının sebepleri düşük maliyetli, hızlı, rahat uygulanabilen ve kararlı bir yöntem olmasıdır. Ayrıca indirgeyici maddelerin molekül yapıları incelendiğinde birçok antioksidan için uygulanabilir bir metottur. Örneğin fenolik bileşiklerin aktivitelerinde veya Glutasyon gibi tiyol grubu içeren antioksidanların aktivite ölçümlerinde sık sık başvurulabilen ve uygulanabilen bir yöntemdir. KUPRAK metodu incelendiğinde esasen bir redoks reaksiyonudur ve kronolojik bir yöntemdir. Bu yöntemin gerçekleştirildiği pH ise normal fizyolojik pH'e yakın bir değerdir (pH: 7.0) (Apak *et al.* 2006; Gülçin 2008; Köksal vd. 2009).

Tablo 5. 2. Antioksidan Çalışmalarının Tüm Sonuçları

Antioksidanlar	Fe ³⁺ indirgeme λ_{700}	Cu ²⁺ indirgeme λ_{450}	DPPH• Giderme IC ₅₀	Giderme r ²	ABTS ⁺⁺ Giderme IC ₅₀	Giderme r ²
BHA	2,806±0,045	2,252±0,018	9,05	0,9958	5,03	0,9739
BHT	1,5±0,039	1,714±0,138	19,20	0,9422	5,21	0,9986
α-Tokoferol	1,123±0,045	1,010±0,111	8,11	0,9875	11,75	0,9507
Troloks	2,153±0,114	1,868±0,053	6,90	0,9274	5,29	0,9894
NADES-G	2,024±0,043	1,724±0,108	17,50	0,9805	5,30	0,9952
NADES-CA	1,457±0,029	1,247±0,085	11,59	0,9792	5,02	0,9722
YAE	0,426±0,016	0,349±0,007	55,00	0,975	88,85	0,9948
YAM	0,450±0,014	0,336±0,036	46,20	0,9356	86,60	0,9512
YAA	0,469±0,012	0,235±0,006	86,63	0,9905	99,00	0,9843
YAS	0,734±0,019	0,579±0,037	40,29	0,9069	57,75	0,9708
t-Anetol	0,468±0,006	0,218±0,013	99,00	0,9175	138,6	0,9926

Çalışmadaki sonuçlar incelendiğinde (**Tablo 5.2.**) Yıldız anason (*illicium verum*) çözeltilerinin ve *Trans*- anetol'un kuprik iyonlarını (Cu²⁺) kupröz iyonlarına Cu⁺ indirgeme aktiviteleri;

BHA(λ_{450} :2,252±0,018)>Troloks(λ_{450} :1,868±0,053)>NADESG(λ_{450} :1,724±0,108)>BHT(λ_{450} :1,714±0,138)>NADESCA(λ_{450} :1,247±0,085)> α Tokoferol(λ_{450} :1,010±0,111)>YAS(λ_{450} :0,579±0,037>YAE(λ_{450} :0,349±0,007)>YAM(λ_{450} :0,336±0,036)>YAA(λ_{450} :0,235±0,006) >*Trans*- anetol (λ_{450} :0,218±0,013) şeklinde olmuştur.

Çalışma sonucuna göre KUPRAK metodu ile Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrelerinin indirgeme kapasitelerinin olduğu görülmüştür. Bu çalışmada NADES- G antioksidan aktivite bakımından diğer ekstrele göre yüksek görülmüştür. Yıldız anason (*illicium verum*) majör maddesi olan *trans*-Anetol ise μ M seviyede inhibisyon etki göstermiştir.

Gerçekleştirilen tüm bu antioksidan çalışmalarında Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrelerinin ve *trans*-anetol'un bazı standartlarla karşılaştırma işlemi yapılmıştır. Standartlar için BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks gibi maddeler kullanılmıştır. Bu çalışma kapsamında belirlenen antioksidan metodlarının çoğunda

NADES çözeltilerini ve bunlardan da NADES-G çözeltisinin yüksek aktivite gösterdiği görülmüştür. Çalışma kapsamında kullanılan *Trans*- anetol ise hem standartlardan hem de NADES çözeltilerinden daha düşük seviyede aktiviteler göstermiştir. Cui *et al.* (2015), yapmış oldukları ekstraksiyon işleminde kolin klorür ve 1,6 hekzandiol ile oluşturdukları derin ötektik çözücü içine farklı oranlarda (%0-90) su ekleyerek çözeltiler oluşturmuştur ve en yüksek ekstraksiyon veriminin %30 oranında su eklenmesiyle elde ettiklerini bildirmişlerdir. Peng vd. (2016)'de yine yapmış oldukları derin ötektik çözücü ile ilgili araştırmada %10 su eklediklerinde ekstraksiyon veriminin arttığını belirtmişlerdir. Zhang and Wang (2017), Cui *et al.* (2015) gibi yapmış oldukları çalışmada %30 oranında su eklenen karışımın en yüksek ekstraksiyon verimine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Derin ötektik çözücülerin su ile seyreltilerek kullanımının ekstraksiyon verimin arttırdığını gösteren çalışmalar rapor edilmiştir. Bu çalışmada da NADES çözeltilerinin su ile seyreltilip kullanılması sonucunda ekstraksiyon verimliliğinin arttığı görülmüştür.

Yapılan antioksidan ve radikal giderme aktiviteleri sonuçlarına bakıldığında Yıldız anason (*illicium verum*) ekstrelerinin maserasyon ve NADES yöntemi ile ayrı ayrı hazırlanan ekstrelerinin ve *Trans*- anetol'un indirgeme kapasitesinin konsantrasyon artışına paralel olarak arttığı görülmektedir. Bunlardan NADES çözeltileri yüksek indirgeme kapasiteleri sergilerken *Trans*- anetol beklenen seviyede bir indirgeme kapasitesi göstermemiştir.

Tez çalışması kapsamında yapılan ve ekstraksiyon işlemi için kullanılan daha etkili çözücünün geliştirilmesi en büyük amaçlarımızdandı. Normal geleneksel maserasyon ekstraksiyon işlemleri yapıldı ve ayrıca NADES (doğal derin ötektik çözücüler) metodu ile ekstratlar hazırlandı. NADES geleneksel çözücülerle kıyaslandığı zaman farklı özelliklere sahiptir. Polaritelerinin oldukça yüksek olması ve klasik çözücülerde çözünmeyen inorganik ve organik maddeleri çözebilmesi ve bunun yanı sıra NADES organik maddelerden oluşması, ucuz, biyobozunur, yanıcı olmayan, uçucu olmayan, çevre dostu, hazırlanması kolay, kokusuz ve renksiz olması yöntemi değerli kılar. (Liu *et al.* 2018). Çalışmada NADES'lerin hazırlanmasında hidrojen bağı donörü olarak kolin klorür (ChCl) ve 2 çeşit hidrojen bağı alıcısı olarak sitrik asit (CA) ve glikoz (G) kullanılmıştır. Bu NADES çözücülerini kullanılarak Yıldız anason (*illicium verum*) ekstreleri hazırlanmıştır. Antioksidan çalışmaları sırasında

kullanılan ekstrelerin tamamının antioksidan verileri kıyaslandığında NADES ekstrelerinin antioksidan ve radikal giderme potansiyellerinin daha yüksek olduğu belirlendi. Hatta bazı standart antioksidanlardan daha iyi antioksidan kapasiteye sahip oldukları belirlendi (**Tablo 5.2.**).

DES'lerin hazırlanmasında farklı tiplerin olduğu daha önce de bahsedilmiştir. Bu tiplerin içerisinde günümüzde de en yaygın kullanımı olan tip Organik Tuz+ HDB' dir (Satlewal *et. al* 2018). Bu tip DES'lerin içerisinde seçimi yapılabilen çok sayıda hidrojen bağ alıcısı ve vericisi mevcuttur. Bu durum DES'lerin yüksek uyum gösterebilmeleri ile sonuçlanmaktadır. Kendisini oluşturan bileşenlerin çoğu doğal olduğu için doğal derin ötektik çözücüler olarak (NADES) adlandırılan DES'ler kolayca biyolojik olarak parçalanma gerçekleştirebilmektedirler (Xu vd. 2017). NADES'ler doğal maddelere sahiptirler ve birçok farklı organizma tarafından değişimlere uğrayarak ya da doğrudan metabolize edilebilirler (Mbous *et. al* 2017).

Polifenolik bileşenler, flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere iki ana bileşen grubundan oluşmaktadır. Flavonoidler, flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanonoller, flavanoller, antosiyaninler ve kalkonlar gibi çeşitli alt grupları içeren sekonder bitkisel metabolitlerdir. İzoflavonlar ve neoflavonoidler de bu gruplara dâhildir. En bilinen alt gruplar, benzo-piron iskeleti içeren bileşiklerdir. Flavonoidler genellikle glikozit formunda bulunur ve aglikonlar karbonhidrat grubuyla glikozidik bağ ile bağlanır. Fenol gruplarının varlığı, flavonoid moleküllerine antiradikal aktivite kazandırır ve oluşan radikaller, fenol gruplarının rezonansı ile stabilize edilir. Fenolik asitler, karboksilik ve fenol gruplarına sahip bileşiklerdir ve antioksidan aktiviteleriyle dikkat çekerler, oksidasyon süreçlerini önlerler, oksijen türlerinin oluşumunu engellerler ve prooksidatif metallerin şelatlanmasını sağlarlar (Balasundram *et. al* 2006; Meral vd. 2012).

Sonuç olarak çalışmamız gösterdi ki NADES yöntemi ile hazırlanan ekstreler Yıldız anason (*illicium verum*) içerisinde yer alan ancak geleneksel çözücüler ile çözünemeyen inorganik ve organik maddelerin, daha iyi çözülmesi nedeni ile daha yüksek antioksidan etki göstermiş ve bitkinin maserasyon yönteminde belirlenen antioksidan kapasitesinden daha çok antioksidan kapasitesine sahip olduğunu belirlenmiştir.

KAYNAKÇA

- Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., Rasheed, R. K. ve Tambyrajah, V. 2003. "Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures". *Chemical Communications*, (1), 70–71.
- Airouyuwa, J.O., Mostafa, H., Riaz, A. *et al.* .2023. Natural Deep Eutectic Solvents and Microwave-Assisted Green Extraction for Efficient Recovery of Bioactive Compounds from By-Products of Date Fruit (*Phoenix dactylifera* L.) Processing: Modeling, Optimization, and Phenolic Characterization. *Food Bioprocess Technol* 16, 824–843 . <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02960-8>
- Alsaud, N., Shahbaz, K., ve Farid, M. 2021. Application of deep eutectic solvents in the extraction of polyphenolic antioxidants from New Zealand Manuka leaves (*Leptospermum Scoparium*): optimization and antioxidant activity. *Journal of Molecular Liquids*. 337. 116385. doi:10.1016/j.molliq.2021.116385.
- Aly, S. E., Sabry, B. A., Shaheen, M. S., ve Hathout, A. S. 2016. Assessment of antimycotoxigenic and antioxidant activity of star anise (*Illicium verum*) in vitro. *Journal of the saudi society of agricultural sciences*, 15(1), 20-27.
- Akdeniz, B. 2022. Anason Tarımı ve Endüstrisi, *Kamu Ajansı*.
- Ak, T. ve Gülçin, İ. 2008. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interaction*, 174, 27-37.
- Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schaich, K.M., Özyürek, M. ve Güçlü, K. 2013. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity, *Pure and Applied Chemistry*, 85(5), 957-998.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., ve Karademir, S.E.2004) Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981
- Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Karademir S.E., Erça E. 2006. The cupric ion reducingantioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 57, 292–304.
- Bakirtzi, C., Triantafyllidou, K., ve Makris, D. P. 2016. Novel lactic acid based natural deep eutectic solvents: efficiency in the ultrasoundassisted extraction of antioxidant polyphenols from common native Greek medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic plants*. 3. 120-127. doi:10.1016/j.jarmap.2016.03.003.

- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
- Barbieri, J. B., Goltz, C., Batistão Cavaleiro, F., Theodoro Toci, A., Igarashi-Mafra, L., ve Mafra, M. R. 2020. Deep eutectic solvents applied in the extraction and stabilization of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*. 144. 112049. doi:10.1016/j.indcrop.2019.112049.
- Bayarsaikhan, G. 2018. Oksidatif protein hasarı ve antioksidanların önleyici etkisinin belirlenmesi için bir sensör geliştirilmesi, Yayınlanmamış Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Bayram, Ö. B. 2020. Ardiç(*juniperus communis*), atkuyruğu(*equisetum arvense*), yıldız anason(*illicium verum*) ve üvez (*cormus domestica*)'in metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul.
- Benzie, I.F.F. ve Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Benzie, I. F., ve Szeto, Y. 1999. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47 (2). 633-636.
- Berker, K. E. 2011. *Demir (II, III)-esaslı antioksidan aktivite/kapasite tayin yöntemlerinin geliştirilmesinde kinetik ve termodinamik öğeler*, Yayınlanmamış Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Beyazsakal, L. 2021. Yeni amin-bis(fenolat) ligandların farklı bor türevlerinin sentezlenmesi ve asetilenkolinesteraz (ACHE) enzimine karşı inhibisyon etkisi, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi.
- Bhadra, S., Mukherjee, P. K., Kumar, N. S., & Bandyopadhyay, A. 2011. Anticholinesterase activity of standardized extract of *Illicium verum* Hook. f. fruits. *Fitoterapia*, 82(3), 342-346.
- Bilge, D. E. 2023. *Farklı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi*, Yayınlanmamış yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya.

- Binici, E. E., Akıncıoğlu, H., & Kılınç, N. (2023). Indole-3-carbinol (I3C): Effects on MAO-A, MAO-B, cholinesterase enzymes inhibition, antioxidant capacity, and molecular docking. *ChemistrySelect*, 8(33), e202301727
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E. Ve Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lwt - Food Science and Technology*. 28 (1). 25- 30.
- Bursal, E., Aras, Ö. Ü. A., & Buldurun, Ö. Ü. K. 2019. Anthemis kotschyana Boiss. var. discoidea Bitkisinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. *Ispac 5 Th International Conference Onengineering & Natural Sciences*,20-22.
- Chanioti, S., ve Tzia, C. 2018. Extraction of phenolic compounds from olive pomace by using natural deep eutectic solvents and innovative extraction techniques. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.48. 228–239. doi:10.1016/j.ifset.2018.07.001.
- Chen, W. C., Lin, Y. C., Chu, I. M., Wang, L. F., Tsai, S. L., ve Wei, Y. H. 2020. Feasibility of enhancing production of 5-hydroxymethylfurfural using deep eutectic solvents as reaction media in a high-pressure reactor. *Biochemical Engineering Journal*.154. 107440. doi:10.1016/j.bej.2019.107440.
- Chen, C., Pearson, A. M. ve Gray J. I. 1992. Effects of Synthetic Antioxidants (BHA, BHT and PG) on The Mutagenicity of IQ-Like Compounds. *Food Chem.*, 43, 177– 183.
- Choi, Y. H., van Spronsen, J., Dai, Y., Verberne, M., Hollmann, F., Arends, I. W. C.E., Witkamp, G.-J. ve Verpoorte, R. 2011. Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology? *Plant Physiology*. 156 (4). 1701–1705. doi:10.1104/pp.111.178426.
- Chouksey,D., Sharma, P. ve Pawar, RS. 2010. Biological activities and chemical constituents of Illicium verum Hook fruits.(Chinese star anise), *Pharm. Sin.*, 1,1-10.
- Cvjetko Bubalo, M., Ćurko, N., Tomašević, M., Kovačević Ganić, K., ve Radojčić Redovniković, I. 2016. Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chemistry*. 200. 159-166.
- da Silva, W., Ghica, M. E., ve Brett, C. M. A. 2020. Biotoxic trace metal ion detection by enzymatic inhibition of a glucose biosensor based on a poly(brilliant green)–deep eutectic solvent/carbon nanotube modified electrode. *Talanta*. 208. 120427. doi:10.1016/j.talanta.2019.120427.

- Dai, Y., Verpoorte, R., ve Choi, Y. H. 2014. Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*). *Food Chemistry*. 159. 116-121. doi:10.1016/j.foodchem.2014.02.155.
- Das, U. N. 2012. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as markers of low-grade systemic inflammation, *Annals of hepatology*, 11, 409-411.
- Değirmenci, U., ve Ezer, T. 2024. Homalothecium philippeanum (Spruce) Schimp.(Bryophyta) ekstresinin Asetilkolinesteraz enzim aktivitesine etkisi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 14(3), 587-593.
- Di Pietro, M. E., Colombo Dugoni, G., Ferro, M., Mannu, A., Castiglione, F., Costa Gomes, M., Fourmentin, S., ve Mele, A. 2019. Do cyclodextrins encapsulate volatiles in deep eutectic systems? *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 7. 17397–17405. doi:10.1021/acssuschemeng.9b04526.
- Diplock, A. 1998. *Healthy lifestyles nutrition and physical activity, antioxidant nutrients*. ILSI Europe Concise Monograph Series, 59.
- Doldolova, K., Bener, M., Lalikoğlu, M., Aşçı, Y. S., Arat, R., ve Apak, R. 2021. Optimization and modeling of microwave-assisted extraction of curcumin and antioxidant compounds from turmeric by using natural deep eutectic solvents. *Food Chemistry*. 353. 129337. doi:10.1016/j.foodchem.2021.12933.
- Dzamic, A., Sokovic, M., Ristic, M. S., Grijic-Jovanovic, S., Vukojevic, J., ve Marin, P. D. 2009. Chemical composition and antifungal activity of *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllata* essential oils. *Chemistry of Natural Compounds*, 45, 259-261.
- Erdoğan, E. 2024. Kinazolin-triazol türevlerinin potansiyel kolinesteraz enzim inhibitör özelliklerinin in vitro ve in silico incelenmesi, Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş.
- Eruygur, N., Akça, K. T., Üstün, O., Tekin, M., ve Eruygur, N. 2021. Tanacetum argyrophyllum (K. Koch) Tzvelev var. argyrophyllum ekstresinin in vitro antioksidan ve enzim inhibisyon aktivitesi In vitro antioxidant and enzyme inhibition activity of Tanacetum argyrophyllum (K. Koch) Tzvelev var. argyrophyllum extract.
- Ghiselli, A., Serafini, M., Maiani, G., Azzini, E., ve Ferro-Luzzi, A.1995. A

fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(1), 29-36.

Göçer, H. 2014. Sinefrin ve fenilefrin: Antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA I ve hCA II) ile asetilkolin esteraz enzimi üzerine etkilerinin araştırılması, Yayımlanmamış Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Göçer, H., Akıncıoğlu, A., Öztaşkın, N., Göksu, S., & Gülçin, İ. (2013). Synthesis, Antioxidant, and Antiacetylcholinesterase Activities of Sulfonamide Derivatives of Dopamine-R elated Compounds. *Archiv der pharmazie*, 346(11), 783-792.

Gök, N., Akıncıoğlu, A., Erümit Binici, E., Akıncıoğlu, H., Kılınç, N., & Göksu, S. (2021). Synthesis of novel sulfonamides with anti-Alzheimer and antioxidant capacities. *Archiv der Pharmazie*, 354(7), 2000496.

Gözükara, E.M. 2011. *Biyokimya*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.

Güçlü, K., Apak, R. ve Özyürek, M. 2009. Hidroksil ve Süperoksit Radikallerinin Süpürülmesine Dayalı Yeni Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemlerinin Geliştirilmesi. Tübitak Projesi.

Gülçin, İ.2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86, 345-391.

Gülçin, İ., Büyükokuroğlu, M.E. ve Küfrevioğlu Ö.İ., 2003. Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 34, 278-281.

Halliwell, B. 1991. Drug antioxidant effects. *Drugs*. 42(4), 569 - 605.

Hansen, B. B., Spittle, S., Chen, B., Poe, D., Zhang, Y., Klein, J. M., Horton, A., Adhikari, L., Zelovich, T., Doherty, B. W., Gurkan, B., Maginn, E. J., Ragauskas, A., Dadmun, M., Zawodzinski, T. A., Baker, G. A., Tuckerman, M. E., Savinell, R. F. ve Sangoro, J. R. 2021. Deep eutectic solvents: a review of fundamentals and applications. *Chemical Reviews*. 121. 1232-1285. doi:10.1021/acs.chemrev.0c00385.

Hong, S., Sun, X., Lian, H., Pojman, J. A., ve Mota-Morales, J. D. 2020. Zinc chloride/acetamide deep eutectic solvent-mediated fractionation of lignin produces high- and low-molecular-weight fillers for phenol-formaldehyde resins. *Journal of Applied Polymer Science*.137. 1-9. doi:10.1002/app.48385.

Iqbal, J., Shah, N. S., Sayed, M., Muhammad, N., Rehman, S. ur., Khan, J. A.,

Haq Khan, Z. U., Howari, F. M., Nazzal, Y., Xavier, C., Arshad, S., Hussein, A., ve Polychronopoulou, K. 2020. Deep eutectic solvent-mediated synthesis of ceria nanoparticles with the enhanced yield for photocatalytic degradation of flumequine under UV-C. *Journal of Water Process Engineering*.33. 101012. doi:10.1016/j.jwpe.2019.101012.

Jegannathan, R.K ve Nielsen, H.P., 2013. Environmental assessment of enzyme use in industrial production a literature review. *Journal of Cleaner Production*, 42, 228-240

Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Başpınar, N. ve Tiftik, A. M. 2013. *Biyokimya*. Nobel Yayınevi, 213-220, Ankara

Kaman, T. 2023. Uçuk üzerinde etkili bitkisel kaynaklı antiviralleri içeren topikal nanoemüljel formülasyonlarının geliştirilmesi, Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.

Kaplay S.S. 1976. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase of developing human brain. *Biol Neonate*, 28(1-2), 65–73.

Kara, B., 2009. Aldoz redüktaz, α - Amilaz, Monoamin Oksidaz Ve Ksantin Oksidaz Enzimlerinin İnhibisyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Karadağ, A. 2019. Türkiye’deki bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan potansiyalleri ve fenolik kompozisyonları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (16), 631-637.

Karademir, S. E. 2005. Bazı polifenolik bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin Tayini, Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.

Karamazak, C. (2023). Sürünücü horoz ibiği (*amaranthus blitoides*) bitkisi meyve özütünün antioksidan, antikolinerjik, antikanser ve genotoksik etkilerinin araştırılması, Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Bartın Üniversitesi.

Kardaş, T. 2014. Türkiye’de yetişen bazı tahıl türlerinden elde edilen fenolik antioksidanların tespiti ve farklı yöntemlerle elde edilen doğal ekstraktların gıda endüstrisinde koruyucu olarak kullanılması, Yayımlanmamış Doktora Tezi, Celal Bayar Üniversitesi.

Karmaz, E. 2018. Asetilkolinesteraz (AChE) enziminin yeni sentezlenen nanopartiküllere immobilizasyonu ve bazı pestisitlerin belirlenmesi, Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi.

- Kartal, M., Demirbolat, İ., ve Demirci, F. 2021. Avrupa Farmakopesinde Bulunan Uçucu Yağlar ve Aromaterapide Klinik Kullanımları. *Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp-Aromaterapi*, 26-42.
- Keha, E. ve Küvrevioğlu Ö.İ., 2009. *Biyokimya*. Aktif yayınları, 97-125, Erzurum.
- Klouché, K., Morena, M., Canaud, B., Descomps, B., Beraud, J. J., ve Cristol, J. P. 2004. Mechanism of in vitro heme-induced LDL oxidation: effects of antioxidants. *European Journal of Clinical Investigation*, 34(9), 619-625.
- Krinsky, N. I. 1992. Mechanism of Action of Biological Antioxidants. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 200, 248-254.
- Kussainova, D., ve Shah, D. 2020. Monoethanolamine based DESs for CO₂ absorption: Insights from molecular dynamics simulations. *Separation and Purification Technology*. 231. 115931. doi:10.1016/j.seppur.2019.115931.
- Kutal, Ü. 2022. Sivas yerel balık türlerinin moleküler gastronomi teknikleri ile Pişirilmesi, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi.
- Kutlu, N., İsci, A., Sakiyan, O., ve Yılmaz, A. E. 2021. Extraction of phenolic compounds from cornelian cherry (*Cornus mas* L.) using microwave and ohmic heating assisted microwave methods. *Food and Bioprocess Technology*. 14(4). 650– 664. doi:10.1007/s11947-021-02588-0.
- L. Zhang, and M. Wang, Optimization of deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 675–681, 201.
- Lehninger, A.L. 2005. *Principles of biochemistry*, Worth publisher, Academic Press, New York.
- Liu, Z., Fang, L., Zhang, H., Gou, S. Ve Chen, Li. 2017. Design synthesis and biological evaluation of multifunctional tacrine-curcumin hybrids as new cholinesterase inhibitors with metal ions chelating and neuroprotective property. *Bioorg. Med. Chem.*, 25(8), 2387-2398.
- López, N., Delso, I., Matute, D., Lafuente, C., ve Artal, M. 2020. Characterization of xylitol or citric acid:choline chloride:water mixtures: Structure, thermophysical properties, and quercetin solubility. *Food Chemistry*. 306. 125610. doi:10.1016/j.foodchem.2019.125610.
- Lotti, M. 1995. Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation. *Clin.*

Chem., 41, 1814-1818.

- Mano, F., Aroso, I. M., Barreiros, S., Borges, J. P., Reis, R. L., Duarte, A. R. C.,
Ve Paiva, A. 2015. Production of poly(vinyl alcohol) (PVA) fibers with
encapsulated natural deep eutectic solvent (NADES) using electrospinning.
ACS Sustainable Chemistry and Engineering.3. 2504–2509.
doi:10.1021/acssuschemeng.5b00613.
- Mbous, Y. P. Hayyan, M. Hayyan, A. Wong, W. F. Hashim, M. A. & Looi, C. Y. 2017.
Applications of deep eutectic solvents in biotechnology and bioengineering—
Promises and challenges. *Biotechnology Advances*, 35, 1005-134.
- Meneses, L., Santos, F., Gameiro, A. R., Paiva, A., ve Duarte, A. R. C. 2019.
Preparation of binary and ternary deep eutectic systems. *Journal of Visualized
Experiments*, 2019(152). <https://doi.org/10.3791/60326>
- Meral, R.; Doğan, İ. S., ve Kanberoğlu, G. S. 2012. Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak
Antioksidanlar. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 2(2), 45-
50.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., ve Milner, A.1993. A
novel method for measuring antioxidant capacity and its application to
monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science*,
84(4), 407-412.
- Mišan A, Nađpal J, Stupar A, Pojić M, Mandić A, Verpoorte R ve Choi YH. 2020.
The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector , *Crit Rev
Food Sci Nutr.*, 60(15):2564-2592.
- Mokhtarpour, M., Shekaari, H., Zafarani-Moattar, M. T., ve Golgoun, S. 2020.
Solubility and solvation behavior of some drugs in choline based deep eutectic
solvents at different temperatures. *Journal of Molecular Liquids*, 297, 111799.
- Mustafa, N.R., Spelbos, V.S., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R.ve Choi, Y.H. 2021.
Solubility and Stability of Some Pharmaceuticals in Natural Deep Eutectic
Solvents-Based Formulations. *Molecules*, 26, 2645. [https://doi.org/10.3390/
molecules26092645](https://doi.org/10.3390/molecules26092645)
- Nachmansohn, D. 1952. *In Modern Trends in Physiology, Biochemistry*. Academic
Pres, New York. 229.
- Narlı, Ö. 2024. Su kerevizi (*Apium nodiflorum* L.) bitkisinin antioksidan aktivitesi,
kolinesteraz enzim inhibisyon potansiyeli ve LC-MS/MS ile fenolik
bileşenlerinin belirlenmesi / Antioxidant activity, cholinesterase enzyme
inhibition potential and determination of phenolic components of water celery

(*Apium Nodiflorum* L.) by LC-MS/MS, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi.

Nelson, D.L., ve Cox, M.M. 2013. *Biyokimyanın İlkeleri*. 183-204, Palme Yayıncılık, Ankara

Okan, O. T., Varlıbaş, H., Mehmet, Ö. Z., ve Deniz, İ. 2013. Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecek odun dışı bazı bitkisel ürünler. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 13(1), 48-59.

Okur, H. 2022. Potansiyel kolinesteraz enzim inhibitörü bir grup piridinyum bileşiklerinin sentez ve biyoaktivite çalışması, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Ege Üniversitesi.

Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A. ve Deemer, E.K. 2002. Analysis of Antioxidant Activities of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assays: *a Comparative Study*, *J. Agric. Food Chem*, 50, 11, 3122-3128.

Palabıyık, E., Uğuz, H., Aşkın, H., Aşkın, S., & Akıncıoğlu, H. (2024). Walnut Seed Coat (*Juglans regia* L.), a Plant Effective in Human Health: Antioxidant Activity and in Rats Nephroprotective Effect. *Research in Agricultural Sciences*, 55(2), 89-104.

Patra, J. K., Das, G., Bose, S., Banerjee, S., Vishnuprasad, C. N., del Pilar Rodriguez-Torres, M., ve Shin, H. S. 2020. Star anise (*Illicium verum*): Chemical compounds, antiviral properties, and clinical relevance. *Phytotherapy Research*, 34(6), 1248-1267.

Perna, F. M., Vitale, P., ve Capriati, V. 2020. Deep eutectic solvents and their applications as green solvents. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 21. 27–33. doi:10.1016/j.cogsc.2019.09.004.

Pena-Pereira, F., ve Namieśnik, J. 2014. Ionic liquids and deep eutectic mixtures: Sustainable solvents for extraction processes. *ChemSusChem*. 7. 1784-1800. doi:10.1002/cssc.201301192.

Plotka-Wasyłka, J., de la Guardia, M., Andruch, V., ve Vilková, M. 2020. Deep eutectic solvents vs ionic liquids: Similarities and differences. *Microchemical Journal*. 159. 105539. doi:10.1016/j.microc.2020.105539.

Pohanka, M. 2011. Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology.

Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia, 155(3), 219-229.

Pinchuk, I., & Lichtenberg, D. (2002). The mechanism of action of antioxidants against lipoprotein peroxidation, evaluation based on kinetic experiments. *Progress in lipid research*, 41(4), 279-314.

Pope, C., Karanth, S., Liu, J. 2005. Pharmacology and toxicology of cholinesterase inhibitors: uses and misuses of a common mechanism of action. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19, 433-446.

Prieto, P., Pineda, M. ve Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.

Prior, R.L., Cao, G. 1999. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implications. *Horticulture Science*, 35, 588-592.

Proestos, C., ve Komaitis, M. 2009. Antioxidant capacity of hops. In *Beer in health and disease prevention*, Academic Press, (pp. 467-474).

Rao, A.A., Sridhar, G.R., ve Das, U.N. 2007. Elevated butyrylcholinesterase may predict the development of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Medical Hypotheses*, 69(6), 1272-1276.

Satlewal, A. Agrawal, R. Bhagia, S. Sangoro, J. & Ragauskas, A. J. 2018. Natural deep eutectic solvents for lignocellulosic biomass pretreatment: Recent developments, challenges and novel opportunities. *Biotechnology Advances*, 36, 2032-2050.

Shahidi, F. 1997. *Natural antioxidants: chemistry, health effects and applications*, The American Oil Chemists Society Press, Champaign, Illinois.

Sharafan, M., Jaferník, K., Ekiert, H., Kubica, P., Kocjan, R., Blicharska, E., ve Szopa, A. 2022. Illicium verum (Star Anise) and Trans-Anethole as valuable raw materials for medicinal and cosmetic applications. *Molecules*, 27(3), 650.

Shi, Y., Xiong, D., Zhao, Y., Li, T., Zhang, K., ve Fan, J. 2020. Highly efficient extraction/separation of Cr (VI) by a new family of hydrophobic deep eutectic solvents. *Chemosphere*. 241. 125082. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.125082.

Shidore M., Machhi, J., Shingala, K., Murumkar, P., Sharma, M. K., Agrawal, N.,

- Tripathi, A., Parikh, Z., Pillai, P. Ve Yadav, M. R. 2016. Benzylpiperidine-linked Diarylthiazoles as Potential Anti-alzheimer's Agents: *Synthesis and Biological Evaluation. Journal of Medicinal Chemistry*, 59, 5823–5846.
- Silinsin, M. 2016. Inula graveolens L. bitki türüne ait su ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerin değişik in vitro metotlar ile belirlenmesi, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., ve Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178).
- Slinkard, K. ve Singleton, V. L. 1977. Total phenols analysis: Automation and comparison with manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*. 28, 49-55.
- Smith, E. L., Abbott, A. P., ve Ryder, K. S. 2014. Deep eutectic solvents (DESs) and their applications", *Chemical Reviews*. 114. 11060-11082. doi:10.1021/cr300162p.
- Svigelj, R., Dossi, N., Grazioli, C., ve Toniolo, R. 2021. Deep eutectic solvents (DESs) and their application in biosensor development. *Sensors*. 21(13). 4263. doi:10.3390/s21134263.
- Tang, B., Zhang, H., ve Row, K. H. 2015. Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples. *Journal of Separation Science*. 38(6). 1053–1064. doi:10.1002/jssc.201401347.
- Tekman, Ş. Ve ÖNER, N. 1986. *Genel Kimya*, I. Cilt, İstanbul: Fatih Yayınevi Matbaası
- Temel, H. E. 2008. Demanslı hastalarda asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stresin asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri ile değişimi, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
- Tong, X., Yang, J., Zhao, Y., Wan, H., He, Y., Zhang, L., Wan, H. Ve Li, C. 2021. Greener extraction process and enhanced in vivo bioavailability of bioactive components from Carthamus tinctorius L. by natural deep eutectic solvents. *Food Chemistry*. 348. 129090. doi:10.1016/j.foodchem.2021.12909.
- Tümer, S. 2023. Üç farklı kabak türünün antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi.

- Türk Gıda Kodeksi. 2011. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 sayılı Resmi Gazete.
- Uçkaya, F. 2023. Antalya'da yetişen *Ziziphus zizyphus*'ün antioksidan aktivitesi ve biyokimyasal bileşiminin incelenmesi, Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Vale, J.A. 1998. Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus (OP) insecticide poisoning. *Toxicology Letters*, 102,103, 649-652.
- Xie, P., Zhang, Y., Wang, X., Wei, J., ve Kang, W. 2017. Antithrombotic effect and mechanism of *Rubus* spp. Blackberry. *Food and Function*. 8 (5). 2000–2012. doi:10.1039/c6fo01717g.
- Xu, G.-C., Ding, J.-C., Han, R.-Z., Dong, J.-J. ve Ne, J. 2015. Enhancing cellulose accessibility of corn stover by deep eutectic solvent pretreatment for butanol fermentation. *Bioresource Technology*. 203. 364–369. doi:10.1016/j.biortech.2015.11.002.
- Wanasundara, P. K. ve Shahidi, F. 2005. *Antioxidants: Science, Technology and Applications*. Shahidi F. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects*. Wiley-Interscience.
- Wang Z, Wang L, Li T, Zhou X, Ding L, Yu Y, Yu A ve Zhang H 2006. Rapid analysis of the essential oils from dried *Illicium verum* Hook f. and *Zingiber officinale* Rosc. By improved solvent-free microwave extraction with three types of microwave-absorption medium. *Anal. Bioanal Chem.*, 386, 1863-1868.
- Wang, H., Hao, L., Wang, P., Chen, M., Jiang, S., ve Jiang, S. 2017, Release kinetics and antibacterial activity of curcumin loaded zein fibers. *Food Hydrocolloids*, 63, 437-446.
- Wang, T., Wei, J., Liu, H., Feng, Y., Tang, X., Zeng, X., Sun, Y., Lei, T., ve Lin, L. (2020). Synthesis of renewable monomer 2, 5-bishydroxymethylfuran from highly concentrated 5-hydroxymethylfurfural in deep eutectic solvents. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 81.93-98. doi:10.1016/j.jiec.2019.08.057.
- Wayner, D. D. M., Burton, G. W., Ingold, K. U., ve Locke, S. 1985. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation: The important contribution made by plasma proteins. *FEBS letters*, 187(1), 33-37.

- Q. Cui, X. Peng, X. H. Yao, Z. F. Wei, M. Luo, W. Wang, C. J. Zhao, Y. J. Fu, and Y. G. Zu. 2015. Deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction of genistin, genistein and apigenin from pigeon pea roots. *Separation and Purification Technology*, 150, 63–72, <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.06.026>.
- X. Peng, M. H. Duan, X. H. Yao, Y. H. Zhang, C. J. Zhao, Y. G. Zu, and Y. J. Fu. 2016. Green extraction of five target phenolic acids from *Lonicerae japonicae* Flos with deep eutectic solvent. *Separation and Purification Technology*, 157, 249–257, <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.10.065>.
- Yalmaç, Ö. 2023. Bazı yeni benzotiyofen türevlerinin anti-kolinesteraz aktivitelerinin belirlenmesi, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi.
- Yaman, D. 2023. *Galium aparine* l. Bitkisinden peroksidaz ve katalaz enzimlerinin Karakterizasyonu, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi.
- Yavaşer, R. 2011. Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi.
- Yılmaz, H. 2018. *Origanum L. cinsi brevifilamentum* seksiyonu türlerinin fitokimyasal analizleri ve biyolojik aktivite çalışmaları, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi.
- Zhou, P., Wang, X., Liu, P., Huang, J., Wang, C., Pan, M., ve Kuang, Z. 2018. Enhanced phenolic compounds extraction from *Morus alba* L. leaves by deep eutectic solvents combined with ultrasonic-assisted extraction. *Industrial Crops and Products*. 120. 147-154. doi:10.1016/j.indcrop.2018.04.071.
- Zannou, O. 2022. Böğürtlen (*rubus l.*) meyvesinden derin ötektik çözücüler ile antosiyaninlerin ekstraksiyonunun optimizasyonu ve saflaştırılması, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Samsun Üniversitesi.
- Zoral, F., ve Turgay, Ö. (2014). Çeşitli gıda atıklarının toplam fenolik madde içeriğinin, antioksidan ve antimikrobiyel aktivitelerinin araştırılması. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 17(2), 24-33.
- Zuo, M., Le, K., Feng, Y., Xiong, C., Li, Z., Zeng, X., Tang, X., Sun, Y., ve Lin, L. 2018. An effective pathway for converting carbohydrates to biofuel 5-ethoxymethylfurfural via 5-hydroxymethylfurfural with deep eutectic solvents (DESS). *Industrial Crops and Products*. 112. 18–23. doi:10.1016/j.indcrop.2017.11.001.doi:10.1016/j.seppur.2015.05.015

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	Bilge ELİGÜL
Doğum Yeri ve Tarihi	
EĞİTİM DURUMU	
Lisans Öğrenimi	Ankara Üniversitesi
Yüksek Lisans Öğrenimi	Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi/ Tezli Yüksek Lisans
Bildiği Yabancı Diller	İngilizce
İŞ DENEYİMİ	
Çalıştığı Kurumlar	MEB
İLETİŞİM	
E-posta Adresi	