



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SU KEREVİZİ (*Apium nodiflorum* L.) BİTKİSİNİN
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ, KOLİNESTERAZ
ENZİM İNHİBİSYON POTANSİYELİ VE LC-MS/MS
İLE FENOLİK BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ**

ÖZGE NARLI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK VE BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2024

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SU KEREVİZİ (*Apium nodiflorum* L.) BİTKİSİNİN
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ, KOLİNESTERAZ
ENZİM İNHİBİSYON POTANSİYELİ VE LC-MS/MS
İLE FENOLİK BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ**

ÖZGE NARLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOMÜHENDİSLİK VE BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2024

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Özge NARLI

Bu çalışma KSÜ Bilimsel Araştırma Birimi (BAP Proje No: 2023/2-7 YLS) tarafından desteklenmiştir.

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

**SU KEREVİZİ (*Apium nodiflorum* L.) BİTKİSİNİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ,
KOLİNESTERAZ ENZİM İNHİBİSYON POTANSİYELİ VE LC-MS/MS İLE
FENOLİK BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

Özge NARLI

ÖZET

Bu çalışmada, Su kerevizi (bendik) bitkisi (*Apium nodiflorum* L.) toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol ve su ekstralarının antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, bazı fenolik bileşiklerin kalitatif ve kantitatif analizleri belirlendi. Ayrıca, bu ekstraların asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE) enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri de araştırıldı. Su kerevizi bitkisi ekstralarının antioksidan aktivitelerini belirlemek için DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, ABTS^{•+} radikal giderme kapasitesi, CUPRAC ve Fe⁺³-Fe⁺² indirgeme gücü metodu kullanıldı. Standart antioksidan olarak BHA, BHT, troloks ve α - tokoferol kullanıldı. Su kerevizi bitkisinden elde edilen etanol ve su ekstralarının toplam fenolik ve flavonoid bileşik miktarları gallik asit ve kuersitin eşdeğeri olarak belirlendi. Fenolik madde bileşiklerinin tayini LC-MS/MS cihazı ile elli üç adet standart madde kullanılarak yapıldı. Böylelikle bitkideki biyolojik aktivite gösterebilen majör bileşenler tespit edildi. Ekstrelerin AChE ve BChE enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri IC₅₀ hesaplanarak belirlendi. Standart inhibitör olarak takrin kullanıldı.

Araştırma sonuçlarına göre, tüm antioksidan yöntemlerde etanol ekstresi su ekstresine göre daha yüksek antioksidan aktivite sergiledi. Etanol ekstresinin toplam fenolik miktarı 46.095 mg GAE/g, su ekstresinin ise 31.034 mg GAE/g olarak hesaplanmıştır. Flavonoid miktarları ise etanol ekstresinde 20.232 mg QE/g, su ekstresinde 4.082 mg QE/g olarak bulunmuştur. Ayrıca LC-MS/MS ile su ekstresinde dokuz fenolik bileşik belirlenirken, etanol ekstresinde yirmi iki fenolik bileşik belirlendi. En yüksek fenolik bileşik, 8.712 mg/g ile etanol ekstresinde tespit edilen klorojenik asittir. Hem AChE hem de BChE enzimleri üzerinde ise etanol ekstresi güçlü inhibitör özellik sergilerken, su ekstresi daha zayıf bir inhibitör etki gösterdi. Ayrıca, her iki ekstre de AChE enzimi üzerinde BChE enzimine kıyasla daha belirgin bir inhibitör etki gösterdi. Bu sonuçlar, su kerevizi bitkisinin etanol ekstresinin yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ve özellikle içerdiği fenolik bileşikler sayesinde güçlü enzim inhibitör etki sergilediğini göstermektedir. Bitkinin etanol ekstresi, nöroprotektif ajan olarak potansiyel değer taşımakta ve antioksidan ile nöroprotektif özelliklere sahip gıda takviyeleri veya farmasötik ürünlerin geliştirilmesi için umut vadetmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Apium nodiflorum* L., Antioksidan Aktivite, AChE, BChE, Fenolik İçerik, LC-MS/MS

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomühendislik ve Bilimleri Ana Bilim Dalı, Ağustos / 2024

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Elife KAYA
Sayfa Sayısı: 74

**ANTIOXIDANT ACTIVITY, CHOLINESTERASE ENZYME INHIBITION
POTENTIAL AND DETERMINATION OF PHENOLIC COMPONENTS OF
WATER CELERY (*Apium nodiflorum* L.) BY LC-MS/MS**

(M. Sc. THESIS)

Özge NARLI

ABSTRACT

In this study, antioxidant activities, total phenolic and flavonoid components, qualitative and quantitative analyses of some phenolic compounds were determined in ethanol and water extracts obtained from the the aerial parts of water celery plant (*Apium nodiflorum* L.). Additionally, the inhibition effects of these extracts on acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) enzymes were also investigated.

The extracts' antioxidant activities were determined using DPPH free radical scavenging activity, ABTS^{·+} radical scavenging capacity, CUPRAC and the Fe⁺³-Fe⁺² reducing power method. BHA, BHT, trolox, and α -tocopherol were used as standard antioxidants. Total phenolic and flavonoid compound amounts of ethanol and water extracts obtained from water celery plants were determined as gallic acid and quercetin equivalents. Phenolic compounds were determined by LC-MS/MS using fifty three standard substances. Thus, the plant's major components capable of biological activity were identified. The extract's inhibitory effects on AChE and BChE enzymes were determined by calculating IC₅₀. Tacrine was used as the standard inhibitor.

According to the results, ethanol extract exhibited higher antioxidant activity than water extract in all antioxidant methods. The phenolic content of the ethanol extract was determined to be 46.095 mg GAE/g, while the water extract had a total of 31.034 mg GAE/g. Flavonoid amounts were found as 20.232 mg QE/g in ethanol extract and 4.082 mg QE/g in water extract. Furthermore, LC-MS/MS identified nine phenolic compounds in water extract and twenty two phenolic compounds in ethanol extract. The highest phenolic compound was chlorogenic acid, which was found in ethanol extract at 8.712 mg/g. The ethanol extract strongly inhibited both AChE and BChE enzymes, whereas the water extract had a weaker inhibitory effect. In addition, both extracts had a stronger inhibitory effect on the AChE enzyme than on the BChE enzyme.

These findings indicate that the ethanol extract of the water celery plant has high antioxidant capacity and a strong enzyme inhibitory effect, particularly due to the phenolic compounds it contains. The plant's ethanol extract has potential as a neuroprotective agent and shows promise for the development of food supplements or pharmaceutical products with antioxidant and neuroprotective properties.

Keywords: *Apium nodiflorum* L., Antioxidant Activity, AChE, BChE, Phenolic Content, LC-MS/MS

Kahramanmaraş Sütçü Imam University
Institute for Graduate Studies in Science and Technology
Department of Bioengineering and Sciences, August / 2024

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Elife KAYA
Page number: 74

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim sürecimde her zaman bana destek olan, danışmanlığımı üstlenen, bilgi ve tecrübelerinden her daim yararlandığım öğrencisi olmaktan her zaman onur duyacağım çok kıymetli hocam sayın Dr.Öğr. Üyesi Elife KAYA'ya

Tez çalışma aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, bitki ekstrelerimin LC-MS/MS ile fenolik bileşik kalitatif ve kantitatif analizlerini gerçekleştiren değerli hocam sayın Doç. Dr. Mustafa Abdullah YILMAZ'a (Dicle Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi) ve Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜBTAM) çalışanlarına,

Bitkinin tür teşhisinde değerli destek ve yol gösterici katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Alper UZUN'a,

Tez çalışmam da istatistik bölümünde vermiş olduğu destekten dolayı Dr.Öğr. Üyesi Perihan AKBAŞ'a,

Tez projemi destekleyen Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine,

Tez süresi boyunca çalışmaktan keyif aldığım, analizlerim esnasında her türlü yardımcı olan USKİM Merkez Laboratuvarı ekibine,

Eğitim öğretim hayatım boyunca her zaman her koşulda yanımda olan beni destekleyen annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Özge NARLI

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Antioksidanlar.....	3
1.2. Fenolikler ve Flavonoidler	7
1.3. LC-MS/MS	9
1.4. Enzimler.....	10
1.4.1. Asetilkolinesteraz enzimi.....	12
1.4.2. Bütirikolinesteraz enzimi.....	13
1.5. <i>Apium nodiflorum</i> L.....	14
1.6. <i>Apium nodiflorum</i> 'un Sağlık Üzerine Etkisi	15
1.7. Çalışmanın Amacı.....	17
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	18
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Materyal	21
3.1.1. Bitki materyali	21
3.1.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması.....	22
3.1.2.1. 1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil (DPPH) serbest radikal giderme aktivitesinde kullanılan çözelti ve hazırlanışı.....	22
3.1.2.2. ABTS ⁺ radikali giderme aktivitesinde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı	23
3.1.2.3. Bakır (II) iyonu (CUPRAC) indirgeme kapasitesinde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı	23
3.1.2.4. Fe ³⁺ - Fe ²⁺ indirgeme gücünde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı	23
3.1.2.5. Toplam fenolik bileşik miktarı tayininde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı	23
3.1.2.6. Toplam flavonoid bileşik miktarı tayininde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı	23
3.1.2.7. AChE enzim aktivitesinde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı.....	24
3.1.2.8. BChE enzim aktivitesinde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı	24
3.2. Metot.....	24

3.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması:	24
3.2.2. Antioksidan Aktivite Çalışmaları	25
3.2.2.1. DPPH serbest radikal giderme aktivite tayini	25
3.2.3.2. ABTS ^{•+} radikali giderme aktivite tayini	26
3.2.3.3. CUPRAC metodu (Cu ⁺² -Cu ⁺) indirgeme kapasitesi tayini	27
3.2.3.4. Fe ⁺³ - Fe ⁺² metodu indirgeme kapasitesi tayini	27
3.2.3.5. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini	28
3.2.3.6. Toplam flavonoid bileşik miktarı tayini	29
3.3. Enzim İnhibisyon Çalışmaları	29
3.3.1. AChE enzimi üzerine inhibisyon çalışmaları	29
3.3.2. BChE enzimi üzerine inhibisyon çalışmaları.....	30
3.4. LC-MS/MS ile Fenolik Bileşiklerin Kalitatif ve Kantitatif Analizi	30
3.4.1. Kütle Spektrometre ve Kromatografi Şartları.....	30
3.4.2. İstatistik Analizler.....	34
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4.1. Ekstre Verimleri.....	35
4.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları	35
4.2.1. DPPH serbest radikali giderme aktivite sonuçları	35
4.2.2. ABTS ^{•+} radikali giderme aktivite sonuçları	38
4.2.3. (CUPRAC) (Cu ⁺²) iyonu indirgeme kapasite sonuçları	40
4.2.4. Fe ⁺³ - Fe ⁺² indirgeme kapasitesi sonuçları.....	42
4.3. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini	44
4.3.6. Toplam Flavonoid Bileşik Miktarı Tayini	46
4.4. Enzim İnhibisyon Sonuçları.....	47
4.5. Bitki ekstrelerinin fenolik bileşiklerinin LC-MS/MS ile analiz sonuçları.....	55
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	63
KAYNAKLAR.....	66
ÖZGEÇMİŞ	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bazı sentetik antioksidanların kimyasal yapısı.....	7
Şekil 1.2. Kolinesteraz inhibitörlerinin moleküler yapıları	11
Şekil 1.3. <i>Apium nodiflorum</i> bitkisi.....	14
Şekil 3.1. DPPH antioksidan mekanizması	25
Şekil 3.2. ABTS'nin $K_2S_2O_8$ ile oksidasyonu ve $ABTS^{+}$ oluşumu	26
Şekil 3.3. CUPRAC antioksidan mekanizması.....	27
Şekil 3.4. Fe^{+3} - Fe^{+2} indirgeme mekanizması.....	28
Şekil 4.1. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstralarının ve standart antioksidan maddelerin DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin ortalama % inhibisyon değerleri	36
Şekil 4.2. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstraları ile standart antioksidan maddelerin DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin IC_{50} ($\mu g/mL$) değerleri.....	37
Şekil 4.3. <i>A.nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstralarının ve standart antioksidan maddelerin $ABTS^{+}$ radikali giderme aktivitelerinin ortalama % inhibisyon değerleri.....	39
Şekil 4.4. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstraları ile standart antioksidan maddelerin $ABTS^{+}$ radikali giderme aktivitelerinin IC_{50} ($\mu g/mL$) değerleri.....	40
Şekil 4.5. Ekstrelerin ve standart antioksidanların bakır (II) iyonu indirgeme kapasiteleri	41
Şekil 4.6. Ekstrelerin ve standart antioksidanların Fe^{+3} - Fe^{+2} indirgeme kapasiteleri.....	43
Şekil 4.7. Standart gallik asit grafiği	44
Şekil 4.8. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstresinin toplam fenolik bileşik miktarı	45
Şekil 4.9. Standart kuersetin grafiği	46
Şekil 4.10. <i>A.nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstresinin toplam flavonoid madde miktarı	47
Şekil 4.11. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ekstresinin AChE enzimi için % aktivitelerinin üç ölçüm sonuçları	49

Şekil 4.12. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin su ekstresinin AChE enzimi için % aktivitelerinin üç ölçüm sonuçları.....	50
Şekil 4.13. Pozitif Kontrol Takrin'in AChE enzimi için % aktivitelerinin üç ölçüm sonuçları.....	51
Şekil 4.14. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ekstresinin BChE enzimi için % aktivitelerinin üç ölçüm sonuçları.....	52
Şekil 4.15. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin su ekstresinin BChE enzimi için % aktivitelerinin üç ölçüm sonuçları.....	53
Şekil 4.16. Pozitif kontrol Takrin'in BChE enzimi için % aktivitelerinin üç ölçüm sonuçları.....	54
Şekil 4.17. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ekstresinin LC-MS/MS kromotogramı.....	57
Şekil 4.18. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin su ekstresinin LC-MS/MS kromotogramı.....	58
Şekil 4.19. Etanol ekstresinin major bileşenleri klorojenik asit ve izokersetinin kimyasal yapıları.....	58
Şekil 4.20. Su ekstresinin major bileşenleri kinik asit ve fumarik asitin kimyasal yapıları	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Endojen antioksidanların sınıflandırılması.....	4
Çizelge 1.2. Eksojen antioksidanların sınıflandırılması	5
Çizelge 3.1. Kullanılan alet ve cihazlar	21
Çizelge 3.2. Kullanılan kimyasal malzemeler	22
Çizelge 3.3. LC-MS/MS ‘ye ait analitik yöntem doğrulama parametreleri (devamı)	33
Çizelge 4.1. Etanol ve su ekstralarının % verimleri	35
Çizelge 4.2. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstraları ile standart antioksidanların DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri IC ₅₀ değerlerinin karşılaştırılması...36	
Çizelge 4.3. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstraları ile standart antioksidanların ABTS ⁺ radikali giderme aktiviteleri IC ₅₀ değerlerinin karşılaştırılması.....37	
Çizelge 4.4. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstralarının CUPRAC indirgeme kapasitelerinin standart antioksidanlar (BHA, BHT, troloks, α-tokoferol) ile karşılaştırılması	40
Çizelge 4.5. <i>A. nodiflorum</i> ’un etanol ve su ekstralarının Fe ⁺³ -Fe ⁺² indirgeme kapasitelerinin standart antioksidanlar (BHA, BHT, troloks, α-tokoferol) ile karşılaştırılması....	42
Çizelge 4.6. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarları (mg GAE/g ekstre± SS)	44
Çizelge 4.7. <i>A. nodiflorum</i> bitkisinin etanol ve su ekstralarının toplam flavonoid bileşik miktarları (mg QE/g ekstre± SS).....	47
Çizelge 4.8. <i>A. nodiflorum</i> bitki ekstralarının AChE ve BChE enzimleri üzerine inhibisyon sonuçları (IC ₅₀)	48
Çizelge 4.9. LC-MS/MS ile ekstralarda tanımlanan ve miktarı belirlenen fenolik bileşikler (mg analit/g ekstre).....	56

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAE	: Askorbik asit eş değeri
ABTS	: 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat)
ABTS^{·+}	: 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotrazolin-6-sülfonat) radikali
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer hastalığı
Al(NO₃)₃	: Alüminyum nitrat
BChE	: Bütilkolinesteraz
BHA	: Butillendirilmiş hidroksianisol
BHT	: Butillendirilmiş hidroksitoluen
CH₃COOK	: Potasyum asetat
CuCl₂	: Bakır klorür
CUPRAC	: Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DPPH	: 1,1-Difenil-2pikrilhidrazil
DPPH[·]	: 1,1-Difenil-2pikrilhidrazil radikali
DTNB	: 5,5'- Ditiyo-bis (2-Hidrobenzoik asit)
EDTA	: Etilendiamintetra asetik asit
Fe	: Demir
FeCl₃	: Demir klorür
FRAP	: Fe ²⁺ -Fe ²⁺ demir
g	: Gram

GAE	: Gallik asit eş değeri
K₂O₈S₂	: Potasyum persülfat
K₃Fe(CN)₆	: Potasyum ferrisiyanür
LC-MS	: Liquid chromatography-mass spectrometry
M	: Molar
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mmol	: Milimol
Na₂CO₃	: Sodyum karbonat
Na₂HPO₄	: Sodyum fosfat
NaCH₃COO⁻	: Sodyum asetat
Nc	: Neocuprin
nm	: Nanometre
pH	: Potansiyel hidrojen
ppm	: Milyonda bir birim
QE	: Kersetin eş değeri
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
SOD	: Süperoksit dismutaz
CAT	: Katalaz
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redütaz
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
TNF-IL-1	: Sitokinler
OG	: Okil gallat
PG	: Propil gallat
TBHQ	: Tersiyer bütül hidrokinon

HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
QTOF-LC-MS-MS	: Sıvı kromatografisi – uçuş zamanlı kütle spektrometresi
UV/Vis	: Ultraviyole/Görünür
GC	: Gaz kromatografisi
TLC	: İnce tabaka kromatografisi
U-HPLC	: Ultrfa yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ACh	: Asetilkolin
ChE	: Kolinesteraz enzimi
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
FC	: Folin reaktifi
TCA	: Triklorasetik asit
Tris	: Trihidroksimetil amino metan
ET	: Tek elektron transferine dayanan reaksiyonlar
HAT	: Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar
ORAC	: Oksijen radikal absorbsiyon kapasitesi
TRAP	: Toplam radikal tuzaklayıcı antioksidan parametre yöntemi
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi
%	: Yüzde
°	: Derece
°C	: Santigrat derece

1.GİRİŞ

İnsanlar tarihin ilk dönemlerinden itibaren bitkilerden sadece gıda temininde değil her anlamda yararlanmışlardır. Bitkilerin birçoğunun tıbbi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yaptığı çalışmalara göre tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin sayısı 20.000 civarında olup antik çağlardan bu yana gıdalara tat, koku, renk vermede kullanılmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Günümüzde, insanların sentetik antioksidanlara karşı güvenilirliğinin azalmasıyla beraber bitkisel kaynaklardan doğal antioksidanların elde edilmesi üzerine olan ilgi artmıştır. Dünya Sağlık Örgütü raporlarına göre gelişmekte olan ülkelerde yaşayan nüfusun % 80'i temel sağlık ihtiyaçları için bitkisel materyalleri kullanmaktadır. Modern anlamda farmakolojik olarak üretilen ilaçların ise etken maddelerinin en az % 25'i bitkilerden elde edildiği bilinmektedir. Antioksidanlar, serbest radikallerin yol açabileceği zararları çeşitli mekanizmalarla yavaşlatarak, gıdaların bozulmasını önleyip raf ömrünü uzatmada önemli bir rol oynamaktadır (Özler, 2021).

Antioksidanlar, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla serbest radikallerin yol açabileceği zararlı etkileri yavaşlatmaktadır. Bu özellikleri sayesinde, gıdaların bozulmasını engelleyerek raf ömrünü uzatmada önemli bir rol oynamaktadır (Özler, 2021). Canlı organizmada oluşan oksidantlara karşı doğal savunma sağlayan bileşikler "antioksidanlar" olarak adlandırılmaktadır. Antioksidanlar, serbest radikallerin hem oluşumunu engelleyerek hem de protein, lipid ve nükleik asit gibi biyomoleküllere verebilecekleri zararları önleyerek koruyucu bir rol oynamaktadır. Vücutta adeta bir koruyucu kalkan gibi işlev gören antioksidanlar, kendi elektronlarını serbest radikallere vererek onları nötr hale getirir, ancak kendileri serbest radikal haline dönüşmezler. Bu sebeple, antioksidanlar son derece önemlidir. Antioksidanlar, biyolojik sistemdeki organ ve dokuları serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasara karşı koruyarak oksidatif stresi azaltır ve hastalıklarla mücadelede tedavi edici etkiler göstermektedir. Ayrıca, besin ve ilaçların bozulmasına yol açan lipid peroksidasyonunu geciktirerek bu ürünlerin raf ömrünü uzatır ve koruyucu özelliklerini artırmaktadır (Gülçin, 2010; Rahaman ve ark., 2023).

Dört milyon yıldan uzun bir süredir, insanlar tıbbi bitkilerden elde edilen flavonoidler ve diğer fenolik maddeleri, sağlıklı bir yaşam sürdürmek ve çeşitli hastalıklara karşı korunmak amacıyla kullanmış veya tüketmişlerdir.

Bitkilerin sekonder metabolitleri olan flavonoidler ve diğer fenolik bileşikler, birçok bitki türünde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bileşiklerin kimyasal yapısı ve miktarı, bitki türüne bağlı olarak farklılık gösterir ve çevresel faktörlerden, örneğin bitkinin yetiştiği bölgenin mineral zenginliği ve coğrafi şartları gibi unsurlardan etkilenmektedir. Günümüzde, doğal fenolik bileşikler ve flavonoidler üzerine yapılan araştırmalar, bu bileşiklerin farmasötik ve tıbbi amaçlar için kullanım potansiyelini keşfetmek amacıyla önemli ölçüde artış göstermektedir (Tungmunnithum ve ark., 2018). Flavonoidler, bitkilerin çiçeklerine renk ve koku kazandıran ikincil metabolitlerdir. Bu bileşikler, sağlık üzerinde pek çok olumlu etkiye sahip olup, birçok farmasötik, nutrasötik, tıbbi ve kozmetik formülasyonun vazgeçilmez bileşenleri arasında yer alır. Flavonoidler, antioksidan, antiviral, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve antialerjik etkiler gibi geniş bir farmakolojik yelpazeye sahiptir (Panche ve ark., 2016).

Enzimler, biyolojik sistemlerde bulunan protein veya protein yapısındaki biyomoleküllerdir. Canlı organizmalarda gerçekleşen metabolik süreçlerde ve dokulardaki biyokimyasal reaksiyonlarda katalizör olarak işlev görmektedir. Asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE), nöronal sistemi etkileyen enzimlerdir ve aktivitelerinin azalması, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların gelişim ve ilerlemesine yol açabilmektedir. Genellikle yaşlılıkla ilişkili olarak ortaya çıkan Alzheimer hastalığının tedavisinde doğal bitkilerle yapılan ilaç araştırmaları yapılmakta ve bu çalışmalar devam etmektedir. AChE ve BChE inhibitörleri, Alzheimer hastalığının tedavisinde belirli bir başarı sağlayan bir ilaç sınıfıdır. Bu ilaçlar, merkezi sinir sisteminde asetilkolini parçalayarak miktarını azaltan asetilkolinesteraz enzimini engelleyerek, hastalarda görülen davranışsal bozuklukların hafifletilmesinde etkili olmaktadır (Giacobini, 1995).

Hastalıkların tedavisinde şifalı bitkilerin kullanımı, insanların yerleşik hayata geçmesiyle aynı döneme denk gelen eski bir gelenektir. Şifalı bitkiler, günümüzde birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilecek bileşenlerin doğal kaynağını oluşturmaktadır (Vital ve ark., 2010). Pek çok bitki, insanlar üzerinde önemli biyolojik etkiler gösteren çeşitli kimyasal maddeler içermektedir (Njume ve ark., 2009). Gıda sektöründe doğal katkı maddelerinin kullanımının yaygınlaşması ile birlikte dünya üzerinde bitkilerde bulunan doğal antioksidanlara olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle doğal antioksidanların incelenmesi için, bitkiler ve baharatlar araştırmalarının en önemli odak noktası haline gelmiştir. Bitkisel kaynaklı ürünlerin daha çok tercih edildiği bu dönemde, doğal ürünlerin enzimler üzerindeki etkilerinin araştırılması hastalıkları tedavi etme yöntemlerinde büyük bir yere sahip olmaktadır.

1.1. Antioksidanlar

Serbest radikallerin neden olabileceği oksidatif stresi ortadan kaldırmada en önemli unsurlar antioksidanlardır. Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisiz hale getirip hücre hasarlarını önleyebilen maddelerdir. Vücutta doğal olarak üretilen antioksidanlar, dışarıdan takviye yoluyla da alınmaktadır. Antioksidanlar, savunma sistemini güçlendirerek canlılarda hastalık riskini azaltmaktadır (Shinde ve ark., 2012). Antioksidanlar; endojen antioksidan ve eksojen antioksidan olarak ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar, vücudun kendi savunma mekanizmasının bir parçası olarak hücrelerde ve dokularda oksidatif stresin neden olduğu zararlara karşı koruma sağlayan bileşiklerdir. Bu antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan olarak iki gruba ayrılmaktadır. Enzimatik antioksidanlar, vücuttaki serbest radikalleri etkisiz hale getiren ve onları zararsız bileşiklere dönüştüren enzimlerden oluşmaktadır. Örneğin, süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit radikallerini daha az zararlı hidrojen peroksit'e dönüştürürken, katalaz (CAT) hidrojen peroksiti suya ve oksijene ayrıştırmaktadır. glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) ise glutatyon sistemi aracılığıyla hücrel detoksifikasyona katkıda bulunmaktadır. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise doğrudan serbest radikalleri bağlayarak etkisiz hale getirmektedir. Glutatyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin ve koenzim Q10 gibi bileşikler bu gruba girer. Koenzim Q10, hücrel enerji üretiminde görev alırken aynı zamanda güçlü bir antioksidan rol oynamaktadır. Selenyum ve α -lipoik asit de bu savunmaya katkı sağlayan önemli moleküllerdir. Ayrıca transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler de metal iyonlarını bağlayarak serbest radikal oluşumunu engellemektedir. Böylece, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar bir arada çalışarak oksidatif stresin zararlarına karşı hücrel koruma sağlamıştır. Eksojen antioksidanlar, dışarıdan vücuda alınarak oksidatif stresin etkilerini azaltmaya yardımcı olan bileşiklerdir. Bu antioksidanlar, genellikle besinlerle veya ilaçlarla alınır ve vücuttaki endojen antioksidan sistemine destek sağlamıştır (Karabulut ve Gülay, 2016). Eksojen antioksidanlar iki ana kategoriye ayrılır: vitamin kaynaklı antioksidanlar ve ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar.

Vitamin Kaynaklı Eksojen Antioksidanlar: Bu grup, çeşitli vitaminlerin güçlü antioksidan özelliklerinden faydalanır. Örneğin, α -tokoferol (Vitamin E), hücre zarlarını oksidatif hasara karşı korur ve yağda çözünebilen güçlü bir antioksidandır. β -Karoten (Vitamin A), göz sağlığı için önemli olup serbest radikalleri etkisiz hale getirmiştir.

Askorbik asit (Vitamin C), suda çözünebilen bir antioksidan olarak serbest radikalleri doğrudan nötralize eder ve diğer antioksidanların yenilenmesine yardımcı olmaktadır. Folik asit (Vitamin B9) de oksidatif stresle mücadelede önemli bir role sahiptir.

İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar: Bu grup, serbest radikal üretimini azaltan ve endojen antioksidan sistemleri destekleyen çeşitli ilaçları içermektedir. Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten), vücutta ürik asit oluşumunu engelleyerek serbest radikal üretimini azaltmıştır. NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar), serbest radikal üretimini sınırlayan etkili moleküllerdir. Rekombinant süperoksit dismutaz ise süperoksit radikallerini etkisiz hale getirmek için dışarıdan takviye edilen bir enzimdir (Karabulut ve Gülay, 2016). Troloks-C, α -tokoferol'ün (Vitamin E) sentetik bir analogu olarak serbest radikal hasarını engellemektedir. GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein gibi bileşikler, endojen antioksidan aktiviteyi desteklemektedir. Mannitol ve albümin gibi nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar, doğrudan serbest radikalleri yakalayarak zararlarını azaltmaktadır. Ayrıca, demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin), demirin oksidatif strese katkıda bulunmasını önlemektedir. Nötrofil adezyon inhibitörleri ve sitokinler (TNF ve IL-1), inflamatuvar süreçlerin azaltılmasında rol oynarken barbitüratlar ve demir şelatörleri de antioksidan etkiler göstermektedir. Eksojen antioksidanlar, özellikle oksidatif stresin neden olduğu hasarlara karşı koruma sağlamak için beslenme veya farmakolojik tedavi yoluyla alınabilir ve bu bileşikler vücuttaki dengeyi koruma konusunda önemli bir rol oynamaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016).

Çizelge 1.1. Endojen antioksidanların sınıflandırılması (Karabulut ve Gülay, 2016).

ENDOJEN ANTIOKSİDANLAR		
Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin

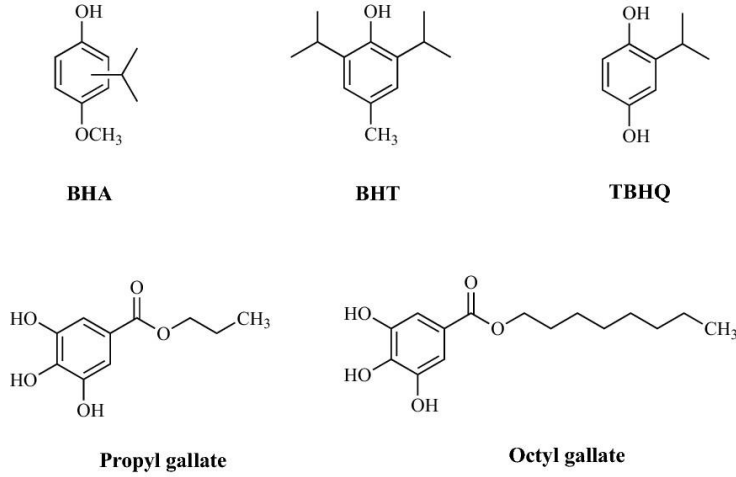
Çizelge 1.2. Eksojen antioksidanların sınıflandırılması (Karabulut ve Gülay, 2016).

EKSOJEN ANTIOKSİDANLAR	
Vitamin Eksojen Antioksidanlar	İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar
α -tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
β -karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kal- siyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz
Folik asit (Vitamin B9)	Troloks-C (vitamin E analogu) Trolox-C (vitamin E analogu)
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
	Nötrofil adezyon inhibitörleri
	Sitokinler (TNF ve IL-1)
	Barbitüratlar
	Demir şelatörleri

Laboratuvar ortamında inorganik maddelerden üretilen sentetik antioksidanlar, doğal antioksidanlarla karşılaştırma yapabilmek amacıyla geliştirilmiş ve standart bir antioksidan aktivite ölçüm sistemine dayandırılmıştır. Bu bileşikler, gıdalara eklenerek çeşitli işleme süreçlerine ve çevresel koşullara karşı dayanıklılıklarını artırmak ve raf ömürlerini uzatmak amacıyla kullanılmaktadır. Her ne kadar bazı araştırmalarda bu durumun tersine sonuçlar öne sürülse de, işlenmiş gıdaların büyük bir çoğunluğunda güvenli olarak kabul edilen sentetik antioksidanlar bulunmaktadır. Ek olarak, bu antioksidanlar, gıdaların besin değerini koruma ve bozunmayı önleme konularında önemli bir rol oynamaktadır. Sentetik antioksidanlar arasında en çok kullanılanlar; bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), oktil gallat (OG), propil gallat (PG) ve tersiyer bütıl hidrokinon (TBHQ) bileşikleridir (Gülçin, 2012; Gülçin, 2020).

BHT ve BHA, gıda endüstrisi, farmakolojik uygulamalar ve antioksidanlarla ilgili bilimsel araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. BHA, özellikle kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunu engellemede başarılıdır (Jittrepotch ve ark., 2006; Heo ve Lee, 2005). BHT, antioksidan özelliklerinin yanı sıra antikanserojen bir potansiyele de sahiptir.

Ancak BHT ve BHA'nın karaciğerde hasara yol açabileceği ve yüksek dozlarda kullanıldıklarında kanserojen etkiler gösterebileceği düşünülmektedir. Bu durum, sentetik antioksidanlara karşı bir güvensizlik sorununu gündeme getirmiştir. Sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılır, temin edilmesi daha kolaydır, orta ve yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (Gülçin, 2012; Gülçin, 2020). Antioksidan tayini çalışmalarında kullanılan birçok metot vardır. Bitkilerde antioksidan tayini, bitkisel kaynakların biyokimyasal potansiyelini belirlemek amacıyla sıklıkla başvurulan analiz yöntemlerinden biridir. Antioksidan kapasitesi, bitkilerin serbest radikalleri nötralize etme yeteneklerini ölçmeye yönelik çeşitli analitik tekniklerle belirlenmektedir. Toplam antioksidan kapasitesinin ölçümüne yönelik yöntemler, iki ana kategoriye ayrılmaktadır: hidrojen atomu transferi (HAT) reaksiyonlarına dayalı yöntemler ve elektron transferi (ET) reaksiyonlarına dayalı yöntemler. HAT yöntemlerin çoğu, peroksil radikallerinin parçalanması sonucunda ortaya çıkmasıyla, antioksidanlar ve substratlar arasında rekabetçi reaksiyonlar gerçekleştiren yöntemlerdir. Bu yöntemler arasında oksijen radikali emilim kapasitesi (ORAC), toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametre (TRAP) ve krosin beyazlatma yöntemleri yer almaktadır. ET tabanlı yöntemler ise antioksidanların oksidanları indirgeme kapasitesini, renk değişimi ile ölçer. Renk değişim derecesi, örneklerdeki antioksidan konsantrasyonuna bağlı olarak değişir. ET temelli yöntemler arasında Folin-Ciocalteu reaktifi ile yapılan toplam fenolik içeriği (FCR) ölçümü, Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC), demir iyonu indirgeme gücü (FRAP), bakır (II) bazlı toplam antioksidan potansiyeli yöntemi (CUPRAC) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi bulunmaktadır (Albayrak ve ark., 2010). Bu yöntemler, bitki ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini ölçmek için yaygın olarak kullanılmakta olup, her bir yöntemin avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Genellikle farklı yöntemler bir arada kullanılarak, bitkinin antioksidan profili daha kapsamlı bir şekilde ortaya konulabileceği düşünülmektedir (Büyüktünel, 2013).



Şekil 1.1. Bazı sentetik antioksidanların kimyasal yapısı (Gülçin, 2020).

Apium cinsi bitkileri ile ilgili yapılan araştırmalarda yüksek antioksidan etkilerinin, terapötik etkinliklerini artırabileceğini ve bu nedenle kronik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde geleneksel tıpta önemli bir yer bulabileceğini göstermektedir. *Apium* türlerinden elde edilen özütler, hücreleri oksidatif hasardan koruma yetenekleriyle öne çıkmış ve genel sağlığı iyileştirme potansiyeli taşımaktadır. Bu özütlerin antioksidan özellikleri, özellikle yaşlanma ile ilişkili hastalıklardan ve oksidatif stresin neden olduğu kronik sağlık sorunlarından korunma arayışında olan bireyler için değerli olabilmektedir (Thiviya ve ark., 2021).

1.2. Fenolikler ve Flavonoidler

Fenolik bileşikler; fenolik asitler ve flavonoidler diye sınıflandırılmaktadır. Fenolik asitler hidroksibenzoik asit, hidroksisünamik asit gruplarına ayrılmaktadırlar. Flavonoidler ise kateşinler, antosiyanidinler, proantosiyanidinler, flavonoller ve flavononlar şeklinde gruplara ayrılmaktadır (Annakkaya, 2012).

Fenolik bileşikler, bitkilerde fazla miktarda bulunan sekonder metabolitlerdir. Fenolik bileşiklerin böcek ve hayvan zararına karşı bitkileri koruduğu bilinmektedir. Fenoller, biyolojik olarak son derece önemli bileşiklerdir; özellikle serbest radikalleri etkili bir şekilde temizleme yetenekleri ile tanınmaktadır. Bu özellikleri, fenolleri yalnızca bitkilerde değil, aynı zamanda tıbbi bitkilerde de hayati bileşenler haline getirmektedir. Tıbbi bitkilerde bulunan fenoller, oksidatif stresi azaltma ve hücre hasarını önleme potansiyelleri sayesinde, sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle büyük bir ilgi odağı

olmuştur. Bu nedenle, fenollerin varlığı, bitkilerin farmakolojik ve terapötik değerini önemli ölçüde artırmaktadır (Prakash ve ark., 2007).

Bitkilerdeki yapı farklılıkları nedeniyle binlerce çeşit fenolik bileşik bulunabilmektedir. Özellikle gıdalarda acı tadı veren fenolik bileşikler, bitkilere burukluk katmakla birlikte birçok gıdanın tat ve aromasına önemli katkılarda bulunmuştur (Bayram ve ark., 2013). Flavonoidlerin geniş bir grubu, gıdaların renklerinden sorumludur. Özellikle antosiyaninler, doğal renk maddeleri olarak bilinir ve sebzeler, meyveler ile sebze-meyve sularında pembe, kırmızı, mavi ve mor renklerin oluşumunu sağlamaktadır. Ayrıca, fenolik bileşikler doğal antioksidan özellikleri ile de bilinmektedir. Yüksek antioksidan etkisi kanıtlanmış flavonoidler içeren başlıca gıdalar arasında yeşil çay, çilek, ahududu, böğürtlen ve brokoli yer almaktadır (Yağcı ve ark., 2008). Fenolik bileşiklerle ilgili birçok çalışma yapılmıştır ve bu çalışmalar, fenolik bileşiklerin antialerjik, antienflamatuvar, antidiyabetik ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Paas ve Pierce, 2002; Heo ve Lee, 2005). Antioksidan özellikleri nedeniyle fenolik bileşiklerin, kanser türleri, kalp hastalıkları ve Alzheimer gibi hastalıkları önleyici etkileri olduğu bilinmektedir (Pehlivan ve Güleryüz, 2004; Karadeniz, 2006). Sekonder metabolitler olarak bilinen fenolikler, fenolik asitler (hidrosibenzoik asitler, hidrosisinnamik asitler), flavonoidler (flavon, flavon-3-ol, flavonol, flavonon, izoflavon, antosiyanidin), kumarinler (izokumarin ve kumarin), terpenler (hemiterpenler, monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler, sesterpenler, triterpenler, tetraterpenler, politerpenler), stilbenler (resvaratrol), lignanlar (norlignanlar, neolignanlar), alkaloidler (kodein, morfinin, atropin, kafein, kinin, sanguinarin), ksantonlar, ligninler sekonder metabolitlerin içerdiği fenolik sınıflarıdır. Bazı önemli sekonder bileşikler arasında yer alan kinik asit, gallik asit, epikateşin, epigallokateşin, kateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin gallat, acacetin, protokateşik asit, fumarik asit, klorojenik asit, protokateşik aldehit, gentisik asit, 4-OH benzoik asit, fisetin, kafeik asit, hesperidin, ferulik asit, sinapnik asit, p-kumarik asit, hesperetin, salisilik asit, kumarin, rutin, o-kumarik asit, ellagik asit, kersetin, izokersetin, kuercitrin, nikotiflorin, naringenin, genistein, rosmarinik asit, luteolin, kaempferol, apigenin, sinarosid, amentoflavon, vanilin, vanilik asit sayılmaktadır (Tiring ve ark., 2021).

Polifenoller, doğal olarak oluşan ikincil metabolitler arasında en köklü ve biyoaktif bileşik gruplarından biridir. Bu bileşikler, çok çeşitli fitokimyasallar ve enzimleri barındırarak zengin bir doğal kimyasal çeşitlilik oluşturmaktadır. İnsanlar üzerinde yapılan

çeşitli bilimsel araştırmalar, polifenol açısından zengin gıdaların tüketimeinin önemli sağlık yararları sunduğunu göstermiştir. Diyabet, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli kronik hastalıkların yönetiminde etkili oldukları tespit edilmiştir. Flavonoidler, polifenol bileşiklerinin önemli bir alt sınıfını oluşturarak yaygın bir diyet kaynağıdır ve genellikle toksik olmadıkları düşünölmektedir. Bu özellik, bu gruptaki birçok fitokimyasalın farklı dozaj formlarında ilaç olarak kullanılmasını özellikle ilgi çekici kılmaktadır (Mutha ve ark., 2021).

1.3. LC-MS/MS

Bitkisel bazlı ürünlerde sentetik safsızlıkların tespitine yönelik çeşitli analitik teknikler geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında HPLC, HPLC-MS ve HPLC/MS-MS, en yaygın ve güvenilir analiz yöntemleri olarak öne çıkmaktadır. Özellikle, LC-MS-MS ve QTOF-LC-MS-MS, en yüksek hassasiyeti sunan yöntemler olarak kabul edilmektedir. Bu tekniklerin hızlı ve tekrarlanabilir sonuçlar vermesi, tercih edilmelerinde ki en önemli faktörlerden biri olarak bilinmektedir. Biyolojik olarak aktif ve endüstriyel açıdan değerli fitokimyasalların güvenilir ve tekrarlanabilir analitik yöntemlerle taranması, bitki özütlerinin kimyasal çeşitliliğini tanımlamada büyük önem taşır. Fenolik bileşikler, boyut ve polarite açısından geniş bir yelpazeye sahip olup, basit fenolik asitlerden flavonoid aglikonlara ve glikozitlere kadar çeşitlenmektedir. Bu durum, bu bileşiklerin ekstraksiyonu ve analizi sırasında güçlükler ortaya çıkarabilmektedir. Tıbbi ve aromatik bitkilerdeki doğal ürünleri analiz etmek için kullanılan yöntemler, seçicilik, ayırma verimliliği ve duyarlılık gibi kriterleri karşılamak zorundadır. Matrislerin genellikle oldukça karmaşık olması ve ilgi duyulan bileşiklerin düşük konsantrasyonlarda bulunması, araştırmacıları ince tabaka kromatografisi (TLC) veya UV/Vis (Ultraviyole/Görünür) spektrofotometrisi gibi yöntemlerin ötesinde, daha güvenilir teknikler aramaya yöneltmektedir. Ayrıca, gaz kromatografisi (GC) genellikle yalnızca uçucu moleküllerle sınırlıdır ve kılcal elektroforez kullanımını sırasında bazen tekrarlanabilirlik sorunları yaşanabilmektedir. Bu sebeple, tandem kütle spektrometrisi (MS/MS) ile birleştirilmiş ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi (U-HPLC), bitki türlerindeki çeşitli fenolik bileşiklerin nitel ve nicel karakterizasyonu ve tespiti için en etkili yöntem olarak kabul edilmektedir (Bakır ve ark., 2020, Boğa ve ark., 2016).

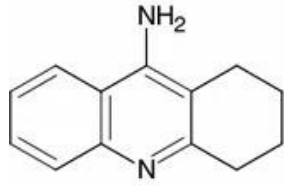
Sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS), biyolojik örnekler ve bitkisel materyaller gibi farklı matrislerde bulunan fenolik bileşenlerin analizinde kullanılan etkili bir analitik yöntemdir. Bu teknik, fenolik bileşiklerin hassas ve doğru bir şekilde ölçülmesini sağlarken, karmaşık örneklerde bile yüksek çözünürlük sunarak bu bileşenlerin detaylı bir profilini çıkarmaktadır. LC-MS/MS, fenolik maddelerin belirlenmesi ve nicelendirilmesi açısından üstün bir duyarlılık ve spesifisite sunar, bu da onu fenolik içerik analizlerinde vazgeçilmez bir araç haline getirmektedir (Yılmaz, 2020).

1.4. Enzimler

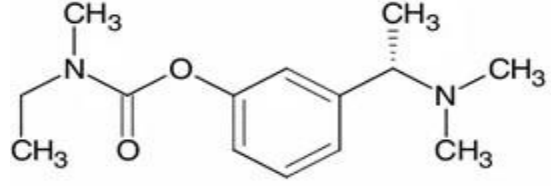
Enzimler, genellikle protein olarak bilinen ve peptit bağlarıyla birbirine bağlanmış uzun amino asit zincirlerinden oluşan biyolojik katalizörlerdir. Bu moleküller, belirli bir substratın aktif bölgesine bağlanarak kimyasal reaksiyonları hızlandırır veya etkinleştirir. Enzimler, oldukça spesifik bir işlev görürler; yani, her enzim belirli bir reaksiyon türü veya substratla etkileşime girmektedir. Enzimlerin aktivitesi, substrat konsantrasyonu, sıcaklık ve pH gibi çevresel koşullara bağlı olarak değişmektedir. Enzimler, mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar gibi çeşitli biyolojik kaynaklardan elde edilebilir. Laboratuvar ortamında saflaştırılmaları için santrifüj, kromatografi ve diğer damıtma teknikleri kullanılmaktadır. Özellikle mikrobiyal enzimler, geniş sıcaklık ve pH aralıklarında çalışabilme yetenekleri nedeniyle, bitkilerden ve hayvanlardan elde edilen enzimlere göre daha geniş uygulama alanı bulurlar. Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği'ne bağlı Uluslararası Enzim Komisyonu, enzimleri yapılarına, işlevlerine ve katalizledikleri reaksiyonların doğasına göre sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma, enzimlerin bilimsel araştırmalarda ve endüstriyel uygulamalarda daha etkin bir şekilde kullanılmasına olanak tanımaktadır. Enzimler, sağlık sorunlarının tedavisinde önemli bir rol oynadığı gibi, beslenme yetersizliklerini gidermek amacıyla da kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, gıda, ilaç, tekstil, polimer ve kağıt sanayisi gibi birçok endüstriyel alanda, kimyasal ve biyolojik reaksiyonların hızlandırılmasında ve çeşitli ürünlerin üretiminde önemli bir yer tutmaktadır (Ucak ve Afreen, 2021).

Kolinesteraz enzimleri (ChE), Alzheimer hastalığı (AH) tedavisinde önemli bir terapötik hedef olarak kabul edilmektedir. Alzheimer hastalarında, beyindeki kolinerjik nöronların hasar görmesi ve nörotransmisyonun azalması, bilişsel işlevlerin gerilemesinin başlıca sebeplerinden biridir. Kolinerjik hipoteze göre, Alzheimer hastalığının temel nedenlerinden biri, asetilkolin (ACh) sentezinin azalmasıdır. Bu doğrultuda, olası tedavi

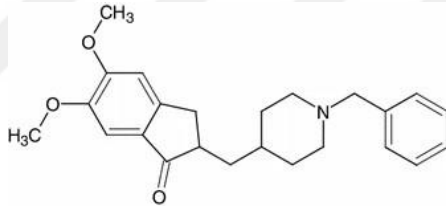
yaklaşımlarından biri, asetilkolinesteraz (AChE) enzimini inhibe ederek beyindeki ACh seviyelerini artırmaktır. AChE inhibitörleri, asetilkolinin parçalanmasını yavaşlatarak, sinir hücrelerindeki ACh konsantrasyonunu yükselmekte ve böylece sinir hücrelerinin işlevselliğini desteklemektedir. Bu strateji, Alzheimer hastalığında bilişsel fonksiyonların iyileştirilmesine yardımcı olabilmektedir. AChE ve BChE standart inhibitörleri; takrin, rivastigmin, donezepil, galantamin, metrifonat olarak bilinmektedir (Sharma, 2019).



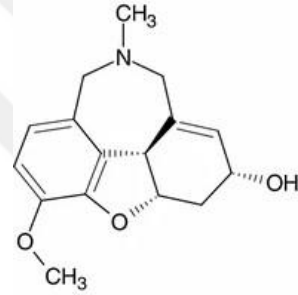
Takrin



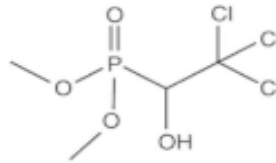
Rivastigmin



Donezepil



Galantamin



Metrifonat

Şekil 1.2. Kolinesteraz inhibitörlerinin moleküler yapıları (Sharma, 2019).

1.4.1. Asetilkolinesteraz enzimi

Asetilkolinesteraz enzimi, beyin dokusunda asetilkolinin kolin ve asetat haline biyotransformasyonu gerçekleştirmektedir (Kuzu ve ark., 2018). Asetilkolin aynı zamanda otonom sinir sistemi tarafından kullanılmaktadır. Asetilkolinin, merkezi ve periferik sinirlerde bulunan yaygın bir nörotransmitterdir (Patočka ve ark., 2004). Doğal bitki kaynaklarından ayrıştırılan antioksidan bileşiklerin kolinesterazı inhibe etmesi büyük bir önem içermektedir (Gülçin ve ark., 2018).

Alzheimer hastalığı (AH), ilk olarak 1906 yılında Alman patolog Alois Alzheimer tarafından keşfedilmiştir. AH, hafıza kaybı, bilişsel yeteneklerde gerileme, davranışsal değişiklikler ve günlük işlevleri yerine getirme kapasitesinde azalma ile tanımlanan bir nörodejeneratif hastalık olarak bilinmektedir. Demansın bir alt türü olan bu hastalık, genellikle yaş ilerledikçe daha belirgin hale gelir ve zamanla kötüleşmektedir. AH, yaşlı bireylerde yaygın olarak görülen bir sağlık sorunu olup, hastaların yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileyebilmektedir (Vaz ve Silvestre, 2020). Alzheimer hastalığı (AH) tedavisinde kolinesteraz inhibitörleri önemli bir terapötik hedef olarak kabul edilmektedir. AH'nin ana nedenlerinden biri, beyinde asetilkolin (ACh) sentezinin azalmasıdır. Bu durumu düzeltmeye yönelik potansiyel tedavi yaklaşımlarından biri, AChE enzimini inhibe ederek beyindeki kolinerjik seviyeleri artırmaktır. Bu amaçla, AChE inhibitörleri kullanılır; bu inhibitörler, sinir hücreleri arasındaki iletişimi güçlendirmek için ACh konsantrasyonunu artırmaktadır. ACh miktarı, genetik yatkınlık ve çevresel etmenler gibi çeşitli faktörlerden büyük ölçüde etkilenmektedir (Tabet, 2006; Gülçin ve ark., 2022). AChE ve BChE enzimleri, ACh'in parçalanmasından sorumludur. AChE, BChE'ye kıyasla daha yüksek bir hidrolitik aktiviteye sahip olsa da, BChE'nin AChE aktivitesini düzenlemede kilit bir rol oynadığı yapılan araştırmalarla gösterilmiştir. Bu nedenle, merkezi sinir sistemindeki ACh seviyelerini dengelemek ve hastalığın belirtilerini hafifletmek amacıyla AH tedavisinde AChE inhibitörleri yaygın olarak tercih edilmektedir. AChE ve BChE proteinleri, asetilkolinin (ACh) parçalanmasının gerçekleştiği katalitik bölgeye ve koline bağlanma alanına açılan belirgin bir hidrofobik geçit ile karakterize edilmektedir. Bu enzimler arasında geçit yapısını belirleyen bazı yapısal farklılıklar mevcuttur. Özellikle, BChE'de AChE'den farklı olarak daha fazla hidrofobik bölge bulunmaktadır. Bu yapısal farklılıklar, iki enzim arasında işlevsel ayrım yapmayı sağlamaktadır (Giacobini, 2001). Son yıllarda, tedavi stratejileri genişletilerek bütirikolinesteraz (BChE), amiloid- β ($A\beta$), β -sekretaz-1 (BACE) gibi farklı biyomolekülleri hedefleyen yaklaşımlar geliştirilmiştir.

Bu stratejiler, sadece AChE'yi değil, aynı zamanda metal iyonlarına karşı antioksidan özellikleri artırmayı ve serbest radikalleri temizlemeyi de amaçlar, bu sayede Alzheimer tedavisinde daha kapsamlı ve etkili çözümler sunulması hedeflenmektedir (Saxena ve Dubey, 2019).

1.4.2. Bütirilkolinesteraz enzimi

Beyinde ki kolinesteraz aktivitelerin % 80'inde AChE, sorumlu iken geri kalan % 20'lik kısımdan BChE sorumludur. BChE enzimi kolin esterlerini ve diğer esterleri de hidrolize edebilen, kan serumu, pankreas, karaciğer ve merkezi sinir sisteminde bulunan spesifik olmayan bir kolinesterazdır. Bütirilkolinesterazın beyindeki rolü belirsizliğini hala korumaktadır (Das, 2012).

Bütirilkolinesterazın temel işlevi, asetilkolin ve diğer kolinester türevlerini parçalayarak sinir impulslarının iletimini sonlandırmaktır. Bu enzim, asetilkolini hidrolize ederek sinir uyarısını durdurur ve böylece sinir hücreleri arasındaki iletişimin düzenlenmesine katkı sağlamaktadır. Bütirilkolinesteraz, sinir sistemi üzerindeki bu kritik rolü sayesinde, bazı ilaçların sinir uyarılarını etkileme yeteneğini sonlandırmakta önemli bir faktördür. Bu nedenle, sinir sinyallerinin düzenlenmesi ve ilaçların etkilerinin sonlandırılması için bütirilkolinesterazın işlevi büyük önem taşımaktadır (Gülçin, 2020).

Bütirilkolinesteraz (BChE; EC 3.1.1.8), asetilkolinesteraz ile yapısal olarak ilişkili olan ve insan vücudunda geniş bir dağılıma sahip bir enzimdir. Anestezi sırasında kullanılan süksinilkolin gibi kas gevşeticilerin detoksifikasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle bazı endogamik topluluklarda, bu enzimin az ya da hiç hidrolitik aktivitesi olmayan varyantları, süksinilkolin uygulamasının ardından uzun süreli apneye neden olabilmektedir. BChE, beyindeki kolinerjik nörotransmitter olan asetilkolini, asetilkolinesterazın bulunmadığı durumlarda hidrolize edebilme yeteneği ile de bilinmektedir. Ayrıca, bu enzim, insülin direnci, tip 2 diyabet, bilişsel fonksiyonlar, karaciğer bozuklukları, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar ile inflamatuvar durumlarla ilişkilendirilerek incelenmiştir. BChE enzim aktivitesinden yoksun bireyler, bu enzimin hedef aldığı ilaçları alana kadar genel olarak sağlıklı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, BChE fonksiyon kaybı mutasyonları, insanlar üzerinde çalışılmaya değer bir alan olarak öne çıkmaktadır. Farklı BChE formlarına sahip bireylerin incelenmesi, onların metabolik hastalıklara karşı korunma düzeylerine dair önemli bilgiler sağlamaktadır. Ayrıca, bu enzimin Alzheimer hastalığında biyobelirteç olarak potansiyel kullanımı ve ilaç tedavisine verdiği yanıt da araştırılmaktadır (Sridhar ve Gumpeny, 2024).

1.5. *Apium nodiflorum* L.

Apium nodiflorum çok yıllık bir bitki türüdür. *A. nodiflorum*, *Apiaceae* (maydanozgiller) ailesine ait olarak bilinmektedir. Dünya genelinde 20'den fazla türü olduğu bilinmektedir. Maydanozgiller ailesi olarak bilinen bitkilerin en önemli türlerinden biri *Apium graveolens* olarak bilinmektedir. *A. graveolens* yani kereviz diye bildiğimiz bu bitki türü taze ot, sap, tohum, yağ ve oleoresin gibi çeşitli formlarda gıdaların lezzetlendirilmesi ve tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır (Sowbhagya, 2014). Bataklık alanlarda ve dere kenarlarında doğal olarak yetişen bitkinin çiçeklenme zamanı Mayıs-Ağustos aylarındadır. Bitkinin dünya genelinde ki yayılışı Avrupa, Güneybatı & Orta Asya, Kuzey Afrika, Kuzey ve Güney Amerika olarak bilinmektedir. Türkiye'de ki yayılışı ise Trakya; Kuzey, Batı, Güney ve Güneydoğu Anadolu olarak görülmektedir. Bitki Türkiye'de, Su kerevizi, Bendik, Gazyağı, Reşad, Tatlı gerdeme, Tatlı kerdeme halk arasında bu isimler ile bilinmektedir (Baytop, 2007; Tuzlacı, 2011a; 2011b; Doğan ve ark., 2014; Demirci, 2010; Tuzlacı, 2011a; Gençay, 2007; Baytop, 2007; Tuzlacı, 2011a; 2011b; Doğan ve ark., 2014; Baytop, 1999; Tuzlacı, 2011a; 2011b; Doğan ve ark., 2014).

A. nodiflorum bitkisi, İtalyan mutfağında yaygın olarak haşlanmış ya da çiğ halde salatalarda kullanılmaktadır (Maxia ve ark., 2012). Özellikle çiğ tüketildiğinde, içerdiği tokoferol nedeniyle güçlü antioksidan özellikler sergilemektedir (Morales ve ark., 2012). Ayrıca İtalya'da bu bitki, idrar söktürücü ve mideyi rahatlatıcı etkileriyle de geleneksel olarak kullanılmaktadır (Menghini ve ark., 2010).



Şekil 1.3. *Apium nodiflorum* bitkisi

1.6. *Apium nodiflorum*'un Sağlık Üzerine Etkisi

A. nodiflorum, genellikle mutfakta kullanım alanı bulunsa da, bilimsel araştırmalar bu bitkinin sağlığa olan çeşitli faydalarını ortaya koymaktadır. Bu bitki türünün idrar söktürücü, bağırsak iltihabı önleyici, antimikrobiyal ve mantar önleyici olduğu bildirilmiştir (Menghini ve ark., 2010; Maxia ve ark., 2012; Guarrera ve Savo, 2013; Tardío ve ark., 2016).

Bununla birlikte, türün besinsel ve biyoaktif değeri kapsamlı bir şekilde araştırılmamıştır. García-Herrera ve ark. (2014), Morales ve ark. (2012) ortaya koyduğu gibi, oksalik asit içeriği nedeniyle böbrek hasarı olan kişiler için tüketimi ılımlı olmasına rağmen, aptal su teresini kalsiyum ve sodyum içeriği yüksek bir sebze olarak sınıflandırılmıştır. Ancak beslenme kapasitesi göz önüne alındığında en büyük ilgi, muhtemelen sunulan güçlü antioksidan aktivite ile birlikte fenolik bileşiklerdeki yüksek içeriğinden kaynaklanmaktadır (Morales ve ark., 2012).

Kereviz kökü, beyin fonksiyonlarını ve gastrointestinal sistemi uyarıcı özellikleri sayesinde çeşitli terapötik etkiler göstermektedir. Bu bitki, antikonvülsan (sara nöbetlerini önleyici), analjezik (ağrı kesici) ve antihelmintik (parazitleri öldüren) etki göstermektedir. Ayrıca, Ayurvedik (Hindistan alternatif tıbbı) tıpta kereviz kökünün, bağırsak hastalıklarının, böbrek taşlarının ve iç organ spazmlarının tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir (Ehsanullah ve ark., 1990). Bu uygulamalar, kereviz kökünün sindirim sistemini düzenleme, böbrek ve idrar yolu hastalıklarını iyileştirme ve kas spazmlarını hafifletme konusundaki potansiyelini vurgulamaktadır. Kereviz kökünün bu çeşitli sağlık yararları, bitkinin hem geleneksel hem de modern tıpta geniş bir uygulama yelpazesi sunduğunu göstermektedir (Zhou ve ark., 2009). *Apiaceae* familyasına ait bitkiler, geleneksel Çin tıbbında ağrı hafifletici, tendonları gevşetici, kan dolaşımını hızlandırıcı ve soğuk algınlığını giderici özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmıştır. Bu bitkiler, ayrıca yüzeydeki rahatsızlıkları ortadan kaldırma ve vücuttaki soğuğu dağıtma gibi tedavi edici amaçlarla da değerlendirilmektedir. *Apiaceae* bitkileri, uzun yıllardır Çin tıbbında çok çeşitli hastalıkların tedavisinde doğal bir çözümler olarak önemli bir yer tutmuştur (Li ve ark., 2023). Antioksidan aktivite, *A. nodiflorum* bitkisinin tıbbi özelliklerinde merkezi bir rol oynar ve bu bitkinin geleneksel tıpta kullanım potansiyeline önemli katkılarda bulunmuştur. *A. nodiflorum* dahil olmak üzere *Apium* türleri, flavonoidler ve fenolik bileşikler açısından zengin fitokimyasal bileşimleriyle dikkat çekmektedir. Bu bileşikler, vücutta oluşan serbest radikallerin yol ağtığı oksidatif stresi azaltmada etkili olup,

yaşlanma sürecinde ve kanser, kardiyovasküler hastalıklar gibi ciddi sağlık sorunlarında önemli bir rol oynamaktadır. Oksidatif stresin azaltılması, bu tür hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kritik bir faktör olarak kabul edilmektedir (Pramanik ve ark., 2024).

A. nodiflorum hakkında verilen özetlerde ayrıntılı bir inceleme yapılmamış olsa da, bu bitki türü, antioksidan özellikler ve fenolik bileşiklerin yaygın olduğu diğer bitkilerle ilişkilendirilebilmektedir. *Apium graveolens* gibi benzer türlerden elde edilen özütlerin belirgin antioksidan aktivitesi öne çıkmış olup, bu etkilerin önemli ölçüde fenolik bileşikler tarafından desteklendiği gösterilmiştir (Koala ve ark., 2021).

A. nodiflorum bitkisinin spesifik antioksidan özellikleri ayrıntılı olarak incelenmemiş olsa da, *Apiaceae* ailesine ait diğer bitkilerle karşılaştırıldığında benzer faydalı özellikler taşıyabileceğine dair genel bir kabul vardır. Özellikle, *Apium* türleri arasında yaygın olan antioksidan ve biyoaktif bileşikler, bu bitkinin de potansiyel bir sağlık kaynağı olabileceğini düşündürmektedir. Süperkritik sıvı ekstraksiyonu gibi modern ekstraksiyon yöntemlerinin, bitkisel materyallerden daha yüksek antioksidan verimi elde edilmesini sağladığı gösterilmiştir. Bu yöntemlerin kullanımı, *A. nodiflorum* bitkisinden elde edilebilecek biyoaktif bileşiklerin potansiyelini daha da artırabilir ve bitkinin farmakolojik uygulamalarda kullanımına dair umut verici ipuçları sunmaktadır (Arena ve ark., 2020).

A. nodiflorum bitkisinden elde edilen uçucu yağlar, özellikle *Helicobacter pylori* gibi çeşitli patojenlere karşı etkili antimikrobiyal aktivite sergileyerek dikkat çekmektedir. Yapılan çalışmalar, bu yağların patojenlerin büyümesini engellemek için düşük minimum inhibitör konsantrasyonlarla etkili olabildiğini göstermiştir. *Helicobacter pylori*, mide ülserleri ve gastrit gibi ciddi mide rahatsızlıklarına yol açabilen bir bakteri türü olup, bu bakteriye karşı etkili doğal çözümler arayışında *A. nodiflorum* bitkisinin uçucu yağları umut verici bir alternatif sunmaktadır. Bu bulgular, bitkinin antimikrobiyal potansiyelini vurgulamakla kalmayıp, aynı zamanda tıbbi ve farmasötik alanlarda kullanımının daha fazla araştırılması gerektiğini de işaret etmektedir (Maxia ve ark., 2012).

Özellikle osteoporoz tedavisinde büyük bir potansiyele sahip olduğu kanıtlanmıştır. Yumurtalıkları alınmış sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, *A. nodiflorum* özütünün kemik mineral yoğunluğunu ve kemik içeriğini belirgin bir şekilde artırdığı,

inflamasyon belirteçlerini önemli ölçüde azalttığı ve osteoporozla ilişkili ağrıyı hafiflettiği gözlemlenmiştir. Bu bulgular, bitkinin menopoz sonrası osteoporoz tedavisinde alternatif bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır. *A. nodiflorum* bitkisinin bu etkileyici kemik sağlığı faydaları, özellikle menopoz sonrası dönemde kemik kaybını önlemek ve ağrıyı hafifletmek için doğal ve etkili bir çözüm arayışında olanlar için umut verici bir seçenek sunmaktadır (P. Tsakova ve ark., 2015). Ayrıca, *A. nodiflorum* bitkisinin özleri antifungal özellikler sergileyerek gıda güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır. Yapılan araştırmalar, bu özlerin *Aspergillus parasiticus*'un büyümesini etkili bir şekilde engellediğini ve bu tehlikeli mantarın ürettiği toksik bileşikler olan aflatoksinlerin üretimini belirgin ölçüde azalttığını ortaya koymaktadır. Aflatoksinler, insan sağlığı üzerinde ciddi olumsuz etkileri olan kanserojen maddeler olup, gıda maddelerinde bulunmaları ciddi sağlık riskleri doğurabilmektedir. Bu bağlamda, *A. nodiflorum* bitkisinin antifungal etkileri, yalnızca mantar büyümesini kontrol altına almakla kalmaz, aynı zamanda aflatoksin üretimini de baskılayarak, gıda güvenliğini artırmada doğal bir koruyucu olarak potansiyel sunmaktadır (Noorbakhsh ve ark., 2017).

1.7. Çalışmanın Amacı

Bu tez çalışmasının amacı, su kerevizi (*A. nodiflorum* L.) bitkisinin antioksidan kapasitesini DPPH, ABTS radikal giderme, CUPRAC ve Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme yöntemleriyle, antikolinergik etkilerini asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE) enzimleri üzerindeki inhibisyon potansiyeliyle değerlendirmek ve fitokimyasal içeriklerini LC-MS/MS yöntemiyle kapsamlı bir şekilde analiz etmektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

İspanya'da yapılan bir çalışmada *A.nodiflorum* bitkisinin antioksidan, toplam fenolik ve flavonoid analizleri yapılmıştır. Bitkinin o bölgede özellikle diyetlerin bir parçası olarak kullanıldığı söylenmekte ve bazı kronik hastalıklara karşı tüketildiği çalışmada yer almaktadır. Çalışmanın sonucunda *A.nodiflorum* bitkisinde 80.47 ± 4.41 (mg GAE/G ekstre) toplam fenolik olduğu, flavonoid miktarının ise 45.48 ± 1.61 (mgQE/g ekstre) şeklinde tespit edilmiştir (Morales ve ark., 2012).

Orta İtalya'da yetişen su kerevizinden elde edilen uçucu yağ ve özütlerinin kimyasal profili, uçucu yağın antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksikite aktiviteleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda uçucu yağların kısmen antioksidan etki gösterdiği tespit edilmiştir. (Maggi ve ark., 2019).

Yapılan bir çalışmada *A.nodiflorum* bitkisinin deneysel osteoporoz gelişimi, ağrı eşikleri ve karragenan kaynaklı inflamasyon üzerindeki etkisi, yumurtalıkları alınmış osteoporotik albino sıçanlarda incelenmiştir. Sıçanlara 8 hafta boyunca 2.4 mg/kg Kuersetine eşit *A.nodiflorum* ekstresi verilmiştir. Bitkinin osteoporoz gelişimi üzerindeki etkisini doğrulamak için, yumurtalıkların alınmasından 6 ay sonra kemik mineral yoğunluğu ve kemik mineral içeriğini incelemek için *A.nodiflorum* tedavisinden 8 hafta sonra kemik histolojisi ve IL-6, RANKL'ın plazma seviyelerine bakılmıştır. Çalışma sonucunda *A. nodiflorum* bitki ekstresinin Genistein osteoporoz gelişimini engellediği ve kemik histolojisinin iyileştirdiği ortaya çıkmıştır (P. Tsakova ve ark., 2015).

Bulgaristan'da çok tüketilen *Apium graveolens* popüler ve şifalı bir sebze olarak bilinmektedir. Bulgaristan'ın 19 farklı bölgesinden toplanan bitki materyallerinin antioksidan, antibakteriyel, antikanser, hipolipidemik özellikleri incelenmiştir. *A.nodiflorum* bitkisi için toplam fenolik içeriği yaprak ekstrelerinde 14.9 ± 0.5 mg/g GAE bulunurken kök ekstresinde 16.1 ± 0.4 mg/g GAE olarak bulunmuştur. Toplam flavonoid sonuçları yaprak ekstrelerinde 10.7 ± 0.2 mg/g QE olarak tespit edilirken kök ekstrelerinde 7.4 ± 0.1 mg/g QE tespit edilmiştir. Yaprak ekstrelerinin kök ekstresine göre fenolik ve flavonoid içeriği daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda Bulgaristan su kerevizinin kök ve yapraklarının biyolojik olarak aktif bileşenler açısından zengin bir kaynak olduğu görülmüştür (Popova ve ark., 2014).

Portekiz ve İtalya'da toplanan *A. nodiflorum* bitkisinin toprak üstü kısımları toplanıp hidrodistilasyon yapılmıştır. Elde edilen ekstreler GC ve GC/MS ile analiz edilmiştir. Portekiz ve İtalya'dan toplanan bitkilerden elde edilen her iki uçucu yağda yüksek fenilproponoid içeriğine (% 51.6'ya karşı % 70.8) sahip olduğu tespit edilmiştir. Fenilproponoidlerin antimikrobiyal aktivitelerinin patentli olması, her iki bitkinin de yüksek miktarda bu bileşiklere sahip olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Maxia ve ark., 2012).

Yapılan bir çalışmada 48 adet C57BC/6 (ev faresi) hafızanın belirlenmesi amacı ile beyin AChE değerleri ölçülmüştür. Farelere 28 gün boyunca oral yol ile *Apium graveolens* ekstresi verilmiş AH'de gecikme veya engelleme sürecini önemli ölçüde azaltmıştır. *A.graveolens*'te 125, 250, 375, 500 mg/kg dozunda tedavi alan fare grubunda anlamlı bir sonuç göstererek beyinde ki AChE aktivitesinde azalma tespit edilmiştir (Phetcharat ve ark., 2015).

İstanbul'daki yerel bir pazardan Mart 2009'da satın alınan *A. graveolens* bitkisinin AChE ve BChE enzim çalışmaları yapılmıştır. Bitkinin 200 µg/mL konsantrasyonunda diklormetan, etanol ve su olmak üzere üç ekstre ile enzim analizleri yapılmıştır. AChE enzimine karşı üç ekstre inhibisyon etki göstermezken BChE'ye karşı % inhibisyon değerleri ise diklormetan ekstresinde 59.91 ± 0.84 , etanol ekstresi % 40.39 ± 0.78 ve su ekstresi 26.73 ± 0.33 olarak tespit edilmiştir (Boğa ve ark., 2011).

Yapılan bir çalışmada *A.graveolens* bitkisinin toplam fenolik, toplam flavonoid, FRAP ve ABTS metotları ile antioksidan kapasite tayinleri ve AChE enzim analizleri yapılmıştır. Bu çalışmada kereviz bitkisinin toplam fenolik bileşik madde miktarı 111.60 ± 2.05 (g GAE/mg ekstre) tespit edilirken toplam flavonoid bileşik madde miktarı 19.04 ± 0.59 (g QE/ mg ekstre) olarak bulunmuştur. Çalışmanın antioksidan analizlerinde FRAP metodunda IC_{50} değeri 2.335 ± 0.002 mg/mL olarak tespit edilirken ABTS metoduna göre IC_{50} değeri 0.357 ± 0.001 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Kerevizin IC_{50} AChE değeri 1.35 ± 0.06 mg/mL olarak bulunmuştur (Khongrum ve ark., 2021).

Çin'de yerel bir süpermarketten *A. graveolens* bitkisi satın alınmış ve bu bitkiden rutin flavonoidin elde edilmiştir. Elde edilen rutin ile bitki ekstresinin *in vitro* ve *in vivo* çalışmaları yapılmıştır. *In vitro* çalışmaları sonucunda rutin ekstreden daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Çalışmalar *in vivo* olarak devam etmiş ve SOD, CAT, GSH-Px antioksidan enzim aktivitelerine bakılmış, ekstreden elde edilen apiinin

uygulanmasından sonra serum, beyin, kalp, karaciğer ve böbrekte kayda değer iyileşmeler tespit edilmiştir (Li ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada, *A. graveolens* (kereviz) bitkisinin posasından elde edilen suların fenolik bileşik içeriği ve antioksidan etkileri incelenmiştir. Bu kapsamda, DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak suların antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiş, toplam polifenol içeriği ise Folin-Ciocalteu (FC) yöntemi ile analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda, kereviz sularında belirgin düzeyde antioksidan aktivite tespit edilmiştir. Ayrıca, bu suların kinik asit açısından da zengin olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, kereviz bitkisinin posasından elde edilen suların yüksek antioksidan potansiyel taşıdığını ve fenolik bileşikler açısından zengin olduğunu ortaya koymaktadır (Szarek ve ark., 2024).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Deneyleerde kullanılan bitki çiçeklenme döneminde, Kahramanmaraş ili Türkoğlu ilçesinin Çakallı Hasanağa köyünden 28 Mayıs 2022 tarihinde dere içerisinden toplandı. Toplanan bitkinin tür ve teşhisi Doç. Dr. Alper UZUN (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Mühendisliği Bölümü) tarafından yapıldı. Bitki KASOF 3900 herbaryum numarası ile Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Orman Fakültesi Herbaryumunda (KASOF) saklandı. Bu tez çalışmasında, bitkinin toprak üstü kısımları kullanıldı.

Çizelge 3.1. Kullanılan alet ve cihazlar

Alet ve Cihazlar	Marka
Blender öğütücü	Waring
Döner buharlaştırıcı (evaporatör)	Heidolph Laborda 4001 Efficent
Etüv	Binder Ed 56
Hassas terazi	Axıs Acn120
Magnetic karıştırıcı	Ika C-MagHs 7
pH metre	Hanna Instruments Hı 2211
Santifirüj cihazı	HettichUniversal 320 Universal
Spektrofotometre	Shimatzu UV-1800
Vorteks cihazı	IkaVorteks

Çizelge 3.2. Kullanılan kimyasal malzemeler

Kimyasal İsmi	Markası
Amonyum asetat	İsolab
Asetiltiyokolin iyodat	Sigma-Aldrich
Bakır II klorür	Tekkim
Bütirilkolinesteraz	Sigma-Aldrich
Bütil hidroksi anisol (BHA)	Acros
Bütil hidroksi toluen (BHT)	Abcr
Demir III klorür	Merck
Di-Sodyum hidrojen fosfat dihidrat	Merck
Etil alkol	Isolab
Gallik asit	Merck
Neokuprin	Sigma-Aldrich
Potasyum persülfat	Carlo erba
S-Bütiriltiyokolin iyodat	Sigma-Aldrich
Sodyum asetat anhydrous	AFG bioscience
Sodyum asetat trihidrat	İsolab
Troloks	Acros
5,5-Dithiobis(2-nitrobenzoik asit)	Sigma-Aldrich
2 4 6-tris(2-pyridyl)-s-triazine	Sigma-Aldrich
9-Amino-1,2,3,4-tetrahidroakridin hidroklorür hidrat	Sigma-Aldrich
2,2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)	Sigma-Aldrich
2 2-Dphenyl- 1 picrylhydrazyl	Sigma-Aldrich
α - tokoferol	Acros

3.1.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

3.1.2.1. 1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil (DPPH) serbest radikal giderme aktivitesinde kullanılan çözelti ve hazırlanışı

10^{-3} M'lık DPPH çözeltisinin hazırlanması için 0.0197 gram DPPH radikali 250mL etil alkolde çözülerek hazırlandı.

3.1.2.2. ABTS⁺ radikali giderme aktivitesinde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı

(0.1 M) fosfat tamponunun hazırlanması için 17.80 gram Na₂HPO₄ bir miktar ultra saf suda çözüldükten sonra hacmi ultra saf su ile 1 litreye tamamlanarak pH: 7.4'e ayarlandı. (2mM) ABTS çözeltisinin hazırlanması için 0.11 gram ABTS fosfat tamponunda (pH:7.4) manyetik karıştırıcı üzerinde tamamen çözününceye kadar karıştırıldı. Potasyum persülfat (K₂S₂O₈) çözeltisinin hazırlanması için; 66.25 mg K₂O₈S₂ 100 mL fosfat tamponunda tamamen çözününceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.

3.1.2.3. Bakır (II) iyonu (CUPRAC) indirgeme kapasitesinde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı

(0.01 M) Bakır (II) klorür çözeltisi 0.067 gram CuCl₂ tartılıp 50 mL ultra saf suda çözümlenerek hazırlandı. Neocuprin çözeltisinin (7.5 x 10⁻³ M) 0,078 gram neocuprin 50 mL etil alkolde çözümlenerek hazırlandı. Sodyum asetat (NaCH₃COO) tamponunun (1 M) hazırlanması için 4.1 gram NaCH₃COO 50 mL ultra saf suda çözümlenerek pH= 6.5'e ayarlandı.

3.1.2.4. Fe⁺³ - Fe⁺² indirgeme gücünde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı

(0.2 M) fosfat tamponunun hazırlanması için 6.24 gram Na₂HPO₄ 100 mL ultra saf suda çözüldü ve pH: 6.6'ya ayarlandı. Toplam hacim ultra saf su ile 200 mL'ye tamamlandı. (% 1) potasyum ferrisiyanür K₃Fe(CN)₆ için, 1 gram K₃Fe(CN)₆ bir miktar destile suda çözüldü ve toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı. % 10'luk trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi için, 10 gram bir miktar destile suda çözüldü ve toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı. % 0.1'lik demir (III) klorür (FeCl₃) çözeltisi için, 0.1 gram FeCl₃ bir miktar destile suda çözümlenerek hacim 100 mL'ye tamamlandı.

3.1.2.5. Toplam fenolik bileşik miktarı tayininde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı

Folin reaktifi satın alındığı şekilde kullanıldı. Na₂CO₃ (% 7.5'lik) çözeltisi için 37.5 gram Na₂CO₃ 500 mL ultra saf suda çözüldü. Standart gallik asit çözeltisi için 10 mg gallik asit 10 mL etil alkolde çözüldü.

3.1.2.6. Toplam flavonoid bileşik miktarı tayininde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı

Standart kuersetin çözeltisi hazırlamak için, 25 mg kuersetin 25 mL etil alkolde çözüldü. % 10'luk alüminyum nitrat (Al(NO₃)₃) çözeltisi elde etmek amacıyla, 10 gram

$\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 100 mL ultra saf suda çözüldü. 1 M'lik CH_3COOK çözeltisi hazırlamak için ise, 9.9 gram CH_3COOK 100 mL distile suda çözüldü.

3.1.2.7. AChE enzim aktivitesinde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı

Tris-HCl (1M) tamponu hazırlamak için, 30.27 gram Tris ve 0.370 gram EDTA tartılarak 200 mL ultra saf suda çözüldü ve pH 8.0 olarak ayarlandı. Ardından toplam hacim 250 mL'ye tamamlandı. 0.0725 gram asetiltiyokolin iyodür tartılarak 25 mL ultra saf suda çözüldü. (10mM) 5,5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) çözeltisi hazırlamak için, 0.01 gram DTNB ile 0.56 gram sodyum sitrat 50 mL ultra saf suda çözülerek elde edildi.

3.1.2.8. BChE enzim aktivitesinde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı

Tris-HCl (1M) tamponu için 30.27 gram Tris ve 0.370 gram EDTA tartılıp 200 mL ultra saf suda çözüldü ve pH: 8.0'e ayarlandı. Toplam hacim 250 mL'ye tamamlandı. Bütiriltiyokolin iyodür 0.008 gram tartılıp 25 mL ultra saf suda çözüldü. (10mM) DTNB çözeltisi için 0.01 gram DTNB ile 0.56 gram sodyum sitrat 50 mL ultra saf suda çözülerek hazırlandı.

3.2. Metot

3.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması:

Ekstrelerin hazırlanmasında su ve etil alkol kullanıldı. Kurutulmuş ve öğütülmüş 20 g toprak üstü bitki kısmı, oda sıcaklığında 400 mL etanol ile 12 saat bekletilerek ekstre edildi ve süzülür. Bu işlem 5 kez tekrarlandıktan sonra, elde edilen süzüntüler birleştirildi ve etanol, bir evaporatör yardımıyla ekstrelerden uzaklaştırıldı.

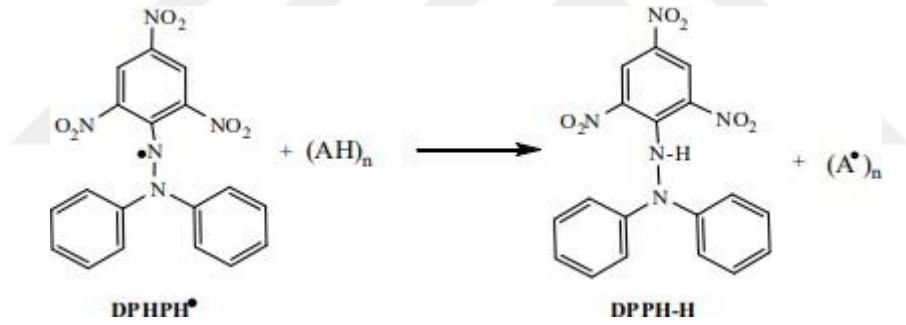
Çalışmada kullanılan bitkinin su ekstrelerinin hazırlanması için kurutulmuş ve öğütülmüş 20 g toprak üstü bitki kısmına 400 mL saf su ilave edildi. 12 saat bekletilerek ekstre edildi. Süzüntüler tülbent bezinden süzdürüldü. Elde edilen ekstreler derin dondurucuda (-80°C'de) donduruldu. Daha sonra liyofilizatörde kuruyuncaya kadar liyofilize edildi. Analizlerde kullanılmaya kadar buzdolabında +4 derecede muhafaza edildi.

3.2.2. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Antioksidan özelliklerini belirlemek için DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesi, CUPRAC ve Fe⁺³-Fe⁺² indirgeme gücü metotları kullanıldı.

3.2.2.1. DPPH serbest radikal giderme aktivite tayini

Bu yöntem, ilk olarak Blois (1958) tarafından, 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) radikallerinin antioksidan moleküllerle tayininde kullanılabileceği önerildiğinde ortaya çıktı. Bu metodun temel prensibi, DPPH içeren bir çözeltinin, hidrojen atomu verme eğiliminde olan bir moleküle (antioksidan) karıştırılmasıdır. Bu işlem sonucunda DPPH radikali indirgenir ve çözeltinin başlangıçta mor olan rengi kaybolur. Metot, 517 nm'de DPPH radikalinin absorbansındaki azalmayı ölçerek anti-radikal aktiviteyi belirlemektedir. Kararlı DPPH radikaline hidrojen verildiğinde, antioksidan tarafından DPPH radikali giderilir ve absorbans azalır, bu da rengin mordan sarıya dönmesine neden olur.



Şekil 3.1. DPPH antioksidan mekanizması (Gülçin, 2012).

Su kerevizi bitkisinin etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda DPPH radikali süpürücü aktiviteleri ölçüldü. İlk olarak, 1 mg/mL konsantrasyonunda hazırladığımız bitkiye ait stok çözeltilerden farklı miktarlarda (25, 50, 100, 200 ve 400 µg/mL) deney tüplerine alındı. Ardından, tüplere 10⁻³ M DPPH çözeltisinden 1 mL eklenerek, 30 dakika boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. Etanol ile hazırlanan köre karşı 517 nm'de absorbans değerleri kaydedildi. Bitkinin DPPH serbest radikalini giderme aktivitesini değerlendirmek amacıyla yapılan bu çalışmada, pozitif kontrol olarak BHT, BHA, troloks ve α-tokoferol gibi standart antioksidan maddeler kullanıldı. Absorbansın azalması, antioksidan aktivitenin yüksek olduğunu gösterir.

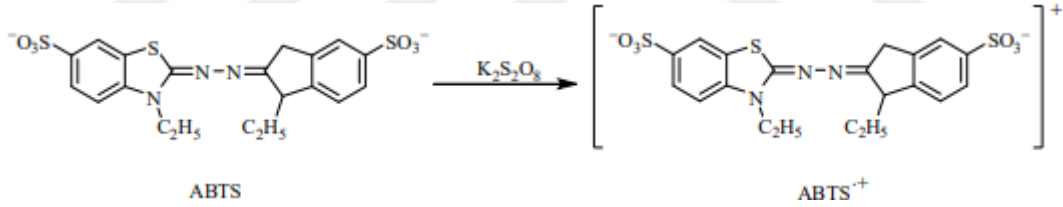
Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Çalışma, her bir numune için üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

(A_{kontrol} : Kontrolün Absorbansı $A_{\text{örnek}}$: Örnek Absorbansı)

3.2.3.2. ABTS^{•+} radikali giderme aktivite tayini

Bu yöntem, ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit))' nin oksidasyonu ile oluşan ABTS^{•+} radikal çözeltisine antioksidan içeren bir örnek eklendiğinde radikalın indirgenmesi esasına dayanır. Mavi/yeşil renkli ABTS^{•+} radikali, 600-750 nm dalga boyu aralığında güçlü bir absorpsiyon gösterir ve spektrofotometre ile kolayca tespit edilebilir (Re ve ark., 1999). Bir antioksidan bileşik, ABTS^{•+} radikali ile reaksiyona girdiğinde, radikal ABTS'nin renksiz formuna dönüşür. Bu dönüşümle birlikte harcanan ABTS^{•+} miktarı, spektrofotometredeki absorbans değerindeki azalma ile ölçülür. ABTS^{•+} radikali hem suda hem de organik çözücülerde çözünür ve iyonik kuvvetlerden etkilenmez.



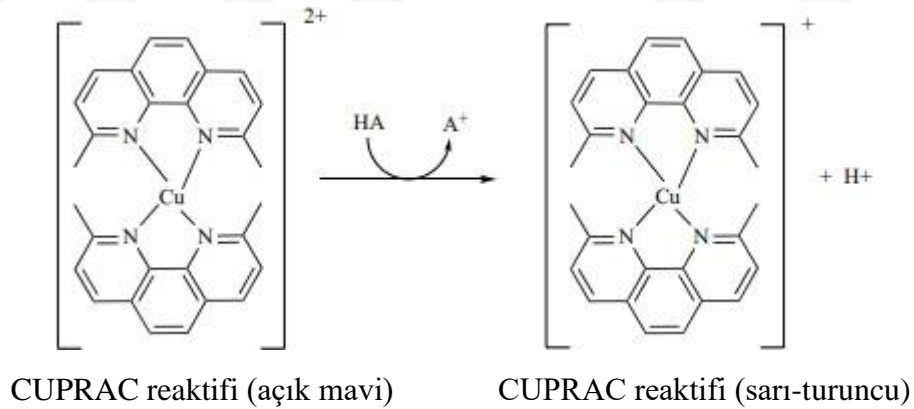
Şekil 3.2. ABTS'nin K₂S₂O₈ ile oksidasyonu ve ABTS^{•+} oluşumu (Gülçin, 2012).

Su kerevizi bitkisinin etanol ve su ekstralarının ABTS^{•+} giderme aktivitesi, Re ve arkadaşlarının (1999) geliştirdiği metodun bir modifikasyonuna göre belirlendi. Öncelikle, 2 mM ABTS çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiliye potasyum persülfat çözeltisi eklenerek ABTS^{•+} radikali oluşturuldu. ABTS^{•+} radikal çözeltisinin kullanılmadan önce, 734 nm'deki absorbansı 0.1 M ve pH'sı 7.4 olan fosfat tamponu ile 0.700 ± 0.025 nm'ye ayarlandı. Farklı konsantrasyonlardaki (25, 50, 100, 200 ve 400 µg/mL) etanol ve su ekstraları deney tüplerine alındı, üzerine 1 mL ABTS^{•+} radikal çözeltisi eklenip vorteks ile karıştırıldı ve 30 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. Ekstrelerin absorbansları, fosfat tamponuna karşı 734 nm'de ölçüldü. Su kerevizi bitkisinin etanol ve su ekstralarının ABTS^{•+} radikal giderme aktiviteleri, pozitif kontrol olarak kullanılan BHT, BHA, troloks ve α-tokoferol

gibi standart antioksidan bileşenleri ile karşılaştırıldı. ABTS radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Tüm işlemler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. % İnhibisyon = $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$

3.2.3.3. CUPRAC metodu (Cu^{+2} - Cu^{+}) indirgeme kapasitesi tayini

Bu yöntem, antioksidan maddenin Cu (II)'yi Cu (I)'e indirgeme prensibine dayanır. Su kerevizinin etanol ve su ekstralarının kuprik iyonu (Cu^{+2}) indirgeme kapasiteleri, Apak ve arkadaşlarının (2004) kullandığı CUPRAC metodunun bir modifikasyonu ile incelendi. Bu yöntem, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neokuproin, Nc) ile Cu (II) arasında oluşan Cu(II)-neokuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm'de maksimum absorbans gösteren Cu(I)-neokuproin [Cu(I)-Nc] şelatına indirgenme yeteneğinden faydalanarak antioksidan kapasitesini hesaplamaktadır. Bu amaçla, hazırladığımız etanol ve su ekstralarının farklı konsantrasyonlardaki (25, 50, 100, 200 ve 400 $\mu\text{g/mL}$) örneklerine sırasıyla 0.01 M CuCl_2 çözeltisi eklendi, ardından 7.5×10^{-3} M neokuproin çözeltisi ve 1 M amonyum asetat tamponu ilave edilerek vorteks ile karıştırıldı. 30 dakika karanlıkta inkübasyondan sonra, 450 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Pozitif kontrol olarak BHT, BHA, troloks ve α -tokoferol gibi standart antioksidan maddeler kullanıldı. Reaksiyon karışımındaki absorbansın artışı, kuprik iyon (Cu^{+2}) indirgeme kapasitesindeki artışı göstermektedir.

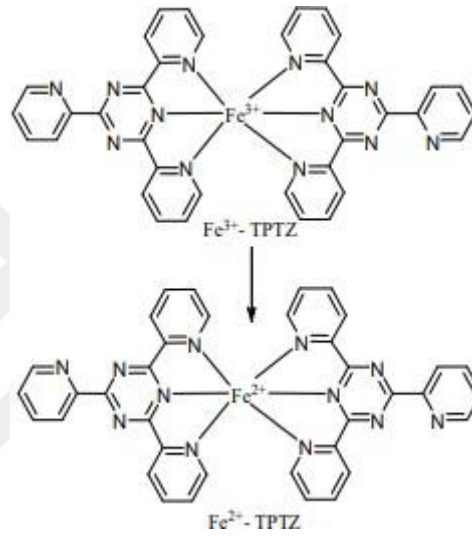


Şekil 3.3. CUPRAC antioksidan mekanizması (Gülçin, 2020).

3.2.3.4. Fe^{+3} - Fe^{+2} metodu indirgeme kapasitesi tayini

Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi, onun potansiyel antioksidan aktivitesini değerlendirmede önemli bir gösterge olarak kabul edilir. Fe^{+3} - Fe^{+2} indirgeme ölçümü, Oyaizu (1986) ve Akyüz (2022) tarafından önerilen yöntemle gerçekleştirildi. Bu işlem için, 1 mg/mL derişiminde stok çözeltiler hazırlandı. Bu stok çözeltilerden farklı

konsantrasyonlarda (25, 50, 100, 200 ve 400 µg/mL) örnekler alındı ve deney tüplerine eklenerek hacimleri distile su ile 1 mL'ye tamamlandı. Daha sonra, tüplere 2.5 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ve 2.5 mL %1'lik potasyum ferrisiyanür $[K_3Fe(CN)_6]$ ilave edildi. Karışım, 50°C'de 20 dakika inkübe edildikten sonra, tüplere 2.5 mL % 10 TCA çözeltisi ve 0.5 mL % 0.1 $FeCl_3$ eklendi. Kontrol olarak, numune yerine distile su kullanıldı. Kör ölçüm için distile su kullanılarak, 700 nm'de absorbans değerleri belirlendi. Pozitif kontrol olarak BHT, BHA, troloks ve α -tokoferol gibi standart antioksidan bileşenler kullanıldı. Tüm analizler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.



Şekil 3.4. Fe^{+3} - Fe^{+2} indirgeme mekanizması (Gülçin, 2012).

3.2.3.5. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini

Su kerevizi bitkisinin toprak üstü kısımlarının etanol ve su ekstraktlarının fenolik bileşik tayini FCR yöntemi ile (Slinkard ve Singleton., 1977; Baydar, 2013; Akyüz ve ark., 2022) literatüre göre yapıldı. Ekstreden 10 µl alınarak deney tüplerine aktarıldı ve üzerine sırasıyla 250 µl folin reaktifi ve saf su eklenerek inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 2500 µl (% 7.5) sodyum karbonat (Na_2CO_3) eklendi. Deney tüpleri hızlıca vortekslendikten sonra 50°'lik su banyosunda 5 dk boyunca inkübasyona bırakıldı. 5 dk sonra alınıp spektrofotometrede 760 nm'de köre karşı okunup absorbansları kaydedildi. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Standart grafik için 10 mg gallik asit 10 mg ultra saf suda çözülüp stok çözelti hazırlandı. Bu çözeltilerden 5, 10, 20, 40, 80 µg gallik asit içeren çözeltiler deney tüplerine konuldu ve üzerlerine yukarıda bahsedildiği şekilde çözeltiler eklenerek 5 dk boyunca 50° C'lik sıcak su banyosunda bekledikten sonra 760 nm'de köre karşı okunup absorbansları kaydedildi. Elde edilen sonuçlar ile standart grafik

çizildi. Fenolik bileşik miktarı numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g ekstre) olarak standart grafikten elde edilen denklem yardımı ile hesaplandı. Deneyler üç paralel şekilde yapıldı. ($y=0.0193x+0.1094$; $R^2=0.996$)

3.2.3.6. Toplam flavonoid bileşik miktarı tayini

Su kerevizi bitkisinin toprak üstü kısımlarının etanol ve su ekstralarının toplam flavonoid bileşik miktarı Park ve ark. (1997) yöntemine göre yapıldı. Belli miktarda stok çözeltilerden deney tüplerine konuldu. Üzerine 100 µL (% 10) alüminyum nitrat ve 100 µL potasyum asetat eklendikten sonra deney tüpleri tek tek vorteksledi. Daha sonra tüplerin hacmi etanol ile 4 mL'ye tamamlandı ve tüpler 40 dakika boyunca kadar oda sıcaklığında bekletildikten sonra spektrofotometrede 415 nm'de köre karşı okunup absorbansları kaydedildi (Akyüz, 2019). Çalışmada kuersetin standart flavonoid bileşik olarak kullanıldı. Standart grafik için 25 mg kuersetin 25 mL etanolde çözülerek stok kuersetin çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltilerden (10-50 µg) kuersetin içeren çözeltiler deney tüplerine aktarıldı ve vortekslenip 40 dakika oda sıcaklığında bekledikten sonra 415 nm'de okunarak absorbansları kaydedildi. Elde edilen sonuçlar ile standart grafik çizildi. Toplam flavonoid bileşik miktarı kuersetin ekivalent (mg QE/g ekstre) olarak standart grafikten elde edilen denklem yardımı ile hesaplandı. Deneyler üç paralel şekilde yapıldı. ($y=0.015x+0.0258$; $R^2=0.9998$)

3.3. Enzim İnhibisyon Çalışmaları

3.3.1. AChE enzimi üzerine inhibisyon çalışmaları

Su kerevizi bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol ve su ekstralarının asetilkolinesteraz enzimi üzerindeki etkisi Ellman yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Bu yöntemin prensibi şudur: Kolinesterazlar, asetilkolini tiyokolin ve asetata dönüştüren bir reaksiyonu katalize ederler. Açığa çıkan tiyokolin, DTNB ile reaksiyona girerek sarı renkte 5-tiyo-2-nitrobenzoik asidi oluşturur. Oluşan bu bileşik, 412 nm dalga boyunda absorbans gösterir (Ellman ve ark., 1961). Örneklerin ve kontrol küvetlerinin absorbans değerleri 412 nm dalga boyunda 5 dakika boyunca ölçülerek IC_{50} değerleri hesaplandı. Ayrıca, AChE enziminin standart inhibitörü olan Takrin'in etkisi de incelendi. AChE enzimi, DTNB ve asetiltiyokolin iyodat olmak üzere iki farklı substrata sahiptir. Yöntemde, öncelikle kontrol tüpleri ve numune tüpleri oluşturuldu. Kontrol tüplerine 50 µL asetiltiyokolin iyodür, 50 µL DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik

asit)), 100 µL Tris-HCl, saf su, etanol ve su ekstreleri, asetilkolinesteraz enzimi ilave edilip karıştırıldı. Reaksiyonlar başladıktan sonra karışımların absorbanları 412 nm'de ölçüldü. Aktivite-% konsantrasyon grafiğinden IC₅₀ değerleri hesaplandı.

3.3.2. BChE enzimi üzerine inhibisyon çalışmaları

Su kerevizi bitkisinin toprak üstü kısmının etanol ve su ekstresinin AChE enzimi üzerindeki etkisi Ellman metoduna göre yapıldı. BChE enziminin DTNB ve butiriltiyokolin iyodür olmak üzere iki substratı vardır. Bu metodun esası ise şu şekildedir: Yöntemde, öncelikle kontrol tüpleri ve numune tüpleri oluşturuldu. Kontrol tüplerine 50 µL butiriltiyokolin iyodür, 50 µL DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik asit)), 100 µL Tris-HCl, saf su, etanol ve su ekstreleri, butirilkolinesteraz enzimi (0.2 U mL⁻¹ µL enzim) ilave edilip karıştırıldı. Reaksiyonlar başladıktan sonra karışımların absorbanları 412 nm'de ölçüldü. Sonuçların IC₅₀ değerleri hesaplandı.

3.4. LC-MS/MS ile Fenolik Bileşiklerin Kalitatif ve Kantitatif Analizi

A. nodiflorum bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol ve su ekstrelerinin fenolik bileşenlerinin içerik analizi için, Yılmaz (2020) tarafından geliştirilen ve önceden validasyon çalışmaları önceden yapılmış LC-MS/MS yöntemi kullanıldı. Bu analiz, *A. nodiflorum* bitkisinden elde edilen iki ekstrenin fenolik içeriklerini belirlemek amacıyla Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DUBTAM)'nde analizler gerçekleştirildi. Analizde kullanılan 53 fitokimyasal bileşenden 3 tanesi, bitki örneğinde doğal olarak bulunmayan ve ticari olarak satın alınan saf madde iç standartlarıdır (IS).

3.4.1. Kütle Spektrometre ve Kromatografi Şartları

53 fitokimyasal bileşenin miktar analizi için (Yılmaz, 2020) Shimadzu-Nexera model UHPLC'ye bağlı tandem kütle spektrometresi kullanıldı. Ters faz UHPLC sistemi, otoörnekleyici (SIL-30AC model), kolon fırını (CTO-10ASvp model), gradyan pompası (LC-30AD model) ve degazörden (DGU-20A3R model) oluşmaktadır. Kromatografik ayırım, 40°C'de Agilent Poroshell 120 EC-C18 kolon kullanılarak yapıldı. Elüsyon gradyanı olarak mobil faz A (ultra saf su + 5 mM amonyum format + % 0.1 formik asit) ve mobil faz B (metanol + 5 mM amonyum format + % 0.1 formik asit) kullanıldı. Gradyan elüsyon profili şu şekilde belirlendi: 0-25 dakika arası %20-100 B, 25-35 dakika %100 B, ve 35-45 dakika arası % 20 B. Mobil faz akış hızı 0.5 mL/dk ve enjeksiyon hacmi 5 µL

olarak ayarlandı. LC-MS/MS sistemi için Shimadzu LCMS-8040 model sıralı kütle spektrometresi kullanıldı ve hem pozitif hem de negatif modda çalışan bir elektrosprey iyonlaşma kaynağı ile donatıldı. Veriler, Lab Solutions yazılımı ile işlenerek fitokimyasalların kantitasyonu MRM modu ile gerçekleştirildi. Çarpışma enerjileri, fitokimyasalların optimum fragmentasyonu için optimize edildi. MS çalışma koşulları: kurutucu gaz (N₂) akışı 15 L/dk, nebulizatör gazı (N₂) akışı 3 L/dk, DL sıcaklığı 250°C, ısı bloğu sıcaklığı 400°C ve arayüz sıcaklığı 350°C olarak ayarlandı (Yılmaz, 2020).



Çizelge 3.3. LC-MS/MS'ye ait analitik yöntem doğrulama parametreleri

No	Analytes	RT ^a	M.I. (m/z) ^b	F.I. (m/z) ^c	Ion. mode	Equation	r ^{2d}	RSD% ^e		Linearity Range (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^f	Recovery (%)		U ^g	Gr. No ⁱ
								Interday	Intraday			Interday	Intraday		
1	Kinik asit	3.0	190.8	93.0	Neg	y=-0.0129989+2.97989x	0.996	0.69	0.51	0.1-5	25.7/33.3	1.0011	1.0083	0.0372	1
2	Fumarik asit	3.9	115.2	40.9	Neg	y=-0.0817862+1.03467x	0.995	1.05	1.02	1-50	135.7/167.9	0.9963	1.0016	0.0091	1
3	Akonitik asit	4.0	172.8	129.0	Neg	y=-0.7014530+32.9994x	0.971	2.07	0.93	0.1-5	16.4/31.4	0.9968	1.0068	0.0247	1
4	Gallik asit	4.4	168.8	79.0	Neg	y=-0.0547697+20.8152x	0.999	1.60	0.81	0.1-5	13.2/17.0	1.0010	0.9947	0.0112	1
5	Epigallokateşin	6.7	304.8	219.0	Neg	y=-0.00494986+0.0483704x	0.998	1.22	0.73	1-50	237.5/265.9	0.9969	1.0040	0.0184	3
6	Protokateşik asit	6.8	152.8	108.0	Neg	y=0.2111373+12.8622x	0.957	1.43	0.76	0.1-5	21.9/38.6	0.9972	1.0055	0.0350	1
7	Kateşin	7.4	288.8	203.1	Neg	y=-0.00370053+0.431369x	0.999	2.14	1.08	0.2-10	55.0/78.0	1.0024	1.0045	0.0221	3
8	Gentisik asit	8.3	152.8	109.0	Neg	y=-0.0238983+12.1494x	0.997	1.81	1.22	0.1-5	18.5/28.2	0.9963	1.0077	0.0167	1
9	Klorojenik asit	8.4	353.0	85.0	Neg	y=0.289983+36.3926x	0.995	2.15	1.52	0.1-5	13.1/17.6	1.0000	1.0023	0.0213	1
10	Prokateşik aldehit	8.5	137.2	92.0	Neg	y=0.257085+25.4657x	0.996	2.08	0.57	0.1-5	15.4/22.2	1.0002	0.9988	0.0396	1
11	Tannik asit	9.2	182.8	78.0	Neg	y=0.0126307+26.9263x	0.999	2.40	1.16	0.05-2.5	15.3/22.7	0.9970	0.9950	0.0190	1
12	Epigallokateşin gallat	9.4	457.0	305.1	Neg	y=-0.0380744+1.61233x	0.999	1.30	0.63	0.2-10	61.0/86.0	0.9981	1.0079	0.0147	3
13	1,5-di kaffeoil kinik	9.8	515.0	191.0	Neg	y=-0.0164044+16.6535x	0.999	2.42	1.48	0.1-5	5.8/9.4	0.9983	0.9997	0.0306	1
14	4-OH benzoik asit	10.5	137.2	65.0	Neg	y=-0.0240747+5.06492x	0.999	1.24	0.97	0.2-10	68.4/88.1	1.0032	1.0068	0.0237	1
15	Epikateşin	11.6	289.0	203.0	Neg	y=-0.0172078+0.0833424x	0.996	1.47	0.62	1-50	139.6/161.6	1.0013	1.0012	0.0221	3
16	Vanilik asit	11.8	166.8	108.0	Neg	y=-0.0480183+0.779564x	0.999	1.92	0.76	1-50	141.9/164.9	1.0022	0.9998	0.0145	1
17	Kafeik asit	12.1	179.0	134.0	Neg	y=0.120319+95.4610x	0.999	1.11	1.25	0.05-2.5	7.7/9.5	1.0015	1.0042	0.0152	1
18	Sirinjik asit	12.6	196.8	166.9	Neg	y=-0.0458599+0.663948x	0.998	1.18	1.09	1-50	82.3/104.5	1.0006	1.0072	0.0129	1
19	Vanillin	13.9	153.1	125.0	Poz	y=0.00185898+20.7382x	0.996	1.10	0.85	0.1-5	24.5/30.4	1.0009	0.9967	0.0122	1
20	Sirinjik aldehit	14.6	181.0	151.1	Neg	y=-0.0128684+7.90153x	0.999	2.51	0.77	0.4-20	19.7/28.0	1.0001	0.9964	0.0215	1
21	Daidzin	15.2	417.1	199.0	Poz	y=9.45747+152.338x	0.996	2.25	1.32	0.05-2.5	7.0/9.5	0.9955	1.0017	0.0202	2
22	Epikateşin gallat	15.5	441.0	289.0	Neg	y=-0.0142216+1.06768x	0.997	1.63	1.28	0.1-5	19.5/28.5	0.9984	0.9946	0.0229	3
23	Piceid	17.2	391.0	135/106.9	Poz	y=0.00772525+25.4181x	0.999	1.94	1.16	0.05-2.5	13.8/17.8	1.0042	0.9979	0.0199	1
24	p-Kumarik asit	17.8	163.0	93.0	Neg	y=0.0249034+18.5180x	0.999	1.92	1.43	0.1-5	25.9/34.9	1.0049	1.0001	0.0194	1
25	Ferulic asit-D3-IS ^b	18.8	196.2	152.1	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	0.0170	1
26	Ferulik asit	18.8	192.8	149.0	Neg	y=-0.0735254+1.34476x	0.999	1.44	0.53	1-50	11.8/15.6	0.9951	0.9976	0.0181	1
27	Sinapik asit	18.9	222.8	193.0	Neg	y=-0.0929932+0.836324x	0.999	1.45	0.52	0.2-10	65.2/82.3	1.0031	1.0037	0.0317	1
28	Kumarin	20.9	146.9	103.1	Poz	y=0.0633397+136.508x	0.999	2.11	1.54	0.05-2.5	214.2/247.3	0.9950	0.9958	0.0383	1

Çizelge 3.3. LC-MS/MS'ye ait analitik yöntem doğrulama parametreleri (devamı)

No	Analytes	RT ^a	M.I. (m/z) ^b	F.I. (m/z) ^c	Ion. mode	Equation	r ^{2d}	RSD% ^e		Linearity Range (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^f	Recovery (%)		U ^g	Gr. No
								Interday	Intraday			Interday	Intraday		
29	Salisilik asit	21.8	137.2	65.0	Neg	y=0.239287+153.659 x	0.999	1.48	1.18	0.05-2.5	6.0/8.3	0.9950	0.9998	0.0158	1
30	Siranosit (Luteolin 7-glukozit)	23.7	447.0	284.0	Neg	y=0.280246+6.13360 x	0.997	1.56	1.12	0.05-2.5	12.1/16.0	1.0072	1.0002	0.0366	2
31	Mikuelianin	24.1	477.0	150.9	Neg	y=-0.00991585+5.50334 x	0.999	1.31	0.95	0.1-5	10.6/14.7	0.9934	0.9965	0.0220	2
32	Rutin-D3-IS ^h	25.5	612.2	304.1	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	2
33	Rutin	25.6	608.9	301.0	Neg	y=-0.0771907+2.89868 x	0.999	1.38	1.09	0.1-5	15.7/22.7	0.9977	1.0033	0.0247	2
34	izokersetin	25.6	463.0	271.0	Neg	y=-0.111120+4.10546 x	0.998	2.13	0.78	0.1-5	8.7/13.5	1.0057	0.9963	0.0220	2
35	Hesperidin	25.8	611.2	449.0	Poz	y=0.139055+13.2785 x	0.999	1.84	1.35	0.1-5	19.0/26.0	0.9967	1.0043	0.0335	2
36	o-kumaric asit	26.1	162.8	93.0	Neg	y=0.00837193+11.2147 x	0.999	2.11	1.46	0.1-5	31.8/40.4	1.0044	0.9986	0.0147	1
37	Genistin	26.3	431.0	239.0	Neg	y=1.65808+7.57459 x	0.991	2.01	1.28	0.1-5	14.9/21.7	1.0062	1.0047	0.0083	2
38	Rosmarinik asit	26.6	359.0	197.0	Neg	y=-0.0117238+8.04377 x	0.999	1.24	0.86	0.1-5	16.2/21.2	1.0056	1.0002	0.0130	1
39	Ellagic asit	27.6	301.0	284.0	Neg	y=0.00877034+0.663741 x	0.999	1.57	1.23	0.4-20	56.9/71.0	1.0005	1.0048	0.0364	1
40	Kosmosin	28.2	431.0	269.0	Neg	y=-0.708662+8.62498 x	0.998	1.65	1.30	0.1-5	6.3/9.2	0.9940	0.9973	0.0083	2
41	Kersetin	29.8	447.0	301.0	Neg	y=-0.00153274+3.20368 x	0.999	2.24	1.16	0.1-5	4.8/6.4	0.9960	0.9978	0.0268	2
42	Astragalın	30.4	447.0	255.0	Neg	y=0.00825333+3.51189 x	0.999	2.08	1.72	0.1-5	6.6/8.2	0.9968	0.9957	0.0114	2
43	Nikotiflorin	30.6	592.9	255.0/284.0	Neg	y=0.00499333+2.62351 x	0.999	1.48	1.23	0.05-2.5	11.9/16.7	0.9954	1.0044	0.0108	2
44	Fisetin	30.6	285.0	163.0	Neg	y=0.0365705+8.09472 x	0.999	1.75	1.19	0.1-5	10.1/12.7	0.9980	1.0042	0.0231	3
45	Daidzein	34.0	253.0	223.0	Neg	y=-0.0329252+6.23004 x	0.999	2.18	1.73	0.1-5	9.8/11.6	0.9926	0.9963	0.0370	3
46	Kuercetin-D3-IS ^h	35.6	304.0	275.9	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	3
47	Kuercetin	35.7	301.0	272.9	Neg	y=+0.00597342+3.39417 x	0.999	1.89	1.38	0.1-5	15.5/19.0	0.9967	0.9971	0.0175	3
48	Naringenin	35.9	270.9	119.0	Neg	y=-0.00393403+14.6424 x	0.999	2.34	1.69	0.1-5	2.6/3.9	1.0062	1.0020	0.0392	3
49	Hesperedin	36.7	301.0	136.0/286.0	Neg	y=+0.0442350+6.07160 x	0.999	2.47	2.13	0.1-5	7.1/9.1	0.9998	0.9963	0.0321	3
50	Luteolin	36.7	284.8	151.0/175.0	Neg	y=-0.0541723+30.7422 x	0.999	1.67	1.28	0.05-2.5	2.6/4.1	0.9952	1.0029	0.0313	3
51	Genistein	36.9	269.0	135.0	Neg	y=-0.00507501+12.1933 x	0.999	1.48	1.19	0.05-2.5	3.7/5.3	1.0069	1.0012	0.0337	3
52	Kaempferol	37.9	285.0	239.0	Neg	y=-0.00459557+3.13754 x	0.999	1.49	1.26	0.05-2.5	10.2/15.4	0.9992	0.9990	0.0212	3
53	Apigenin	38.2	268.8	151.0/149.0	Neg	y=0.119018+34.8730 x	0.998	1.17	0.96	0.05-2.5	1.3/2.0	0.9985	1.0003	0.0178	3
54	Amentoflavone	39.7	537.0	417.0	Neg	y=0.727280+33.3658 x	0.992	1.35	1.12	0.05-2.5	2.8/5.1	0.9991	1.0044	0.0340	3
55	Krisin	40.5	252.8	145.0/119.0	Neg	y=-0.0777300+18.8873 x	0.999	1.46	1.21	0.05-2.5	1.5/2.8	0.9922	1.0050	0.0323	3
56	Asasetin	40.7	283.0	239.0	Neg	y=-0.559818+163.062 x	0.997	1.67	1.28	0.02-1	1.5/2.5	0.9949	1.0011	0.0363	3

^aR.T.: Retention time, ^bMI (m/z): Molecular ions of the standard analytes (m/z ratio), ^cFI (m/z): Fragment ions ^dr²: Coefficient of determination, ^eRSD: Relative standard deviation, ^fLOD/LOQ (µg/L): Limit of detection/quantification, ^gU (%): percent relative uncertainty at 95% confidence level (k = 2), ^hIS: Internal standard, ⁱGr. No: Represents grouping of internal standards, these numbers indicate which IS stands for which phenolic compound.

3.4.2. İstatistik Analizler

Tüm deneyler 3 tekrar şeklinde gerçekleştirildi. Elde edilen veriler, Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA/Duncan) kullanılarak değerlendirildi. $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmektedir. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiş ve SPSS (standart versiyon 20) ile analiz edilmiştir.



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Ekstre Verimleri

A. nodiflorum bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol ve su ekstralarının verimleri aşağıdaki çizelge 4.1.'de belirtilmiştir. Bu çizelgeye göre en yüksek verim su ekstresinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. Etanol ve su ekstralarının % verimleri

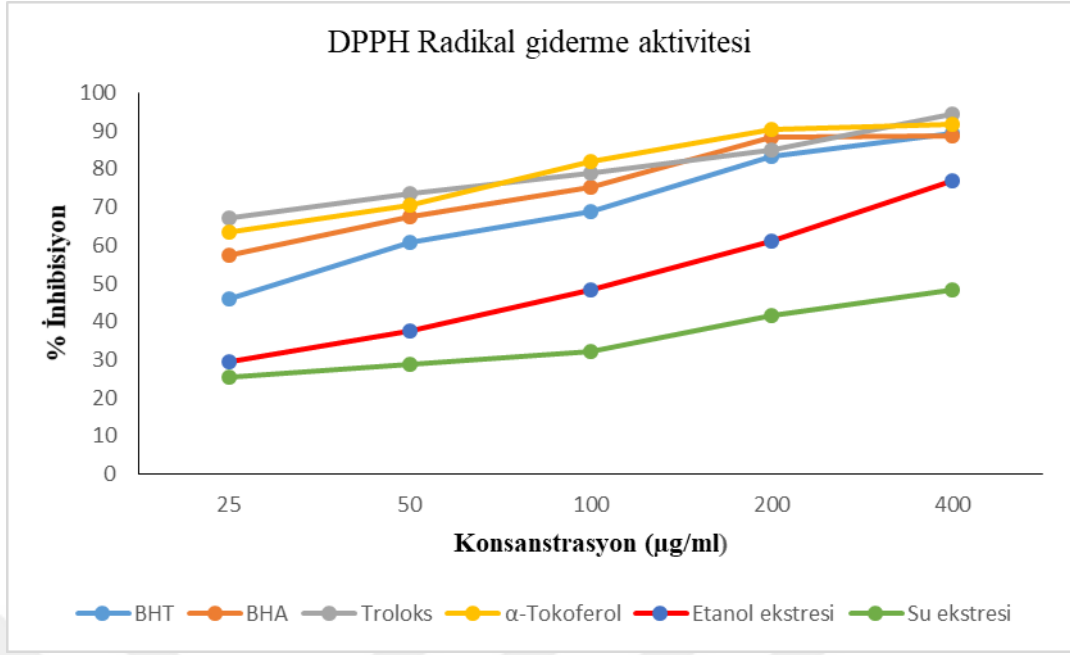
Ekstreler	Verim (%)
Etanol	% 24.25
Su	% 35.5

4.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları

Bu çalışmada, *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstralarının antioksidan aktiviteleri, DPPH, ABTS, CUPRAC ve Fe^{+3} - Fe^{+2} indirgeme gücü yöntemleri kullanılarak incelendi. Antioksidan aktivite analizlerinden elde edilen sonuçlar BHA, BHT, troloks, α -tokoferol standart antioksidan maddelerle karşılaştırıldı.

4.2.1. DPPH serbest radikali giderme aktivite sonuçları

A.nodiflorum bitkisinin toprak üstü kısımlarının etanol ve su ekstraları ile standart antioksidan maddelerin DPPH serbest radikalini giderme aktiviteleri; % inhibisyon formülü ile hesaplandı ve Şekil 4.1.'de verildi. Ekstrelerin ve standart antioksidan maddelerin 25 ile 400 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişen 5 farklı konsantrasyonda ölçülen değerlere göre IC_{50} değerleri hesaplandı ve sonuçlar Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.'de gösterildi. Sonuçlar üç paralel tekrarın ortalaması \pm standart sapması olarak verildi. Bulunan sonuçlar standart antioksidan (BHA, BHT, troloks, α -tokoferol) bileşiklerle mukayese edildi.

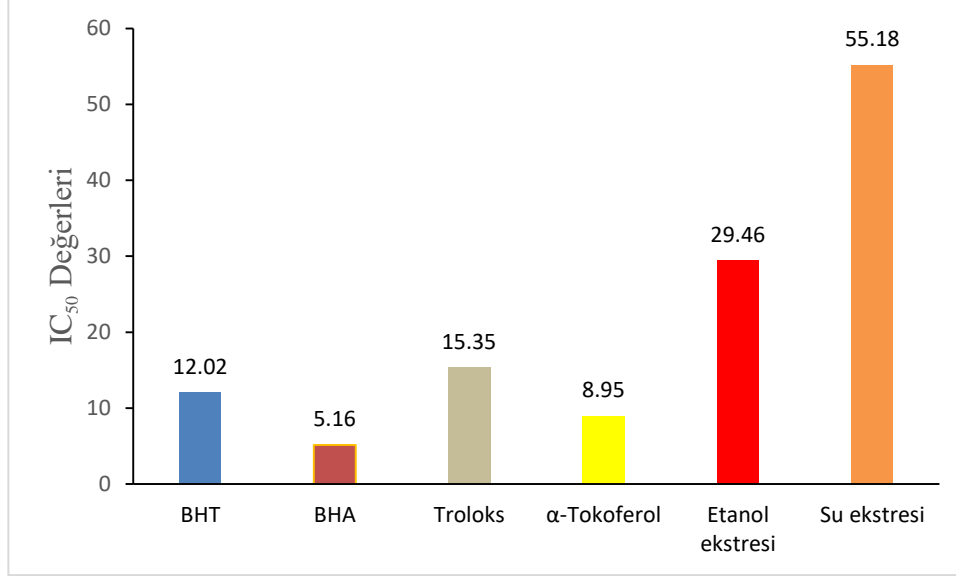


Şekil 4.1. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstralarının ve standart antioksidan maddelerin DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin ortalama % inhibisyon değerleri

Çizelge 4.2. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstraları ile standart antioksidanların DPPH serbest radikali giderme aktiviteleri IC₅₀ değerlerinin karşılaştırılması

Antioksidanlar	IC ₅₀ (µg/mL)
BHT	12.02 ± 0.30 ^d
BHA	5.16 ± 1.41 ^f
Troloks	15.35 ± 0.78 ^c
α-tokoferol	8.95 ± 0.35 ^e
Etanol ekstresi	29.46 ± 0.23 ^b
Su ekstresi	55.18 ± 0.38 ^a

Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen rakamlar p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.



Şekil 4.2. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstraları ile standart maddelerin DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin IC₅₀ (µg/mL) değerleri

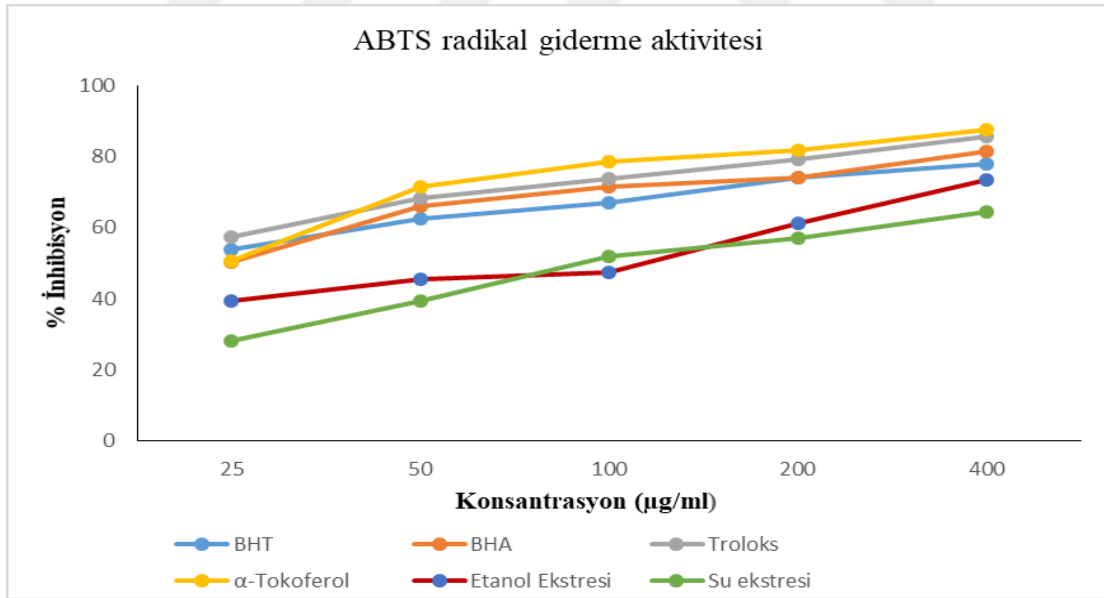
A. nodiflorum bitkisinin etanol ve su ekstralarının ve standart maddelerin DPPH radikalini giderme aktiviteleri (% inhibisyon) konsantrasyon artışı ile doğru orantılı şekilde arttığı görüldü (Şekil 4.1.). Ayrıca Düşük IC₅₀ değeri güçlü radikal giderme aktivitesi göstermektedir. Buna göre, bitkinin etanol ve su ekstraları ile standart antioksidanların DPPH serbest radikali giderme aktivitesindeki sıralaması; BHA (IC₅₀: 5.16 µg/mL) > α-tokoferol (IC₅₀: 8.95 µg/mL) > BHT (IC₅₀: 12.02 µg/mL) > troloks (IC₅₀: 15.35 µg/mL) > etanol ekstresi (IC₅₀: 29.46 µg/mL) > su ekstresi (IC₅₀: 55.18 µg/mL) şeklindedir. Sonuçlar, tüm örnekler arasında BHA'nın en düşük IC₅₀ değerine sahip olduğunu ve dolayısıyla en güçlü radikal giderici olduğunu göstermektedir. Etanol ekstresi (IC₅₀: 29.46 µg/mL) su ekstresine (IC₅₀: 55.18 µg/mL) göre daha güçlü bir radikal giderme aktivitesi sergilemiştir. Bu, etanolün bitkisel bileşiklerin ekstraksiyonunda suya göre daha etkili bir çözücü olduğunu göstermektedir. Ancak, her iki ekstre de standart antioksidanlarla karşılaştırıldığında daha zayıf bir radikal giderme kapasitesi göstermiştir. Sonuçlar, *A. nodiflorum* bitkisinden elde edilen etanol ve su ekstralarının belirli bir antioksidan potansiyele sahip olduğunu, ancak bu potansiyelin standart antioksidanlarla karşılaştırıldığında sınırlı kaldığını ortaya koymaktadır.

Yapılan bir DPPH antioksidan tayini çalışmasında *Apium* ailesinden olan *A. graveolens*'in metanol ve aseton ekstralarının antioksidan aktivitelerine bakılmıştır. Çalışma sonucunda hem metanol hem de aseton ekstraları 1000 mg/mL'de % 80'in üzerinde inhibisyon sonucu vermiştir. Başka bir çalışmada ise *A. nodiflorum* bitkisinin uçucu yağının antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir (Sameh ve ark., 2011).

Apiaceae familyasına ait olan *Apium graveolens*'in etanol ekstresindeki antioksidan kapasitesi, DPPH yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Çalışmalar sonucunda, etanol ekstresinin IC₅₀ değeri 775.41 µg/mL düzeyinde antioksidan aktivite sergilediği belirlenmiştir. Bu bulgu, *A. graveolens* bitkisinin potansiyel bir antioksidan kaynağı olduğunu ve sağlık faydaları açısından dikkate değer olduğunu göstermektedir (Kholieqoh ve ark., 2022).

4.2.2. ABTS⁺radikali giderme aktivite sonuçları

Elde edilen ekstrelerin antioksidan aktivitesi ABTS yöntemi ile belirlenmiştir. *A. nodiflorum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının etanol ve su ekstreleri ile standart antioksidan maddelerin ABTS radikalini giderme aktiviteleri; % inhibisyon formülü ile hesaplandı ve Şekil 4.3.'te verildi. Bitki ekstrelerinin ve standart antioksidanların % ABTS radikal giderim aktiviteleri 25 ile 400 µg/mL arasında değişen 5 farklı konsantrasyonda ölçülen değerlere göre IC₅₀ değerleri hesaplandı. Düşük IC₅₀ değeri yüksek antioksidan aktiviteyi belirtmektedir. Sonuçlar üç paralel tekrarın ortalaması ± standart sapması olarak verildi. IC₅₀ değeri sonuçları Çizelge 4.3.'te ve Şekil 4.4.'te gösterilmektedir.

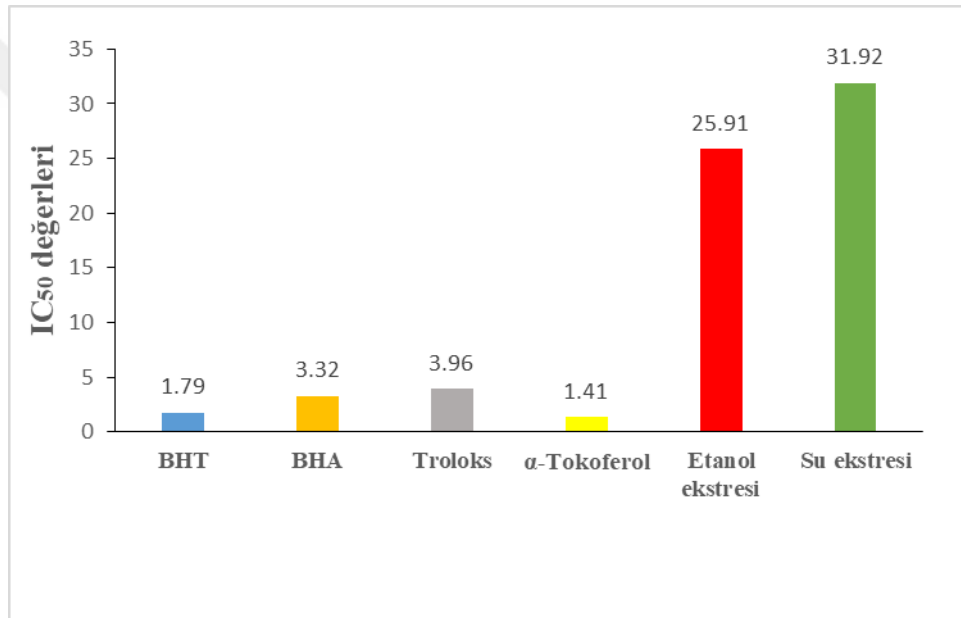


Şekil 4.3. *A.nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstrelerinin ve standart antioksidan maddelerin ABTS⁺ radikali giderme aktivitelerinin ortalama % inhibisyon değerleri

Çizelge 4.3. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstreleri ile standart antioksidanların ABTS⁺ radikali giderme aktiviteleri IC₅₀ değerlerinin karşılaştırılması

Antioksidanlar	IC ₅₀ (µg/mL)
BHT	1.79 ± 0.72 ^d
BHA	3.32 ± 0.71 ^c
Troloks	3.96 ± 0.96 ^c
α-tokoferol	1.41 ± 0.50 ^d
Etanol ekstresi	25.91 ± 0.46 ^b
Su ekstresi	31.92 ± 0.43 ^a

Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen rakamlar p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.



Şekil 4.4. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstreleri ile standart antioksidan maddelerin ABTS⁺ radikali giderme aktivitelerinin IC₅₀ (µg/mL) değerleri

ABTS radikal giderme aktivitesinde elde edilen sonuçlara göre, *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstrelerinin, kullanılan standart antioksidanlara kıyasla daha düşük bir radikal giderme aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir.

ABTS radikal giderme aktivitesinde kullanılan standart antioksidanlar ve su kerevizi ekstrelerinde IC₅₀ değerlerinin sıralaması; α-tokoferol (IC₅₀: 1.41 µg/mL) > BHT(IC₅₀: 1.79 µg/mL) > BHA (IC₅₀: 3.32 µg/mL) > troloks (IC₅₀: 3.96 µg/mL) > etanol ekstresi (IC₅₀: 25.91 µg/mL) > su ekstresi (IC₅₀: 31.92 µg/mL) şeklinde belirlenmiştir. Sonuçlara göre, α -tokoferol, en düşük IC₅₀ değeriyle en güçlü radikal giderme aktivitesi ile öne çıkmıştır. Bu sonuçlar, bu standart antioksidanın ABTS radikalini etkili bir şekilde nötralize edebildiğini göstermektedir. Etanol ekstresi ise, su ekstresine göre daha iyi bir radikal giderme aktivitesi göstermiştir, bu da etanolün bitkiden etkin antioksidan

bileşiklerin ekstraksiyonunda daha başarılı bir çözücü olduğunu düşündürmektedir. Farklı çözümlerle bitkilerden elde edilen ekstraktların radikal süpürme aktivitelerindeki farklılıklar, çeşitli çalışmalarla da ortaya konmuştur (Kaya, 2022; Akbaş ve ark., 2023; Yılmaz ve ark., 2023; Zengin ve ark.,2022).

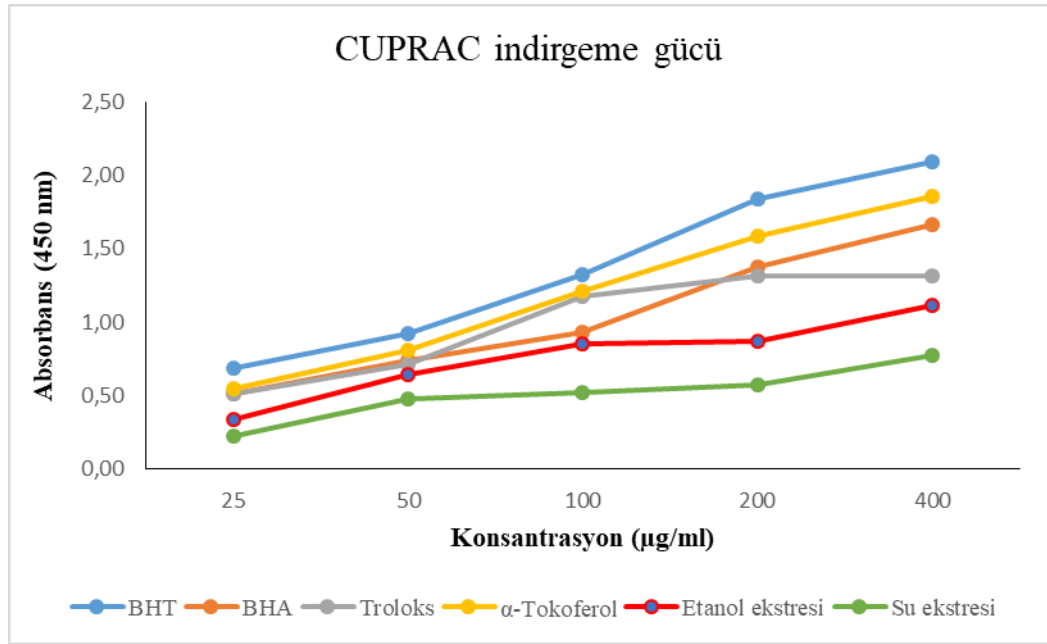
4.2.3. CUPRAC (Cu⁺²) iyonu indirgeme kapasitesi sonuçları

A. nodiflorum toprak üstü kısımlarının etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarındaki bakır iyonlarını (Cu⁺²) indirgeme kapasitesi absorbans sonuçları standart antioksidan olan BHA, BHT, troloks, α - tokoferol ile kıyaslandı (Çizelge 4.4. ve şekil 4.5.). Yapılan analizlere göre en yüksek absorbans değerleri yüksek indirgeme kapasitesini işaret etmektedir.

Çizelge 4.4. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstraktlarının CUPRAC indirgeme kapasitelerinin standart antioksidanlar (BHA, BHT, troloks, α - tokoferol) ile karşılaştırılması

Antioksidanlar	25 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$
BHT	0.690 \pm 0.006 ^a	0.927 \pm 0.004 ^a	1.321 \pm 0.003 ^a	1.838 \pm 0.014 ^a	2.091 \pm 0.008 ^a
BHA	0.513 \pm 0.013 ^d	0.744 \pm 0.009 ^c	0.932 \pm 0.009 ^d	1.377 \pm 0.004 ^c	1.660 \pm 0.051 ^c
Troloks	0.515 \pm 0.014 ^c	0.715 \pm 0.010 ^d	1.174 \pm 0.017 ^c	1.317 \pm 0.100 ^d	1.315 \pm 0.005 ^d
α - tokoferol	0.550 \pm 0.018 ^b	0.811 \pm 0.005 ^b	1.211 \pm 0.007 ^b	1.590 \pm 0.007 ^b	1.858 \pm 0.005 ^b
Etanol ekstresi	0.342 \pm 0.031 ^e	0.645 \pm 0.019 ^e	0.856 \pm 0.021 ^e	0.867 \pm 0.033 ^e	1.119 \pm 0.007 ^e
Su ekstresi	0.227 \pm 0.013 ^f	0.481 \pm 0.006 ^f	0.518 \pm 0.015 ^f	0.571 \pm 0.013 ^f	0.774 \pm 0.021 ^f

Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen rakamlar p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.



Şekil 4.5. Ekstrelerin ve standart antioksidanların bakır (II) iyonu indirgeme kapasiteleri

A. nodiflorum bitkisinden elde edilen etanol ve su ekstralarının konsantrasyona bağlı olarak farklı indirgeme gücü aktivitesi sergilediği tespit edildi. Özellikle, ekstraların konsantrasyonları arttıkça indirgeme gücü aktivitelerinde bir artış gözlemlendi. Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere en yüksek konsantrasyonda (400 µg/mL) bakır (II) iyonun indirgeme kapasitelerinin absorbans değerleri BHT (2.091) > α-tokoferol (1.858) > BHA (1.660) > troloks (1.315) > etanol ekstresi (1.119) > su ekstresi (0.774) şeklinde sıralandı. En yüksek konsantrasyonda su kerevizinin etanol ve su ekstresinin indirgeme kapasitesinin pozitif kontrol olarak kullanılan standart antioksidanlardan daha düşük olduğu belirlendi. BHT en yüksek indirgeme kapasitesine sahipken, su kerevizi bitkisinin hem etanol hem de su ekstraları daha düşük bir indirgeme kapasitesi sergiledi. Etanol ekstresi, su ekstresine göre daha yüksek bir indirgeme gücü gösterdi. Bu, etanolün bitkisel bileşiklerin ekstraksiyonunda daha etkili bir çözücü olabileceğini düşündürmektedir.

A. graveolens ile yapılan bir CUPRAC antioksidan tayini çalışmasında diklormetan, etanol ve su ekstraları kullanılmıştır. Ekstrelerin 100 µg/mL sonuçları sırası ile 0.369, 0.137, 0.11 şeklinde bulunmuş olup, etanol ekstresinin su ekstresinden, daha iyi indirgeme kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (Boğa ve ark., 2011). Çalışmamızda da etanol ekstresi su ekstresinden daha yüksek antioksidan etki göstermiştir. Ayrıca tez kapsamında çalışılan 100 µg/mL konsantrasyon sonuçları literatürdeki sonuçlardan daha yüksek indirgeme kapasitesine sahiptir. Çalışmamızın sonuçları, literatürdeki çalışmalarla paralellik göstermekte ve farklı çözücülerin antioksidan etkinliği üzerindeki belirleyici rolünü vurgulamaktadır.

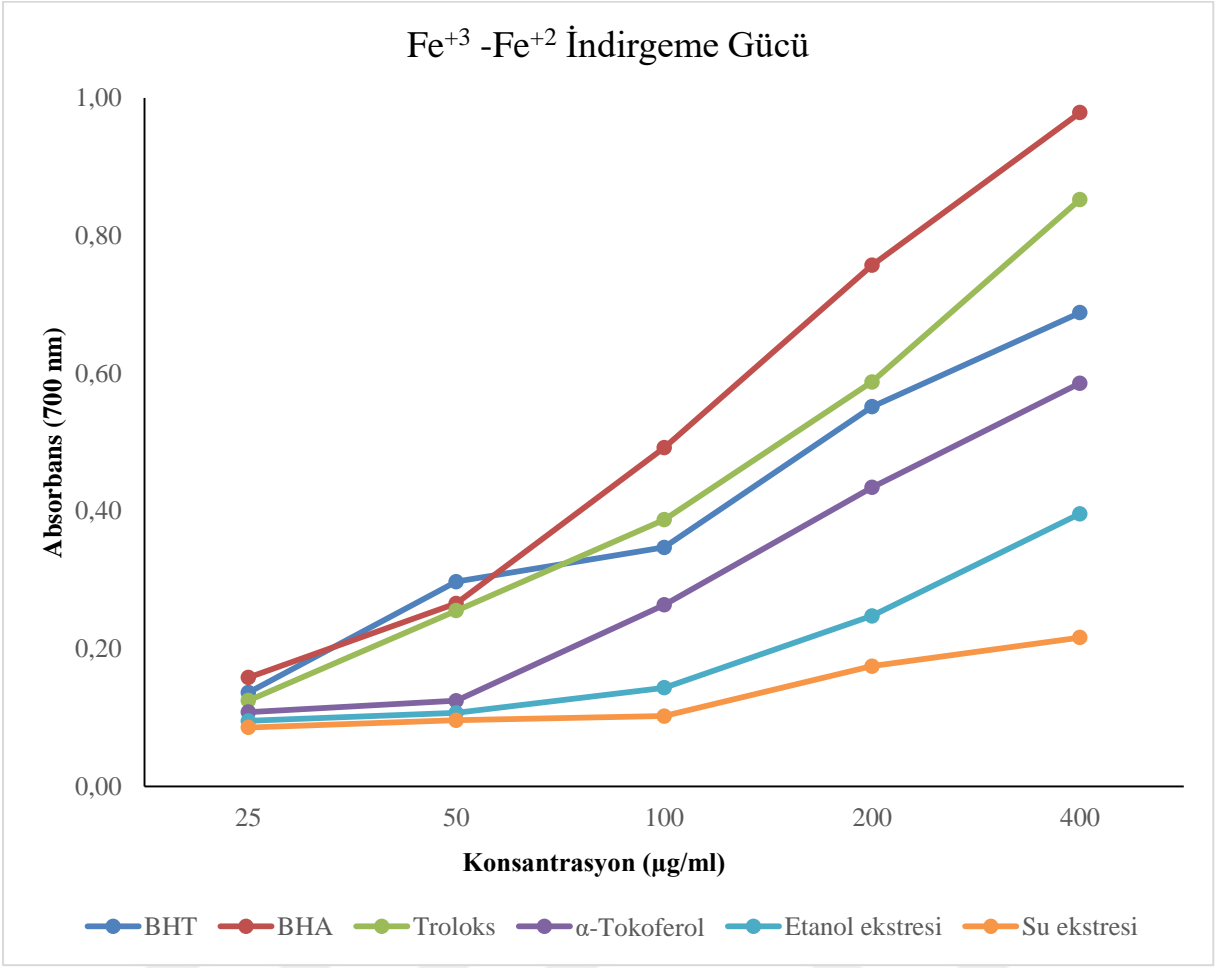
4.2.4. Fe⁺³-Fe⁺² indirgeme kapasitesi sonuçları

A. nodiflorum bitkisinden elde edilen etanol ve su ekstralarının farklı konantrasyonlarındaki Fe⁺³-Fe⁺² indirgeme kapasitesi, 700 nm dalga boyunda ölçülen absorban değerleriyle değerlendirildi. Ekstrelerin indirgeme gücünü standart antioksidanlar (BHA, BHT, troloks, α -tokoferol) ile karşılaştırıldı ve sonuçlar Çizelge 4.5 ve Şekil 4.6'da verildi. Analiz sonuçları, yüksek absorban değerlerinin daha güçlü bir indirgeme kapasitesine işaret ettiğini gösterdi.

Çizelge 4.5. *A.nodiflorum* 'un etanol ve su ekstralarının Fe⁺³-Fe⁺² indirgeme kapasitelerinin standart antioksidanlar (BHA, BHT, troloks, α -tokoferol) ile karşılaştırılması

Antioksidanlar	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL
BHT	0.136±0.016 ^b	0.297±0.003 ^a	0.347±0.002 ^c	0.551±0.016 ^c	0.688±0.005 ^c
BHA	0.158±0.001 ^a	0.266±0.046 ^{ab}	0.492±0.001 ^a	0.757±0.040 ^a	0.978±0.005 ^a
Troloks	0.125±0.003 ^b	0.255±0.002 ^b	0.387±0.005 ^b	0.587±0.003 ^b	0.852±0.002 ^b
α -tokoferol	0.108±0.002 ^c	0.124±0.003 ^c	0.264±0.037 ^d	0.434±0.005 ^d	0.585±0.007 ^d
Etanol ekstresi	0.095±0.003 ^d	0.107±0.001 ^d	0.143±0.002 ^e	0.248±0.003 ^e	0.396±0.001 ^e
Su ekstresi	0.086±0.002 ^e	0.096±0.002 ^e	0.102±0.001 ^f	0.175±0.004 ^f	0.216±0.026 ^f

Aynı satır ve sütunda farklı harflerle ifade edilen rakamlar p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.



Şekil 4.6. Ekstrelerin ve standart antioksidanların Fe⁺³ - Fe⁺² indirgeme kapasiteleri

Bitkinin etanol ve su ekstresi konsantrasyon ile doğru orantılı bir şekilde artmaktadır. Ekstrelerin farklı konsantrasyonlardaki (25, 50, 100, 200 ve 400 µg/mL) çözeltilerin 700 nm'deki absorbanları Çizelge 4.5.'te verildi.

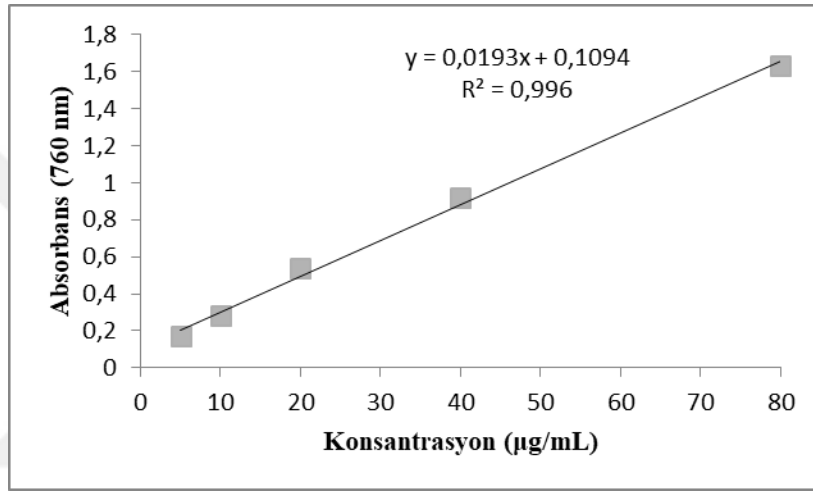
Standart antioksidanlar ile etanol ve su ekstralarının demir indirgeme gücü absorbanı en yüksek konsantrasyonda (400 µg/L) sırasıyla BHA (0.978) > troloks (0.852) > BHT (0.688) > α-tokoferol (0.585) > etanol ekstresi (0.396) > su ekstresi (0.216) şeklinde tespit edildi. Standart antioksidan maddeler arasında BHA en yüksek indirgeme gücüne sahip iken, α-tokoferol'ün en düşük indirgeme gücüne sahip olduğu belirlendi. Ekstreler arasında ise, etanol ekstresi su ekstresine kıyasla daha yüksek bir indirgeme kapasitesi gösterdi. Bu sonuçlar, bitki ekstralarının antioksidan aktivitesinin sınırlı olduğunu ancak yine de belirli bir indirgeme kapasitesine sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada kullanılan dört farklı antioksidan aktivite yöntemi karşılaştırıldığında, tüm yöntemlerde etanol ekstresinin antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu, kullanılan çözücünün antioksidan aktivite üzerindeki etkisinin

önemli olduğunu ve çözücü tipinin, elde edilen sonuçlarda belirgin bir farklılık yaratabileceğini göstermektedir. Elde edilen veriler, etanolün *A. nodiflorum* bitkisinden antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonunda daha etkili bir çözücü olduğunu, dolayısıyla bitkinin antioksidan potansiyelini iyi şekilde ortaya koyabildiğini işaret etmektedir.

4.3. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

A. nodiflorum bitkisindeki toplam fenolik bileşik miktarını belirlemek amacıyla, standart olarak gallik asit kullanılarak bir standart gallik asit grafiği oluşturuldu (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Standart gallik asit grafiği

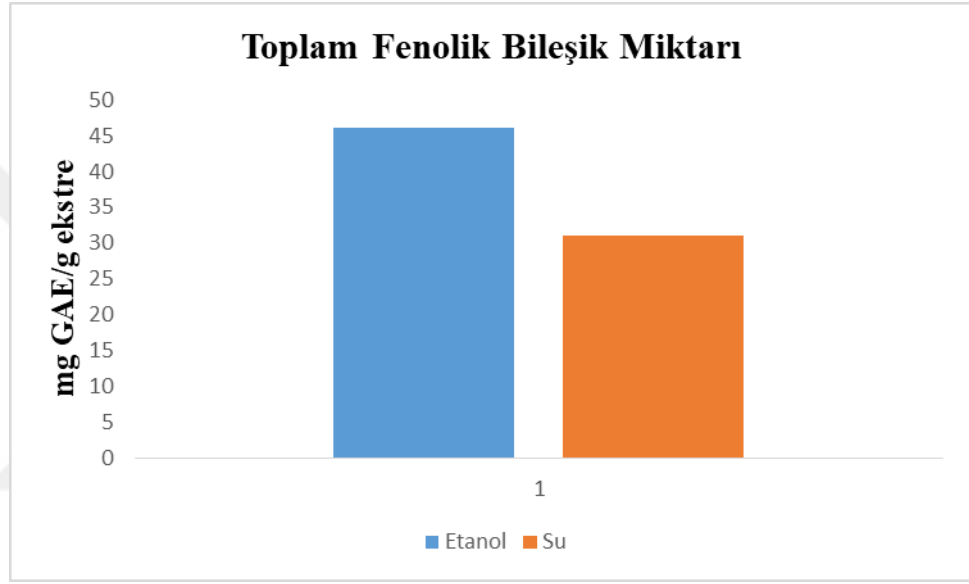
A. nodiflorum elde edilen etanol ve su ekstralarında bulunan toplam fenolik bileşik miktarları bu standart grafikten elde edilen formülden yararlanılarak gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g ekstre) şeklinde hesaplandı ($r^2:0.0996$). *A.nodiflorum* ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarları ise Çizelge 4.6.'da verildi.

Çizelge 4.6. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarları (mg GAE/g ekstre± SS)

Ekstreler	Toplam Fenolik Bileşik Miktarı (mg GAE/g ekstre± SS)
Etanol ekstresi	46.095 ± 0.323 ^a
Su ekstresi	31.034 ± 0.658 ^b

Çizelge 4.6.'daki sonuçlara göre, *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstralarında toplam fenolik bileşik miktarları sırasıyla 46.095 mg GAE/g ve 31.034 mg GAE/g olarak

tespit edilmiştir. Fenolik bileşikler, bitkisel ekstrelerde yaygın olarak bulunan ve güçlü antioksidan özellikler sergileyen bileşiklerdir. Etanol ekstresinde daha yüksek bir toplam fenolik bileşik miktarı gözlenmesi, bu ekstrenin antioksidan aktivitesinin de su ekstrelerine kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Genel olarak, fenolik bileşiklerin yüksek olması, bitkisel ekstrelerin antioksidan potansiyelinin yüksekliğiyle doğrudan ilişkilidir. Çalışmada da tüm antioksidan yöntemlerde etanol ekstresi, su ekstrelerinden daha yüksek aktivite göstermiştir. Dolayısıyla etanol ekstresinin, radikal giderme ve diğer antioksidan aktivitelerde daha güçlü bir etki gösterebileceği tespit edildi.



Şekil 4.8. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarı

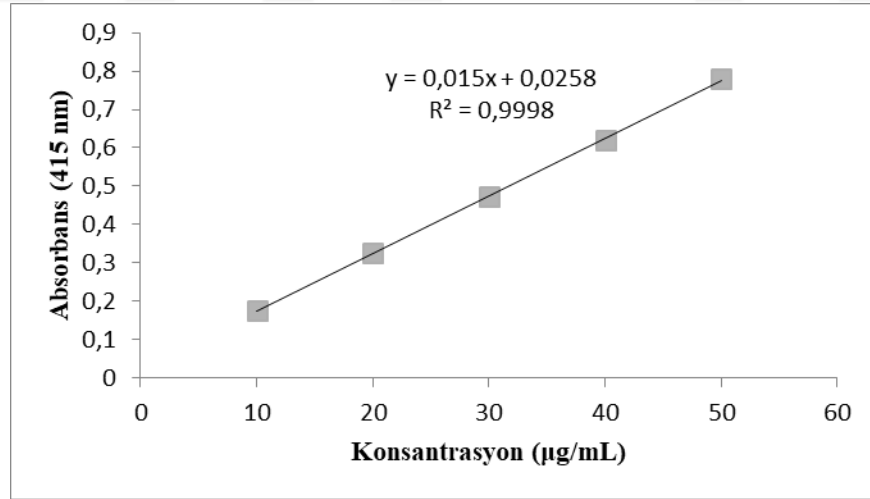
Apium bitkileri, zengin bir fenolik bileşen yelpazesine sahiptir. Bu bileşenler arasında kafeik asit, kateşin, katekol, klorojenik asit, krizin, rosmarinik asit, ellagik asit, ferulik asit, gallik asit, p-kumarik asit, protokatekuik asit, pirogallol, salisilik asit ve siringik asit bulunmaktadır. Ayrıca, *Apium* bitkileri beş farklı flavonoid içerir; apigenin, hesperitin, luteolin, kuersetin ve apiin. Bitkiler ayrıca izokuersitrin ve krisin gibi ek flavonoidler de barındırmaktadır. Bu geniş bileşen çeşitliliği, *Apium* bitkilerinin sağlık üzerindeki potansiyel faydalarını ve biyolojik aktivitelerini destekleyen önemli bir temel sunmaktadır (Baananou ve ark., 2013).

Yapılan bir fenolik bileşen çalışmasında, *A. graveolens* yapraklarından çeşitli çözücülerle elde edilen ekstraların toplam fenolik ve flavonoid içeriği analiz edilmiştir. Etilasetat ekstresi, toplam fenolik içerik 22.7 mg GAE/g, flavonoid içerik ise 4.08 mg

QE/g olarak bulunmuştur. Bütanol ekstresi, toplam fenolik içerik 51.09 mg GAE/g, flavonoid içerik ise 2.12 mg QE/g olarak ölçülmüştür. Su özütleri, toplam fenolik içerik 46.40 mg GAE/g, flavonoid içerik ise 0.77 mg QE/g olarak tespit edilmiştir. Bu bulgular, farklı çözücüler ile hazırlanan ekstraların fenolik ve flavonoid bileşenlerdeki miktarlarında farklılık içerdiği tespit edilmiştir. Özellikle bütanol ekstresi, en yüksek toplam fenolik içeriği sunarak bitkinin fenolik bileşenler açısından zengin olduğunu ortaya koymaktadır. Etilasetat ve su özütleri ise sırasıyla daha düşük ancak önemli miktarda fenolik ve flavonoid bileşen içermektedir. Bu sonuçlar, bütanol ekstresinin fenolik bileşenler açısından daha etkili bir çözücü olduğunu ve *A. graveolens* yapraklarının çeşitli fenolik bileşenler açısından zengin olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, bitkinin antioksidan potansiyelini ortaya koymak için farklı ekstraksiyon yöntemlerinin etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir (Jung ve ark., 2011).

4.3.6. Toplam Flavonoid Bileşik Miktarı Tayini

A.nodiflorum bitkisinde ki toplam flavonoid bileşik miktarını tayin etmek amacıyla standart olarak kuersetin kullanıldı. Öncelikle standart kuersetin grafiği oluşturuldu (Şekil 4.9.).

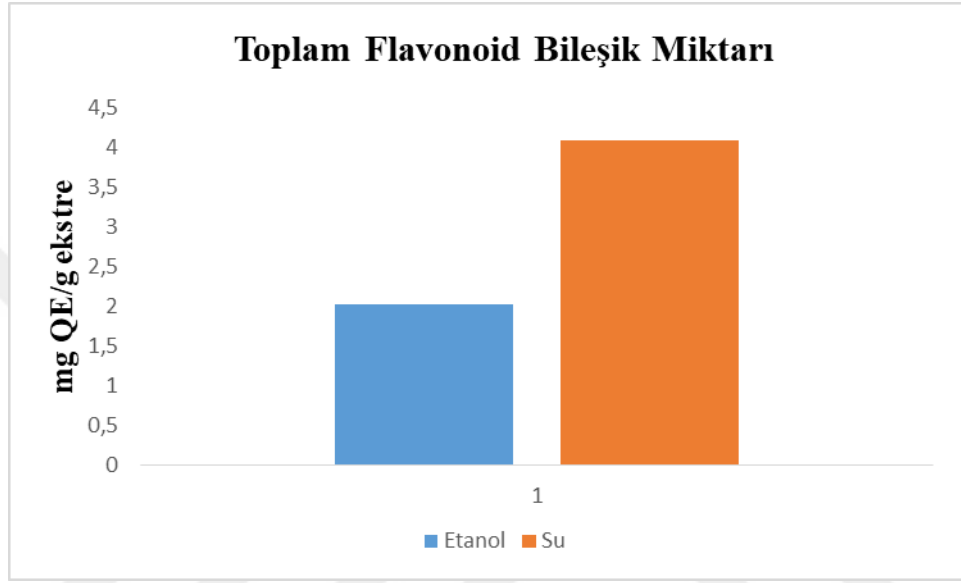


Şekil 4.9. Standart kuersetin grafiği

Oluşturulan standart kuersetin grafiğinden elde edilen denklemden yararlanılarak *A.nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstralarının toplam flavonoid bileşik miktarı kuersetin eşdeğeri (mg QE/g ekstre) olarak hesaplandı (r^2 : 0.09978). *A.nodiflorum* ekstralarının toplam flavonoid bileşik miktarları ise Çizelge 4.7.'de verildi.

Çizelge 4.7. *A.nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstralarının toplam flavonoid bileşik miktarları (mg QE/g ekstre± SS)

Ekstreler	Toplam Flavonoid Bileşik Miktarı (mg QE /g ekstre± SS)
Etanol ekstresi	20.232 ± 0.063 ^a
Su ekstresi	4.082 ± 0.156 ^b



Şekil 4.10. *A.nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstralarının toplam flavonoid madde miktarı

A. nodiflorum bitkisinin etanol ve su ekstralarında toplam flavonoid bileşik miktarları sırasıyla 20.232 mg QE/g ve 4.082 mg QE/g olarak tespit edilmiştir. Flavonoidler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve güçlü antioksidan özelliklere sahip bileşiklerdir. Bu bileşikler, serbest radikalleri etkisiz hale getirme, oksidatif stresi azaltma ve hücreleri hasardan koruma gibi önemli biyolojik işlevlere sahiptir. Etanol ekstresinde toplam flavonoid bileşik miktarının su ekstreğine göre belirgin şekilde daha yüksek olması, etanolün flavonoid bileşenlerini daha etkili bir şekilde ekstre ettiğini göstermektedir. Bu yüksek flavonoid içeriği, etanol ekstrelerinin antioksidan aktivitesinin su ekstreğine kıyasla daha güçlü olduğunu göstermektedir.

4.4. Enzim İnhibisyon Sonuçları

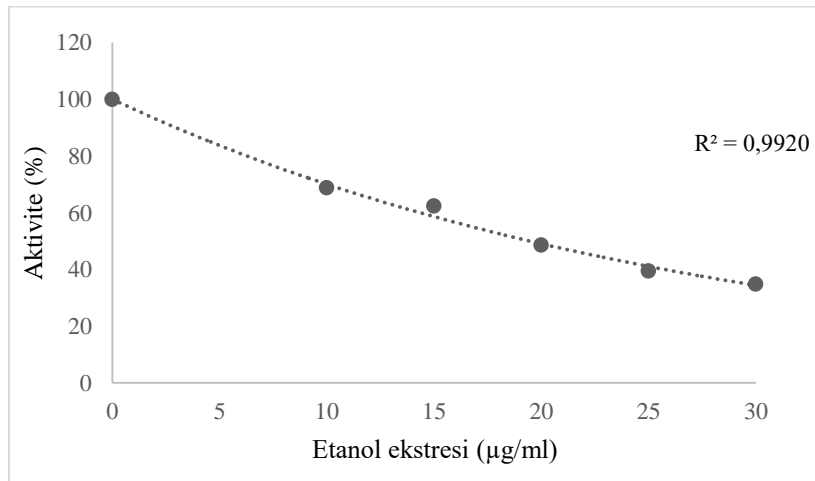
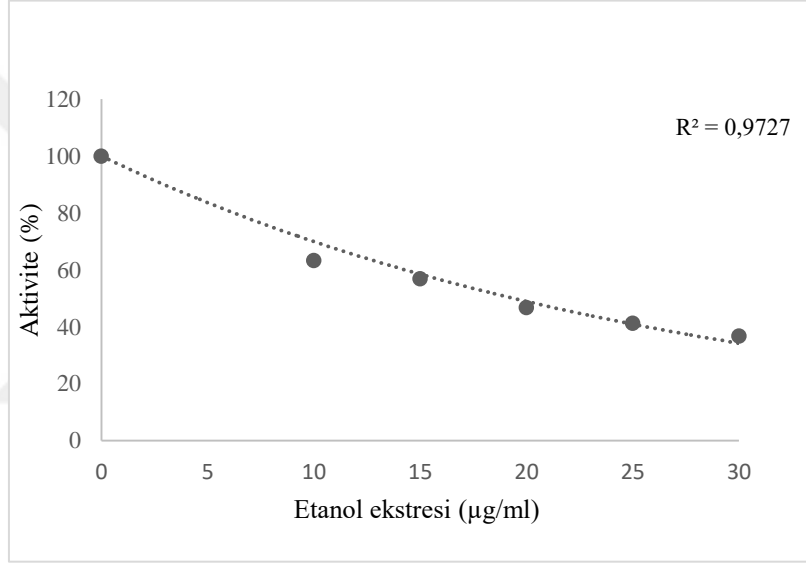
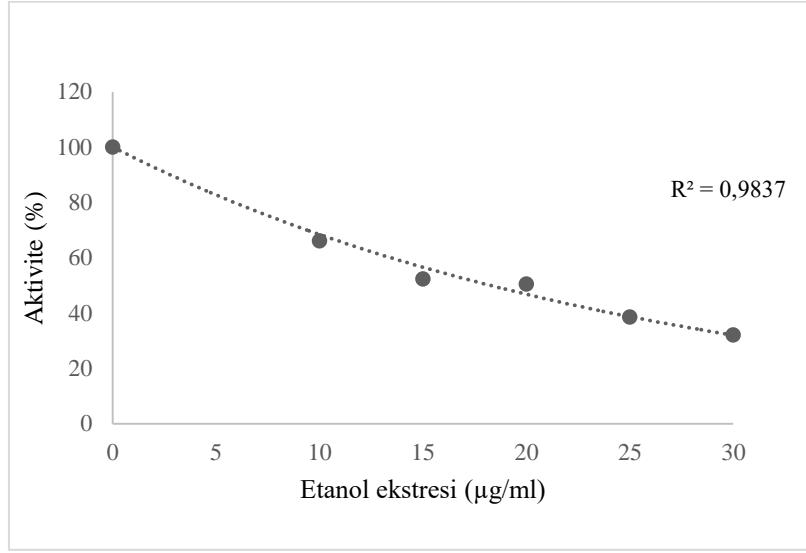
Substratın doygun derişiminde AChE ve BChE enziminin standart inhibitörü olan Takrin'e karşı ekstralarının inhibisyon etkisi incelendi. Her bir ekstre için aktivite (%) konsantrasyon grafikleri çizildi. Çizilen grafiklerde Takrin ve bitki ekstraları için IC₅₀ değerleri hesaplandı.

Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda su kerevizinin etanol ve su ekstralarının pozitif kontrol olan Takrin ile AChE ve BChE enzimi üzerindeki etkisi % aktivite grafikleri ile hesaplandı. Şekil 4.11. ve Şekil 4.16. arasında gösterildi. IC₅₀ ve r² değerleri ise Çizelge 4.8.'de verildi.

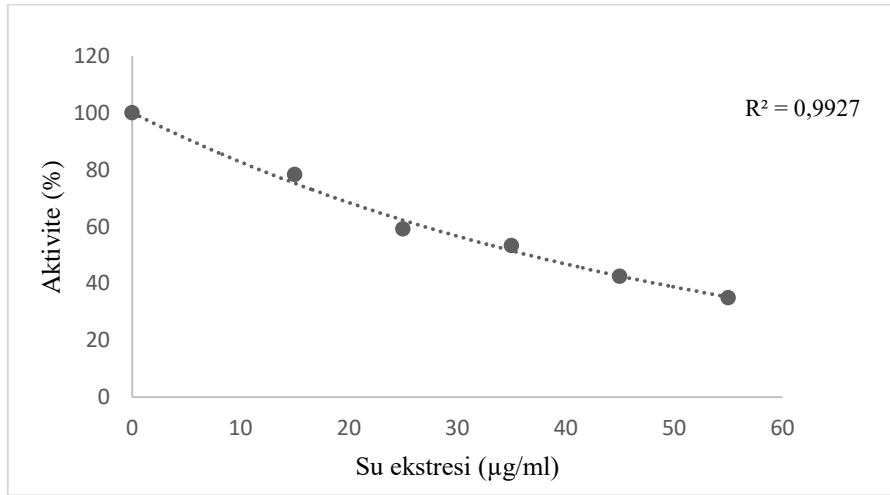
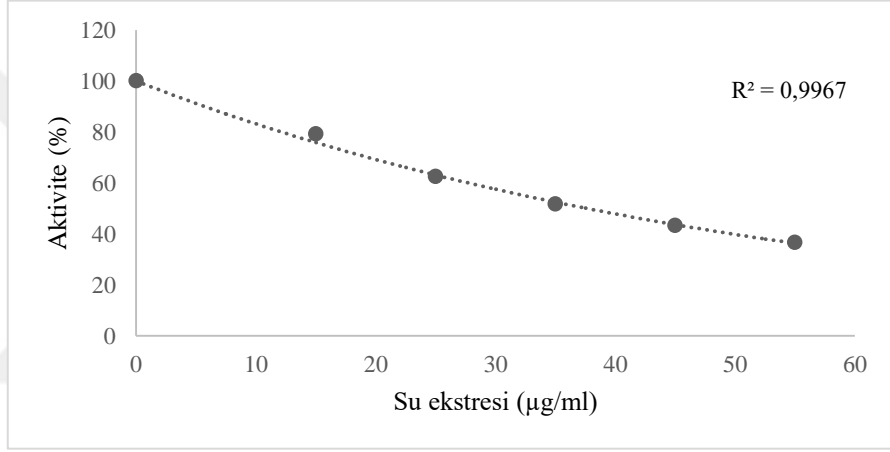
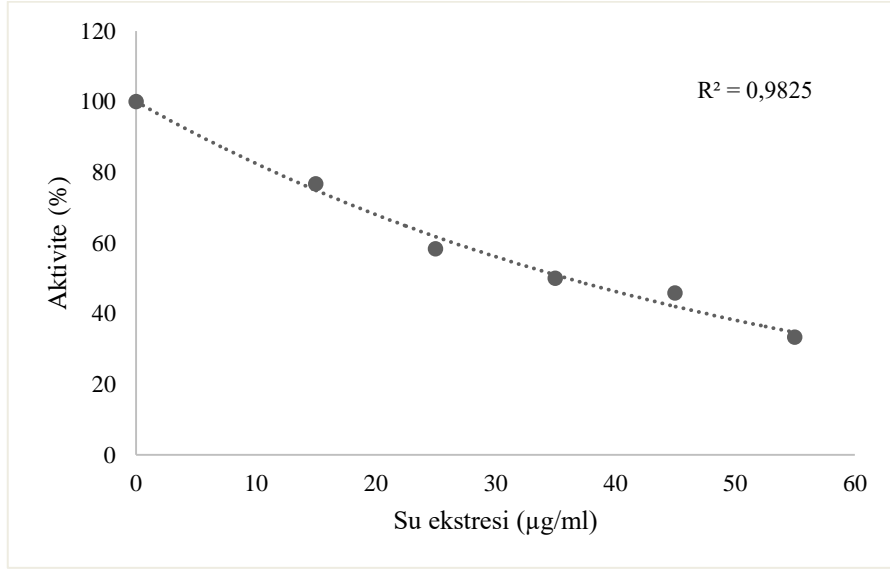
Çizelge 4.8. *A. nodiflorum* bitki ekstralarının AChE ve BChE enzimleri üzerine inhibisyon sonuçları (IC₅₀)

Örnekler	AChE		BChE	
	IC ₅₀ (µg/mL)	r ²	IC ₅₀ (µg/mL)	r ²
Etanol ekstresi	19.03±0.696 ^c	0.9828	24.50±0.737 ^b	0.9914
Su ekstresi	36.68±0.893 ^a	0.9906	40.88±2.77 ^a	0.9892
Takrin (µM)	1.48±0.025 ^d	0.9936	1.03±0.015 ^e	0.9949

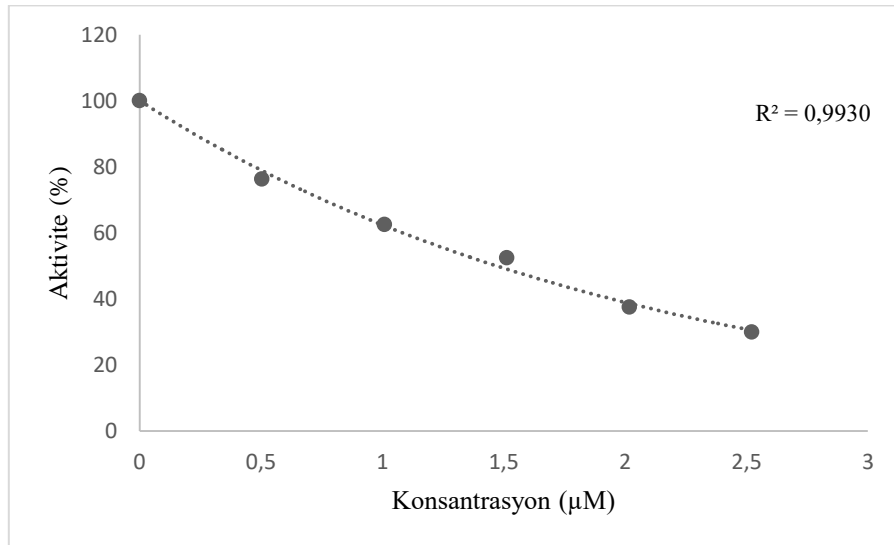
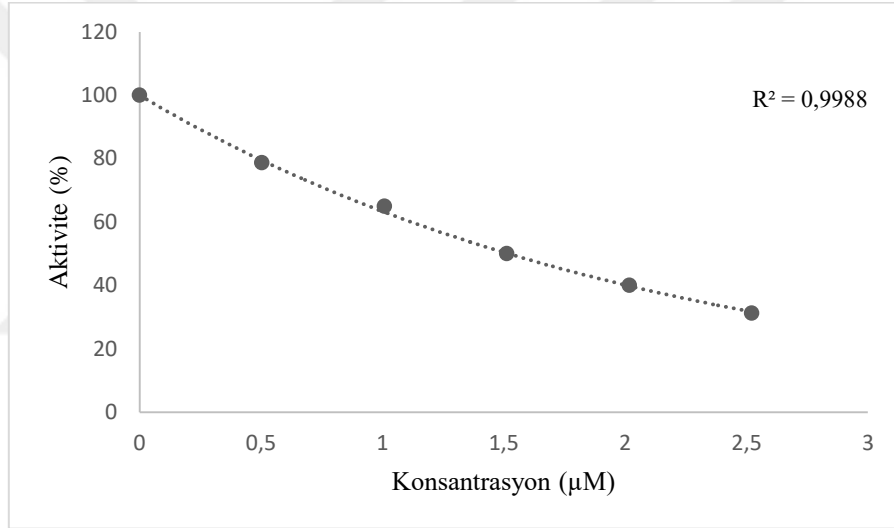
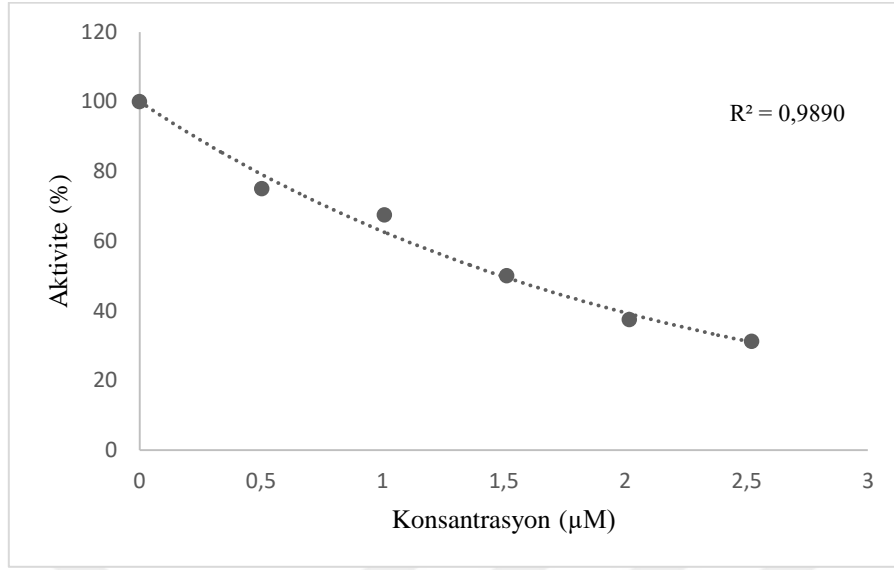
Aynı satır ve sütunda farklı harflerle ifade edilen rakamlar p<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.



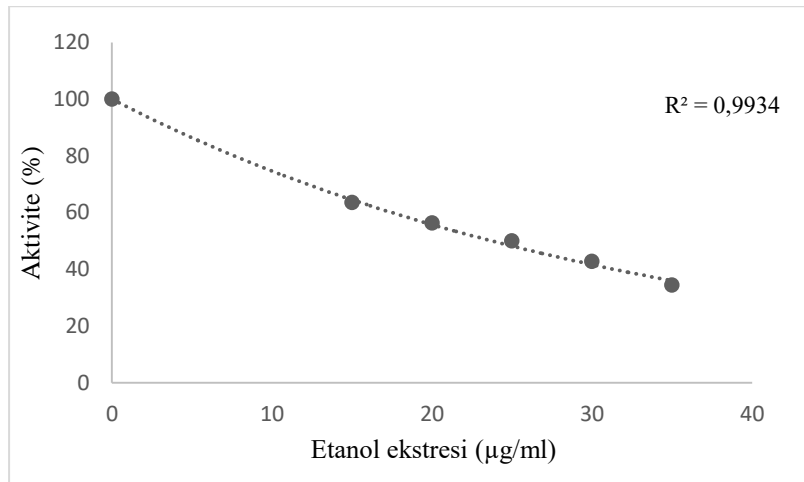
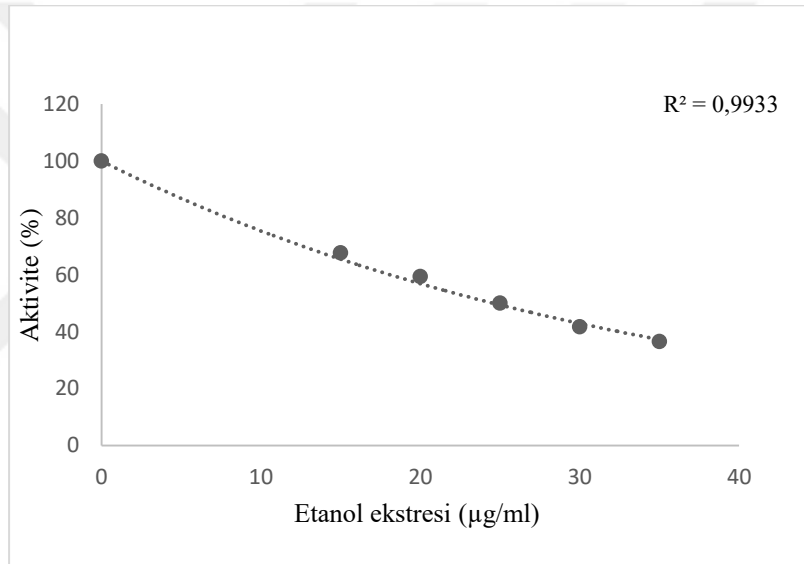
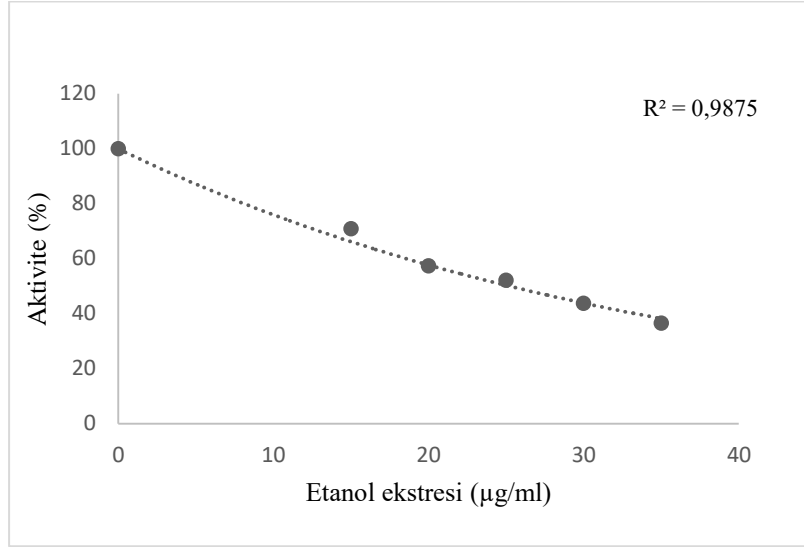
Şekil 4.11. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ekstresinin AChE enzimi için % aktivitelerinin üç ölçüm sonuçları



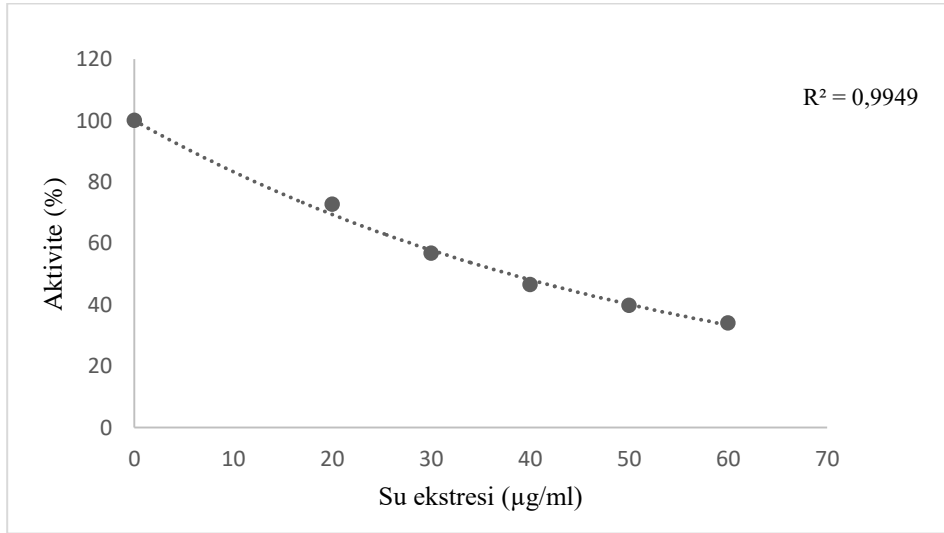
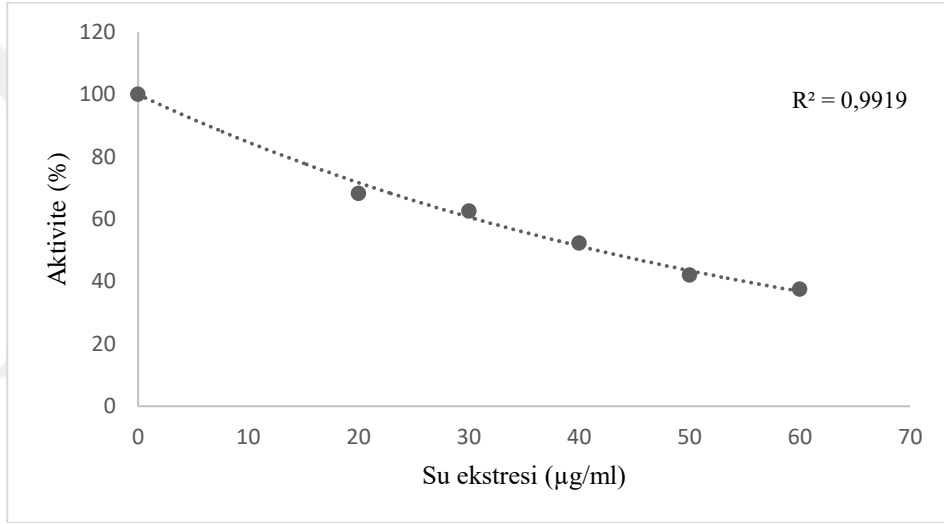
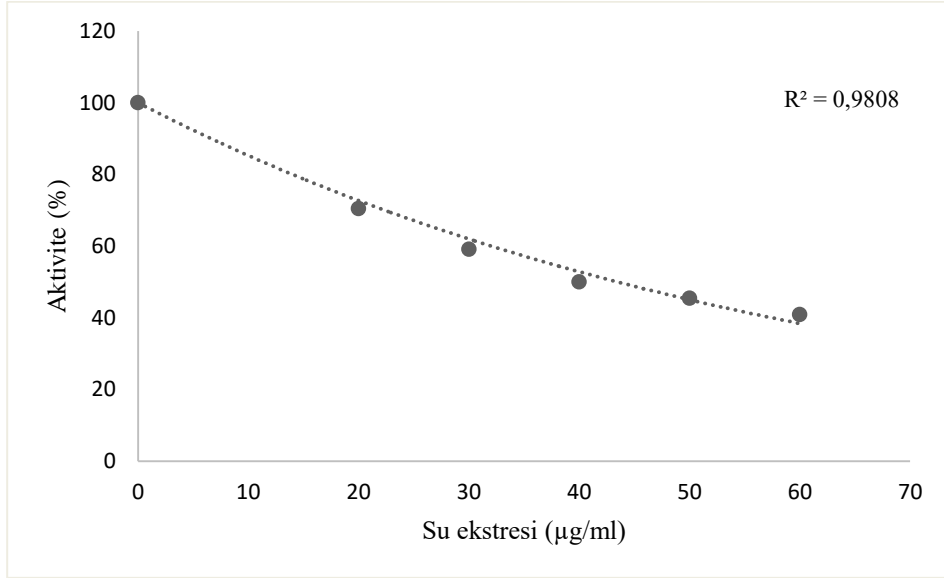
Şekil 4.12. *A. nodiflorum* bitkisinin su ekstresinin AChE enzimi için % aktivitelerinin üç ölçüm sonuçları



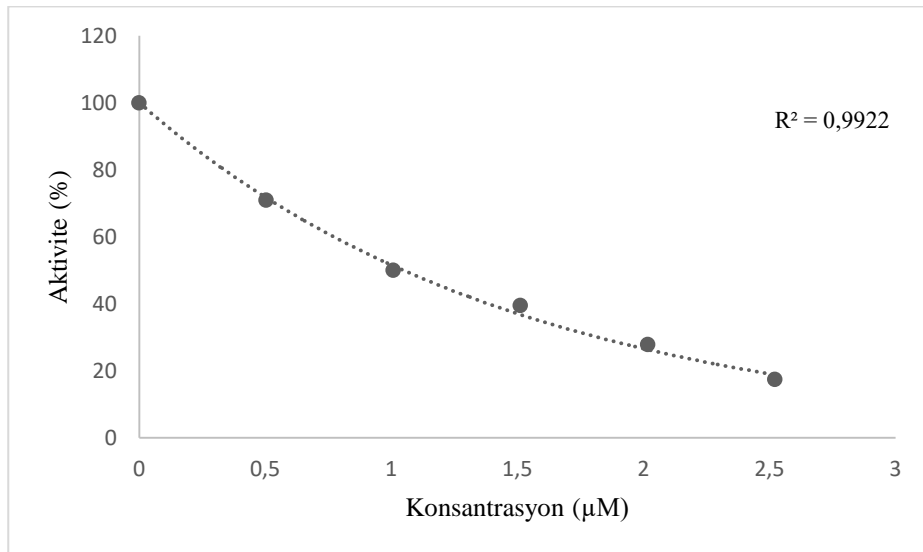
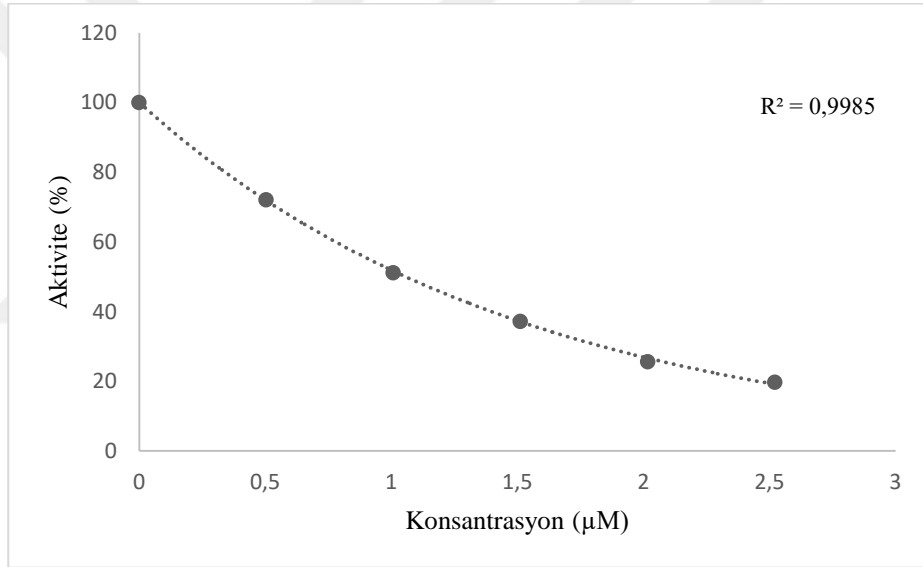
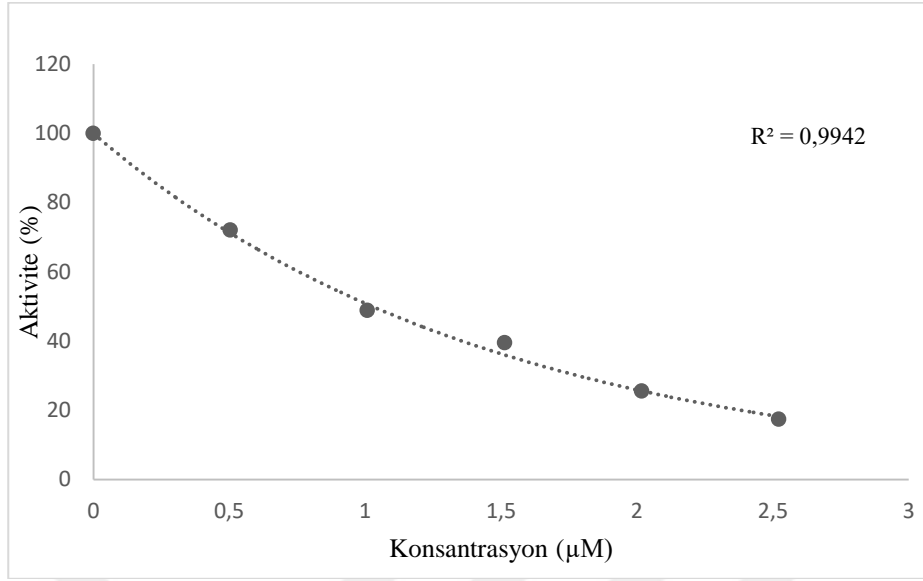
Şekil 4.13. Pozitif Kontrol Takrin'in AChE enzimi için % aktiviteilerinin üç ölçüm sonuçları



Şekil 4.14. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ekstresinin BChE enzimi için % aktiviteilerinin üç ölçüm sonuçları



Şekil 4.15. *A. nodiflorum* bitkisinin su ekstresinin BChE enzimi için % aktiviteilerinin üç ölçüm sonuçları



Şekil 4.16. Pozitif kontrol Takrin'in BChE enzimi için % aktivitelerinin üç ölçüm sonuçları

Düşük IC₅₀ değerleri güçlü inhibitör etkiyi işaret ettiğine göre çalışmada kullanılan etanol ve su ekstresi ile Takrin'in AChE, BChE enzimine karşı IC₅₀ değerleri hesaplanarak karşılaştırma yapıldı.

Çizelge 4.8.'de görüldüğü üzere, AChE enzimi üzerinde IC₅₀ değerleri sırasıyla takrin (IC₅₀: 1.48 µM), etanol ekstresi (IC₅₀: 19.03 µg/mL), ve su ekstresi (IC₅₀: 36.68 µg/mL) olarak belirlenmiştir. BChE enzimi için ise IC₅₀ değerleri takrin (IC₅₀: 1.03 µM), etanol ekstresi (IC₅₀: 24.50 µg/mL), ve su ekstresi (IC₅₀: 40.88 µg/mL) şeklinde hesaplanmıştır. Her iki enzimde de etanol ekstresi güçlü inhibitör özellik gösterirken, su ekstresi zayıf inhibitör etki göstermiştir. Bu durum, etanolün bitkisel bileşenleri daha etkili bir şekilde ortaya çıkardığı ve bu bileşenlerin enzim inhibisyonu üzerinde daha güçlü bir etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir. Çizelge 4.8'e göre, ekstreler AChE enzimine karşı BChE enzimine kıyasla daha güçlü bir inhibitör etki göstermiştir. Ayrıca, fenolik madde ve flavonoid içeriği daha yüksek olan etanol ekstresinin, su ekstresine oranla daha güçlü bir nöroprotektif etki sergilediği bu çalışmada belirlenmiştir.

Apium türleri, flavonoidler ve fenolik bileşikler açısından zengin fitokimyasal bileşimler içermektedir (Pramanik ve ark., 2024). Birçok çalışma, fenolik bileşikler ve flavonoidler gibi biyoaktif bileşenlerin, nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili oksidatif stresi azaltarak bu hastalıklara karşı nöroprotektif bir etki gösterebileceğini ortaya koymuştur (Fukutomi ve ark., 2021; Kaya ve ark., 2024).

Yapılan bir çalışmada *A.gravelous* bitkisinin diklormetan, etanol, su ekstrelerinin AChE ve BChE enzimlerine karşı inhibitör etkileri incelenmiştir. Üç ekstrede de AChE enzimine karşı inhibisyon gözlenmemiştir. BChE enziminde, etanol ekstresinin % inhibisyonu 40.39, su ekstresinin % inhibisyonu 26.73 şeklinde olup, etanol ekstresinin su ekstresinden daha yüksek inhibisyon etki gösterdiği tespit edilmiştir (Boğa ve ark., 2011). Başka bir çalışmada da, *R. chalepensis* bitkisinden elde edilen etanol ve su ekstrelerinin AChE ve BChE enzim aktivitelerine bakılmıştır. Etanol ekstresinin AChE ve BChE IC₅₀ değerleri orta seviyede sonuç verirken su ekstresi hem AChE hem de BChE enziminde IC₅₀ değeri vermemiştir. Çalışmanın sonucunda etanol ekstresi AChE ve BChE enzimlerini inhibe ettiği tespit edilmiştir (Gali ve Bedjou, 2019). Bu çalışma sonuçları, çalışmamızda ki etanol ekstresinin yüksek inhibisyon etkisi ile paralellik göstermektedir. Etanolün biyolojik olarak aktif bileşenlerin çözünürlüğünü artırdığı ve dolayısıyla enzim inhibisyonu gibi biyolojik aktiviteleri güçlendirdiğini desteklemektedir.

4.5. Bitki ekstralarının fenolik bileşiklerinin LC-MS/MS ile analiz sonuçları

A. nodiflorum bitkisinin toprak üstü kısımlarının etanol ve su ekstresinin fenolik bileşikler analizi LC-MS/MS cihazı kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada *A.nodiflorum* biyolojik aktivite gösteren majör fenolik bileşenlerinin tespiti 53 standart madde kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar Çizelge 4.9.'da gösterilmektedir.

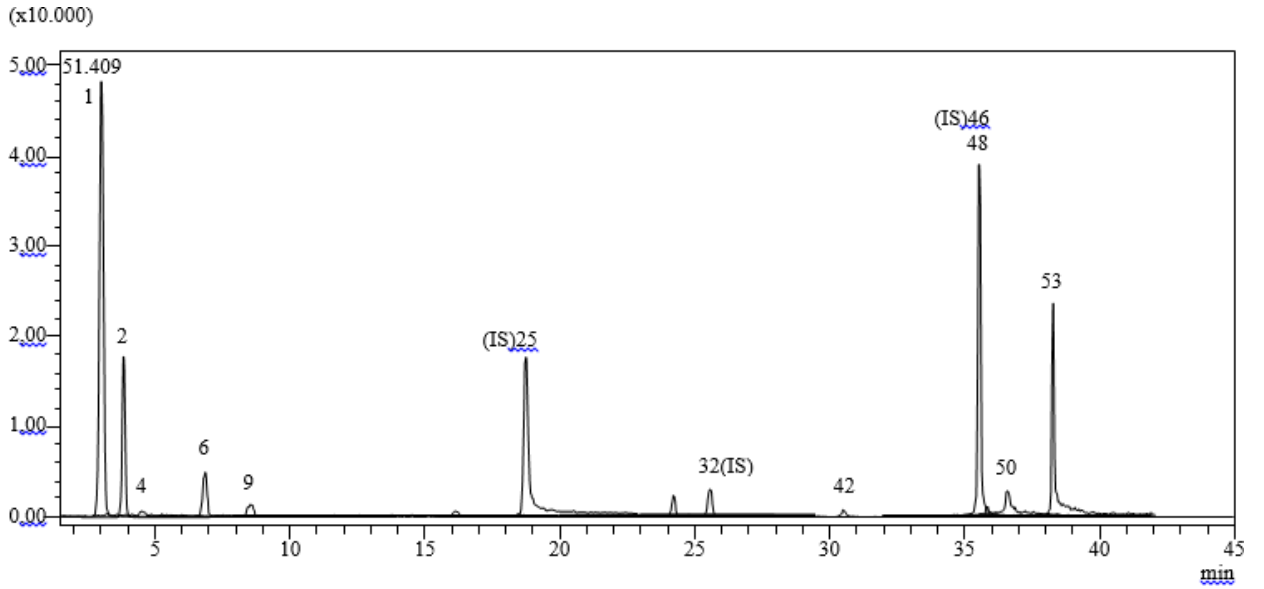


Çizelge 4.9. LC-MS/MS ile ekstrelerde tanımlanan ve miktarı belirlenen fenolik bileşikler (mg analit/g ekstre)

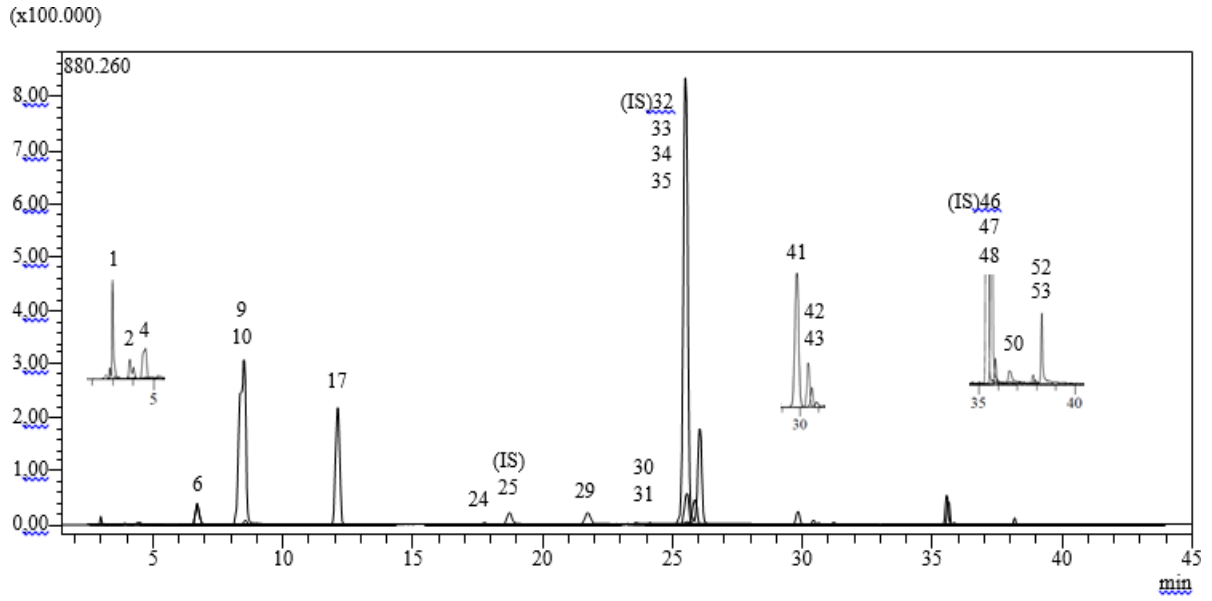
#	Analit	<i>A.nodiflorum</i> su	<i>A.nodiflorum</i> etanol
1	Kinik asit	2.745	1.215
2	Fumarik asit	2.068	0.161
3	Akonitik asit	N.D.	N.D.
4	Gallik asit	0.019	0.192
5	Epigallokateşin	N.D.	N.D.
6	Protokateşik asit	0.152	1.329
7	Kateşin	N.D.	N.D.
8	Gentisik asit	N.D.	N.D.
9	Klorojenik asit	0.036	8.712
10	Protokateşik aldehit	N.D.	0.151
11	Tannik asit	N.D.	N.D.
12	Epigallokateşin gallat	N.D.	N.D.
13	1,5-di kaffeoil kinik	N.D.	N.D.
14	4-OH benzoik asit	N.D.	N.D.
15	Epikateşin	N.D.	N.D.
16	Vanilik asit	N.D.	N.D.
17	Kafeik asit	N.D.	0.418
18	Sirinjik asit	N.D.	N.D.
19	Vanilin	N.D.	N.D.
20	Sirinjik aldehit	N.D.	N.D.
21	Daidzin	N.D.	N.D.
22	Epikateşin gallat	N.D.	N.D.
23	Piceid	N.D.	N.D.
24	p-Kumarik asit	N.D.	0.129
25	Ferulik asit-D3-ISh	N.A. (IS)	N.A. (IS)
26	Ferulik asit	N.D.	N.D.
27	Sinapik asit	N.D.	N.D.
28	Kumarin	N.D.	N.D.
29	Salisilik asit	N.D.	0.109
30	Sinarosit (Luteolin 7 glukozit)	N.D.	0.012
31	Mikuelianin	N.D.	0.018
32	Rutin-D3-IS	N.A. (IS)	N.A. (IS)
33	Rutin	N.D.	3.5
34	İzokersetin	N.D.	8.144
35	Hesperidin	N.D.	1.44
36	o-Kumarik asit	N.D.	N.D.

37	Genistin	N.D.	N.D.
38	Rosmarinik asit	N.D.	N.D.
39	Ellagik asit	N.D.	N.D.
40	Kosmosiin	N.D.	N.D.
41	Kersetin	N.D.	0.41
42	Astragalin	0.03	0.196
43	Nikotiflorin	N.D.	0.145
44	Fisetin	N.D.	N.D.
45	Daidzein	N.D.	N.D.
46	Kuersetin-D3-IS	N.A. (IS)	N.A. (IS)
47	Kuersetin	N.D.	1.192
48	Naringenin	0.004	0.008
49	Hesperetin	N.D.	N.D.
50	Luteolin	0.022	0.013
51	Genistein	N.D.	N.D.
52	Kaempferol	N.D.	0.031
53	Apigenin	0.055	0.023
54	Amentoflovon	N.D.	N.D.
55	Krisin	N.D.	N.D.
56	Asasetin	N.D.	N.D.

N.D.: Tespit edilemedi N.A.: Mevcut değil IS: İç standart



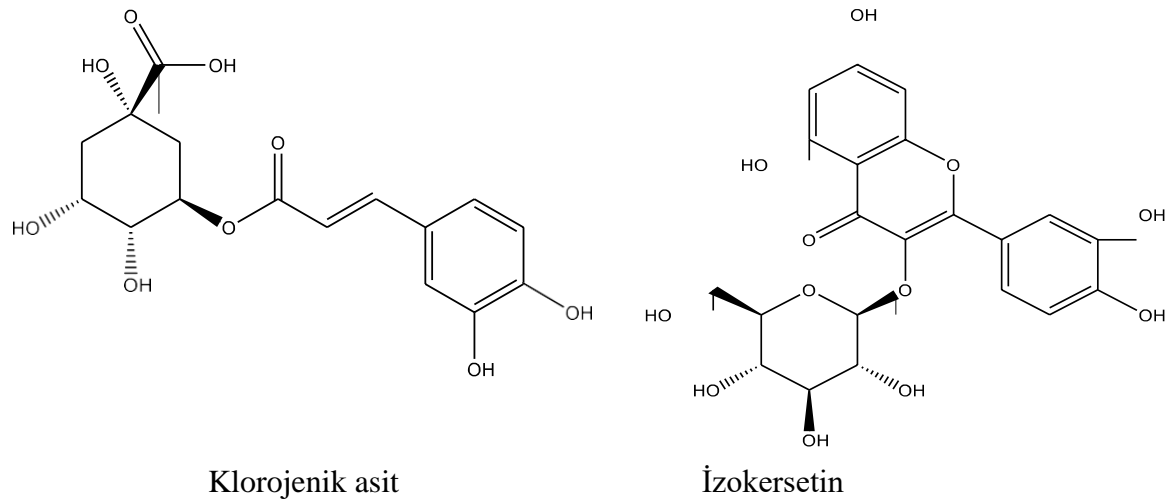
Şekil 4.17. *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ekstresinin LC-MS/MS kromotogramı



Şekil 4.18. *A. nodiflorum* bitkisinin su ekstresinin LC-MS/MS kromotogramı

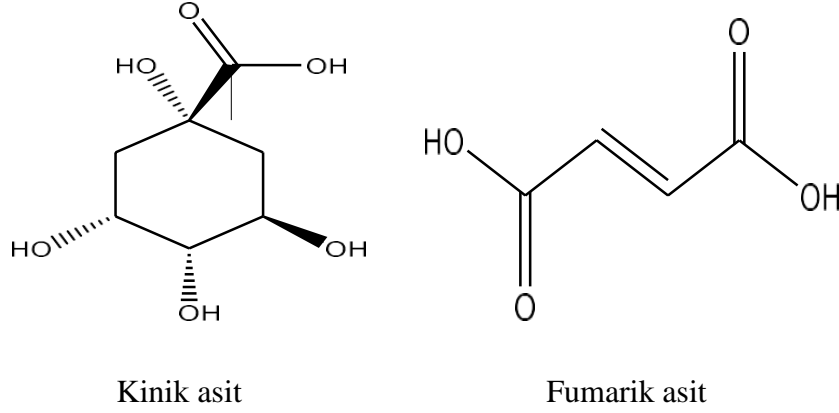
Su ekstresinde 9 farklı fenolik bileşik tespit edilirken, etanol ekstresinde 22 farklı fenolik bileşik tanımlanmıştır. Toplamda 53 standart fenolik bileşen analiz edilmiş olup, bu bileşiklerden 9 tanesi her iki ekstrenin içeriğinde saptanmıştır.

En yüksek fenolik bileşik içerik, 8.712 mg/g ile etanol ekstresinde bulunan klorojenik asit olarak belirlenmiştir. Diğer majör bileşen ise, yine etanol ekstresinde 8.144 mg/g izokersetin'dir.



Şekil 4.19. Etanol ekstresinin majör bileşenleri klorojenik asit ve izokersetinin kimyasal yapıları

Su ekstresinde ise, baş majör fenolik bileşiklerin kinik asit (2.745 mg/g) ve fumarik asit (2.068 mg/g) olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 4.20.)



Şekil 4.20. Su ekstresinin major bileşenleri kinik asit ve fumarik asitin kimyasal yapıları

Yapılan analizin kalitatif ve kantitatif sonuçlarında; kinik asit, fumarik asit, gallik asit, protokateşik asit, klorojenik asit, protokateşik aldehit, kafeik asit, p-kumarik asit, salisilik asit, siranosit, mikuelianin, rutin, izokersetin, hesperedin, kersetin, astragalin, nikotiflorin, kuersetin, naringenin, luteolin, kaempferol, apigenin bileşikleri analiz sonucunda tespit edilmiştir. Ferulik asid-D3-ISH, Rutin-D3-IS ve Kuersetin-D3-IS bileşikleri mevcut değildir. Çizelge 4.9.'da yer alan diğer bileşikler ise *A.nodiflorum* bitkisinde tespit edilmemiştir.

A. nodiflorum bitkisinden elde edilen etanol ekstresinde en çok bulunan bileşik olan klorojenik asit, kahve ve çay gibi gıdalarda da yaygın olarak bulunan önemli bir fenolik asittir (Clifford, 2000). Klorojenik asit, güçlü antioksidan özellikleri ve oksidatif stresi azaltmada önemli bir rol oynamaktadır. Yapısında fenolik halka ve karboksil grubu ile birlikte birkaç OH grubu bulunmaktadır. OH grupları, radikallerle etkileşime girerek antioksidan aktivite sağlamaktadır. Bilimsel araştırmalar, klorojenik asitin serbest radikalleri etkili bir şekilde temizlediğini ve vücudun oksidatif hasara karşı savunma mekanizmalarını güçlendirdiğini göstermiştir (Joneidi ve ark., 2024; Ogawa ve ark., 2023). Yapılan diğer literatür çalışmalarında klorojenik asit, aynı zamanda nörodejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etkileriyle de dikkat çekmektedir. Özellikle Alzheimer hastalığına karşı nöronal hücreleri oksidatif hasardan koruduğu ve bilişsel gerilemeyi yavaşlattığı bilinmektedir (Ogawa ve ark., 2023). Ayrıca, çalışmalar klorojenik asitin hayvan modellerinde bilişsel işlevi ve hafızayı geliştirebileceğini ve Alzheimer tedavisindeki terapötik potansiyelini gösterdiğini öne sürmektedir (Tošović ve Markovic, 2016). Bu bağlamda, *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ekstresi, özellikle nörolojik sağlık açısından da potansiyel faydalar sunabileceği düşünülmektedir. Etanol ekstresindeki diğer

majör bileşen olan İzokersetin ise kersetin maddesinin glikoza bağlı bir türevi olarak bilinmektedir. Aynı zamanda izokersitin (izokuersitrin) antiinflamatuar etki ve antioksidan aktivitelere sahip olduğu yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada flavanol İzokuersitrin'in PC12 hücrelerinde 6-hidroksi dopamin (6-OHDA) kaynaklı toksisiteye karşı koruyucu etkileri incelenmiş ve çalışmanın sonucunda nörotoksin 6-hidroksi dopaminin, PC12 hücrelerinde antioksidan seviyelerinin baskılanmasına sebep olduğu ve bu durumun ilerleyen nöron ölümünün bir nedeni olabileceğini göstermiştir. İzokuersitrin'in 6-OHDA kaynaklı oksidatif strese karşı korumada ki rolü, bu flavanol bileşiğinin Alzheimer, Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar ile ilişkili altta yatan patolojiye karşı bir potansiyel nöroprotektif ajan olarak çalışabileceği düşünülmektedir (Magalingam ve ark., 2014). İzokersetin üzerine yapılan başka bir çalışmada ise; çeşitli antioksidan yollardaki 6"-OH (ω -OH) grubunun rolünü araştırmak için model bileşikler olarak kersetin ve İzokersetin'in karşılaştırılması yapılmıştır. Sonuçlar, kuersitrin ve İzokersetin'in her ikisinin de doza bağlı antioksidan aktiviteler sergilediğini ortaya konulmuştur. Bununla birlikte, İzokersetin, Fe^{+2} bağlayıcı, ferrik iyon indirgeyici antioksidan gücü ve süperoksit anyon temizleme analizlerinde Kersetin'den daha yüksek aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Li ve ark., 2016). Bu bulgular doğrultusunda, çalışmamızda bitkinin antioksidan kapasitesinin İzokersetin içeriğiyle ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır. İzokersetin'in yapısındaki OH gruplarının düzeni, radikallerin etkisini nötralize etmede önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca çalışmada tespit edilen klorojenik asit ve İzokersetin bileşiklerindeki farklı OH grubu düzenlemeleri, radikal süpürme kapasitelerini artırabilir ve bu nedenle bu bileşiklerin sinerjik bir etki oluşturabileceği düşünülmektedir (Li ve ark., 2016). LC-MS/MS analiz sonucunda ise etanol ekstresinde izokersitin bileşiğinin yüksek çıkması literatürde ki çalışmalarla benzerlik göstererek İzokersetin'in antioksidan ve nöroprotektif potansiyeli olduğunu düşündürmektedir.

Su ekstresindeki Kinik asit, (1,3,4,5-tetrahidroksi sikloheksan karboksilik asit), bir sikloheksan karboksilik asit türüdür. Kinik asit, fenolik asit türüdür. Bu bileşik, kahve çekirdeklerinde, cinchona kabuğunda ve patatesten bulunmakla birlikte, elma ve şeftalide de mevcuttur. Yapılan araştırmalar, Kinik asidin radyoprotektif, anti-diyabetik ve anti-nöroinflamatuar özelliklere sahip olduğunu ve aynı zamanda antimutajenik ve anti-enflamatuar bir ajan olarak işlev gördüğünü ortaya koymuştur. Kinik asit ile yapılan bir çalışmada DPPH, DMPD, CUPRAC, FRAP, Fe^{+3} - Fe^{+2} yöntemleri ile antioksidan analizleri yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak BHA, BHT, troloks kullanılan çalışmada en yüksek antioksidan sonucu pozitif kontrol olan BHT, Kinik asitten daha yüksek antioksidan

sonucu vermiştir (Ercan ve Doğru., 2022). Ayrıca Kinik asit, ribozomlar, sentez ve membran akışkanlığı mekanizmalarıyla antioksidan, antidiyabetik, antikanser, antimikrobiyal, antiviral, yaşlanma karşıtı, koruyucu ve analjezik etkiler de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteler göstermektedir (Benali ve ark., 2022). Kinik asit, dört OH grubu içeren bir fenolik asittir ve bu OH grupları antioksidan özelliklere katkıda bulunarak, elektron verici özellikleriyle serbest radikallerin etkisini azaltarak biyomolekülleri korumaktadır.

Su ekstresinde bulunan Fumarik asit, yapısında çift bağlar ve karboksil grupları içeren bir doymamış dikarboksilik asittir. Çift bağları nedeniyle oksidatif strese karşı bazı koruyucu etkileri olabilmekte ve serbest radikallerle etkileşime girebilmektedir. Ayrıca gıdalarda ve içeceklerde asitleştirici olarak kullanılmaktadır. Ekşi hamur ve çavdar ekmekleri, jelatin tatlılar, jelleştirici, meyve suyu, nutrasötik içecekler ve şarap dahil olmak üzere birçok gıda ürünüde kullanılmaktadır. Araştırmalar, fumarik asidin birçok gıdanın kalitesini artırdığını ve maliyetlerini düşürdüğünü göstermektedir (Yang ve ark., 2011). Fumarik asit ve türevlerinin, güçlü serbest radikal temizleyici özellikleri, anti-inflamatuar ve immünomodülatör etkileri nedeniyle çeşitli sağlık yararları sağlayan iyi bilinen antioksidanlar olduğu bildirilmiştir (Kaur ve ark., 2020).

Bu bulgular, etanol ve su ekstraktlarının farklı fenolik bileşik profillerine sahip olduğunu ve bu nedenle farklı biyolojik aktiviteler gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Özellikle fenolik bileşiklerin yapısındaki -OH (hidroksil) grupları, antioksidan aktivite açısından kritik bir rol oynamaktadır. Etanol ekstresinde bulunan klorojenik asit, izokersetin ve diğer fenolik bileşikler, yapılarında birden fazla -OH grubu taşıdıkları için daha güçlü bir antioksidan kapasite sergileyebilmektedir. Bu sonuçlar, *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ekstresinin, hem yüksek antioksidan aktivite hem de zengin fenolik bileşik içeriği açısından en güçlü özelliğe sahip olduğunu göstermektedir. LC-MS/MS verileri ile antioksidan aktivite sonuçlarının örtüşmesi, fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteye önemli bir katkıda bulunduğunu doğrulamaktadır. Bu bulgular, *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ekstresinde fenolik bileşiklerin yapısındaki -OH gruplarının fazlalığı, antioksidan aktivitenin yüksek olmasına ve bitkinin biyolojik aktivitesinin güçlenmesine katkı sağlamaktadır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, *A. nodiflorum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol ve su ekstralarının antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz enzim inhibisyonları ile fenolik içerikleri LC-MS/MS kromatografisi kullanılarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Ayrıca, bu ekstraların biyolojik aktiviteleri üzerine yapılan araştırmalar, bitkinin potansiyel farmakolojik değerini ortaya koymuştur.

Tez çalışmasında antioksidan aktiviteyi belirlemek için farklı yöntemler kullanıldı. Bu yöntemler; DPPH serbest radikal giderme kapasitesi, ABTS^{•+} radikali giderme kapasitesi, CUPRAC (Cu⁺²-Cu⁺) indirgeme kapasitesi ve Fe⁺³-Fe⁺² indirgeme kapasitesi tayinidir. Bu tez çalışmasında kullanılan dört farklı antioksidan yöntemde, literatürde sınırlı çalışma bulunan *A. nodiflorum* bitkisinin antioksidan aktiviteleri standart antioksidanlar BHA, BHT, troloks ve α -tokoferol ile karşılaştırıldığında, etanol ve su ekstralarının aktivitelerinin bu standartlara yakın veya biraz daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Bitkinin etanol ve su ekstralarının 25-400 μ g/mL aralığındaki konsantrasyonlarda çalışıldığı bu araştırmada, DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinde ki IC₅₀ değerleri 5.16-55.18 μ g/mL, ABTS^{•+} radikal giderme aktiviteleri ise IC₅₀ değerleri 1.41-31.92 μ g/mL aralığında hesaplanmıştır. Her iki yöntem sonucunda da etanol ekstresi, su ekstresine göre daha güçlü radikal giderme aktivitesi göstermiş, ancak her iki ekstre de standart antioksidan maddelere kıyasla daha düşük bir radikal giderme aktivitesi sergilemiştir. Ayrıca çizelgelerden (çizelge 4.2. ve 4.3.) de görüldüğü üzere, ekstralar ABTS radikallerini gidermede, DPPH radikallerine göre daha güçlü bir etki göstermiştir. Sonuçlar, etanolün bitkisel bileşenleri daha etkin bir şekilde ortaya çıkardığını ve radikal temizleme kapasitesini arttırdığını göstermektedir. Etanol, lipofilik ve hidrofobik bileşenleri daha iyi çözen bir çözücü olduğu için, antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonunda daha başarılı olabilmektedir. Fe⁺³-Fe⁺² ve CUPRAC yöntemlerinde *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstralarının artan konsantrasyonla birlikte indirgeme gücü aktivitelerinin arttığı gözlemlenmiştir. CUPRAC yönteminde BHT, Fe⁺³-Fe⁺² yönteminde ise BHA en yüksek indirgeme gücünü göstermiştir. Etanol ekstresi, her iki yöntemde de su ekstresine göre daha güçlü bir etki göstermiştir, bu da etanolün bitkisel bileşiklerin ekstraksiyonunda daha etkili bir çözücü olarak işlev görebileceğini ve bu özelliğinin, bitkinin antioksidan ve biyolojik aktivite potansiyelinin daha iyi ortaya çıkarılmasına

katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. *A. nodiflorum* bitkisinden elde edilen etanol ekstresinin toplam fenolik miktarı 46.095 mg GAE/g ekstre, su ekstresinin ise 31.034 mg GAE/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Flavonoid miktarları ise etanol ekstresi için 20.232 mg QE/g ekstre, su ekstresi için 4.082 mg QE/g ekstre olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, etanol ekstresinin fenolik ve flavonoid bileşenler açısından zengin olduğunu ve daha yüksek antioksidan aktivite sergileyerek gıda takviyeleri veya farmasötik ürünler için potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Tez çalışmasında enzim inhibisyon çalışmalarında AChE ve BChE enzimleri kullanılmıştır. AChE enzimi sonuçlarında etanol ekstresinin IC₅₀ değeri 19.03 µg/mL, su ekstresi IC₅₀ değeri 36.68 µg/mL olarak tespit edilmiştir. BChE enzimi sonuçlarında etanol ekstresinin IC₅₀ değeri 24.50 µg/mL su ekstresinin IC₅₀ değeri 40.88 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Sonuçlara göre, hem AChE hem de BChE enzimleri üzerinde etanol ekstresi, su ekstresine göre daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip bulunmuştur. Bu durum, etanol ekstresinin her iki enzimi inhibe etme konusunda daha etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca etanol ekstresinin potansiyel nöroprotektif özellikler taşıdığını ve Alzheimer ve diğer nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek bir ajan olabileceğini düşündürmektedir.

A. nodiflorum bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol ve su ekstralarında bulunan fenolik bileşiklerin analizi, yüksek hassasiyet ve çözünürlük sağlayan LC-MS/MS cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, bitkisel örneklerdeki fenolik bileşiklerin kalitatif ve kantitatif tespitini mümkün kılarak, bitkinin antioksidan ve nöroprotektif potansiyelini belirlemek için ayrıntılı ve güvenilir veriler sağlamaktadır. LC-MS/MS analiziyle yapılan incelemede, *A. nodiflorum* bitkisinin etanol ve su ekstralarında tespit edilen ortak fenolik bileşikler, çeşitli antioksidan ve potansiyel sağlık yararları taşıyan önemli bileşenlerdir. Bu bileşikler arasında izokersetin, kinik asit, fumarik asit, gallik asit, protokateşik asit, klorojenik asit, astragalın, naringenin, luteolin ve apigenin bulunmaktadır. Her iki ekstre türü de bu bileşenleri çeşitli miktarlarda içermektedir, ancak farklı bileşenlerin miktarları ekstre türlerine göre değişiklik göstermektedir.

Çalışmada en yüksek sonucu klorojenik asit (8.712 mg analit/g ekstre) ile etanol ekstresinde vermiştir. Su ekstresinde ise klorojenik asit (0.036 mg analit/g ekstre) bulunmuştur. Izokersetin bileşiği etanol ekstresinde 8.144 mg analit/g ekstre oranında iken, su ekstresinde izokersetin bileşiğine rastlanmamıştır. Kinik asit, su ekstresinde (2.745 mg analit/g ekstre) ile en yüksek bir konsantrasyonda bulunurken, etanol ekstresinde (1.215

mg analit/g ekstre) olarak tespit edilmiştir. Klorojenik asit, yüksek antioksidan kapasiteye sahip bir fenolik bileşiktir ve etanol ekstresinde yüksek konsantrasyonu, bu ekstrenin güçlü antioksidan özelliklerini açıklamaktadır. Öte yandan, flavonoid grubundan bir bileşik olan izokersetin, etanol ekstresinde yüksek miktarda bulunmuş olup bu da etanolün flavonoidleri daha etkili bir şekilde çözebildiğini ve dolayısıyla bu bileşiği daha yüksek konsantrasyonda içerdiğini göstermektedir.

Bu çalışma, *A. nodiflorum* bitkisinin biyolojik aktivitelerinin, AChE ve BChE enzim inhibisyon özelliklerinin değerlendirildiği kapsamlı çalışmadır. Elde edilen sonuçlar, *A. nodiflorum* bitkisinin biyoaktif bileşenlerinin geleneksel tıpta destekleyici, doğal antioksidan ve nöroprotektif ajanlar olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Ancak, tıbbi kullanım için ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesi, metabolik enzimlerin araştırılması, fenolik bileşiklerin izolasyonu, antimikrobiyal, toksikolojik ve ileri düzey kromatografik analizlerin yapılması, gelecekteki çalışmalar için önem arz etmektedir. Bu tür çalışmalar, bitkinin sağlık ve tedavi alanındaki uygulama potansiyelini açığa çıkaracak ve bilimsel literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Akbaş, P., Kaya, E., Makav, M., Yıldız, G., (2023). Investigation of antimicrobial and antioxidant activities of *Chenopodium album* extracts and their effects on gentamicin nephrotoxicity in rats. *Food Science & Nutrition*, 11(12), 8121-8130.
- Akyüz, M., (2019). Determination of antioxidant activity of ethanol extract of gölevez [(*Colocasia esculenta* (L.))] tubers. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22, 388-394.
- Akyüz, M., (2022). The determination of antidiabetic, anticholinesterase and antioxidant properties of ethanol and water extracts of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) fruits at different maturity stages. *South African Journal of Botany*, 151, 1035-1048.
- Akyüz, M., Yabo-Dambagi, L., Kılıç, T., Çakır, A., (2022). Antidiabetic, Neuroprotective and Antioxidant Potentials of Different Parts of *Pistacia terebinthus* fruits. *South African Journal of Botany*, 147, 443-456.
- Albayrak, S., Sağdıç, O., Aksoy, A., (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26(4), 401-409.
- Annakkaya, P., (2012). Turna yemişi (*Vaccinium macrocarpon*) ve mersinin (*Myrtus communis*) liyofilize edilmiş su ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve fenolik içeriklerinin aydınlatılması. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 101s.
- Apak R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E., (2004). Novel Total Antioxidant Activity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence Of Neocuproine: Cuprac Method. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 52 (26), 7970-7981.
- Arena, R., Manuguerra, S., Collins, E., Mahdhi, A., Renda, G., Messina, C. M., & Santulli, A., (2020). Antioxidant properties of a supercritical fluid extract of the halophyte *Mesembryanthemum nodiflorum* L. from sicilian coasts: Nutraceutical and cosmeceutical applications. *Applied Sciences*, 10(7), 2374.
- Arena, R., Manuguerra, S., Collins, E., Mahdhi, A., Renda, G., Messina, C. M., Santulli, A., (2020). Antioxidant properties of a supercritical fluid extract of the halophyte *Mesembryanthemum nodiflorum* L. from sicilian coasts: Nutraceutical and cosmeceutical applications. *Applied Sciences*, 10(7), 2374.
- Baananou, S., Bouftira, I., Mahmoud, A., Boukef, K., Marongiu, B., Boughattas, N. A., (2013). Antiulcerogenic and antibacterial activities of *Apium graveolens* essential oil and extract. *Natural product research*, 27(12), 1075-1083.
- Bakır, D., Akdeniz, M., Ertas, A., Yılmaz, M. A., Yener, I., Firat, M., Kolak, U., (2020). A GC-MS method validation for quantitative investigation of some chemical markers in *Salvia hypargeia* Fisch. & CA Mey. of Turkey: Enzyme inhibitory potential of ferruginol. *Journal of Food Biochemistry*, 44(9), e13350.
- Baydar, H., (2013). Tıbbi ve aromatik bitkiler bilimi ve teknolojisi (Genişletilmiş 4. Baskı). *Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın*, (51), 303.
- Bayram, S. E., Özeker, E., Elmacı, Ö. L., (2013). Fonksiyonel gıdalar ve çilek. *Akademik Gıda*, 11(2), 131-137.

- Baytop, T., (1994). Türkçe bitki adları sözlüğü. Yayın No: 578. ISBN: 978-9-751-60542-9, 508s.
- Benali, T., Bakrim, S., Ghchime, R., Benkhaira, N., El Omari, N., Balahbib, A., Taha, D., Zengin. G., Hasan. M., Bibi. Ş., Bouyahya, A., (2022). Pharmacological insights into the multifaceted biological properties of quinic acid. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 1-30.
- Blois, M. S., (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical:
- Boğa, M., Ertaş, A., Yılmaz, M. A., Kızıl, M., Çeken, B., Haşimi, N., Özden. Y. T., Demirci, S., Yener, İ., Deveci, Ö., (2016). UHPLC-ESI-MS/MS and GC-MS analyses on phenolic, fatty acid and essential oil of *Verbascum pinetorum* with antioxidant, anticholinesterase, antimicrobial and DNA damage protection effects. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 15(3), 393.
- Boğa, M., Hacıbekiroğlu, I., Kolak, U., (2011). Antioxidant and anticholinesterase activities of eleven edible plants. *Pharmaceutical biology*, 49(3), 290-295.
- Büyüktuncel, E., (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93- 103.
- Clifford, M. N., (2000). Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1033-1043.
- Das, U. N., (2012). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as markers of low-grade systemic inflammation. *Annals of hepatology*, 11(3), 409-411.
- Demirci, S., (2010). *Andırın (Kahramanmaraş) ilçesinde etnobotanik bir araştırma*. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. 251s.
- Doğan, A., Bulut G., Tuzlacı E., Şenkardeş, İ., (2014). A review of edible plants on the Turkish *Apiaceae* species. *Journal of Faculty Pharmacy of Istanbul University*, 44(2), 251-262.
- Ehsanullah, M., Asif, M., Amin, M. Y., (1990). Effects of bekh-k-karafs (*Apium graveolens* linn) root on central nervous systme. *Ancient Science of Life*, 10(2), 98-102.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., Featherstone, R. M., (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Ercan, L., Doğru, M., (2022). Antioxidant and antimicrobial capacity of quinic acid. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11(4), 1018-1025.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M. S., (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 11(1), 52-67.

- Fukutomi, R., Ohishi, T., Koyama, Y., Pervin, M., Nakamura, Y., Isemura, M., (2021). Beneficial effects of epigallocatechin-3-O-gallate, chlorogenic acid, resveratrol, and curcumin on neurodegenerative diseases. *Molecules*, 26(2), 415.
- Gali, L., Bedjou, F., (2019). Antioxidant and anticholinesterase effects of the ethanol extract, ethanol extract fractions and total alkaloids from the cultivated *Ruta chalepensis*. *South African Journal of Botany*, 120, 163-169.
- García-Herrera, P., Sánchez-Mata, M. C., Cámara, M., Fernández-Ruiz, V., Díez-Marqués, C., Molina, M., Tardío, J., (2014). Nutrient composition of six wild edible Mediterranean *Asteraceae* plants of dietary interest. *Journal of Food Composition and Analysis*, 34(2), 163-170.
- Gençay, A., (2007). Cizre (Şırnak)'nin etnobotanik özellikleri. Yüksek Lisans Tezi.
- Giacobini, E., (1995). Cholinesterase inhibitors: From preclinical studies to clinical efficacy in Alzheimer disease. In *Enzymes of the cholinesterase family* (pp. 463-469). Boston, MA: Springer US.
- Giacobini, E., (2001). Selective inhibitors of butyrylcholinesterase: a valid alternative for therapy of Alzheimer's disease. *Drugs & aging*, 18, 891-898.
- Guarrera, P. M., Savo, V., (2013). Perceived health properties of wild and cultivated food plants in local and popular traditions of Italy: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(3), 659-680.
- Gülçin, I., (2007). Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa. *Amino acids*, 32, 431-438.
- Gülçin, I., (2010). Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative food science & emerging technologies*, 11(1), 210-218.
- Gülçin, I., (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86, 345-391.
- Gülçin, I., (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.
- Gülçin, I., Taslimi, P., Aygün, A., Sadeghian, N., Bastem, E., Kufrevioglu, O. I., Türkan, F., Şen, F. (2018). Antidiabetic and antiparasitic potentials: Inhibition effects of some natural antioxidant compounds on α -glycosidase, α -amylase and human glutathione S-transferase enzymes. *International journal of biological macromolecules*, 119, 741-746.
- Gülçin, İ., Petrova, O.V., Taslimi, P., Malysheva, S.F., Schmidt, E.Y., Sobenina, L.N., Gusarova, N.K., Trofimov, B.A., Tuzun, B., Farzaliyev, V.M., Alwasel, S., Sujayev, A.R., (2022). Synthesis, characterization, molecular docking, acetylcholinesterase and α -glycosidase inhibition profiles of nitrogen-based novel heterocyclic compounds. *Chemistry Select*, 7(19), e202200370.
- Heo, H. J., Lee, C. Y., (2005). Strawberry and its anthocyanins reduce oxidative stress-induced apoptosis in PC12 cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1984-1989.

- Jittrepotch, N., Ushio, H., Ohshima, T., (2006). Effects of EDTA and a combined use of nitrite and ascorbate on lipid oxidation in cooked Japanese sardine (*Sardinops melanostictus*) during refrigerated storage. *Food chemistry*, 99(1), 70-82
- Joneidi, S., Alizadeh, S. R., Ebrahimzadeh, M. A., (2024). Chlorogenic Acid Derivatives: Structural Modifications, Drug Design, and Biological Activities: A Review. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 24(7), 748-766.
- Journal of Pharmacology*, 887, 173554.
- Jung, W. S., Chung, I. M., Kim, S. H., Kim, M. Y., Ahmad, A., Praveen, N., (2011). In vitro antioxidant activity, total phenolics and flavonoids from celery (*Apium graveolens*) leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(32), 7022-7030.
- Karabulut, H., Gülay, M. Ş., (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- Karadeniz, F., (2006)., Domates ve Havuçta Karotenoid Madde Dağılımı ve Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Proje No: 20030711077.
- Kaur, G., Shivanandappa, T. B., Kumar, M., Kushwah, A. S., (2020). Fumaric acid protect the cadmium-induced hepatotoxicity in rats: owing to its antioxidant, anti-inflammatory action and aid in recast the liver function. *Naunyn-schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393, 1911-1920.
- Kaya, E., (2022). *Helichrysum plicatum* çiçeklerinin su, etanol, aseton, kloroform ve hekzan ekstraktlerinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(2), 840-849.
- Kaya, E., Aydın, T., Sağlamtas, R., (2024). Evaluation of antioxidant activities and inhibition effects of *Tribulus terrestris* L. extracts on some metabolic enzymes. *South African Journal of Botany*, 170, 156-162.
- Kholieqoh, A. H., Anam, K., Kusriani, D., (2022). Isolation and Antioxidant Activity of Flavonoid Compound in Ethanolic Extract of Celery Leaves (*Apium graveolens* L.). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 25(12), 450-455.
- Khongrum, J., Yingthongchai, P., Tateing, S., (2021). Exploring the synergistic effect of celery and Chinese kale on antioxidant and anti-pancreatic lipase and anti-acetylcholinesterase activities. *J Bio Sci*, 3(2), 899-904.
- Kiril. L. S., Mariya. D. R., Lachezar. K. S., Vlaskovska, V. M., (2015). The effect of *Apium nodiflorum* in experimental osteoporosis. *Current pharmaceutical biotechnology*, 16(5), 414-423.
- Koala, M., Ramde-Tiendrebeogo, A., Ouedraogo, N., Ilboudo, S., Kaboré, B., Kini, F. B., Ouedraogo, S., (2021). HPTLC phytochemical screening and hydrophilic antioxidant activities of *Apium graveolens* L., *Cleome gynandra* L., and *Hibiscus sabdariffa* L. used for diabetes management. *American Journal of Analytical Chemistry*, 12(1), 15-28.

- Kuzu, M., Kandemir, F. M., Yildirim, S., Kucukler, S., Caglayan, C., Turk, E., (2018). Morin attenuates doxorubicin-induced heart and brain damage by reducing oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 443-453.
- Li, M., Li, M., Wang, L., Li, M., Wei, J., (2023). Apiaceae Medicinal Plants in China: A Review of Traditional Uses, Phytochemistry, Bolting and Flowering (BF), and BF Control Methods. *Molecules* 2023, 28, 4384.
- Li, P., Jia, J., Zhang, D., Xie, J., Xu, X., Wei, D., (2014). In vitro and in vivo antioxidant activities of a flavonoid isolated from celery (*Apium graveolens* L. var. dulce). *Food & Function*, 5(1), 50-56.
- Li, X., Jiang, Q., Wang, T., Liu, J., Chen, D., (2016). Comparison of the antioxidant effects of quercitrin and isoquercitrin: Understanding the role of the 6''-OH group. *Molecules*, 21 (9), 1246.
- Magalingam, K. B., Radhakrishnan, A., Haleagrahara, N., (2014). Protective effects of flavonol isoquercitrin, against 6-hydroxy dopamine (6-OHDA)-induced toxicity in PC12 cells. *BMC research notes*, 7, 1-8.
- Maggi, F., Giuliani, C., Fico, G., Ricciutelli, M., Bramucci, M., Quassinti, L., Petrelli, D., Vitali, L. A., Cianfaglione, K., Trillini, B., Süt, S., Dall'Acqua, S., (2019). Secondary metabolites, secretory structures and biological activity of water celery (*Apium nodiflorum* (L.) Lag.) growing in central Italy. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153(2), 325-335.
- Maxia, A., Falconieri, D., Piras, A., Porcedda, S., Marongiu, B., Frau, M. A., Gonçalves, M. J., Cabral, C., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., (2012). Chemical composition and antifungal activity of essential oils and supercritical CO₂ extracts of *Apium nodiflorum* (L.) Lag. *Mycopathologia*, 174(1), 61-67.
- Menghini, L., Leporini, L., Tirillini, B., Epifano, F., Genovese, S., (2010). Chemical composition and inhibitory activity against *Helicobacter pylori* of the essential oil of *Apium nodiflorum* (Apiaceae). *Journal of Medicinal Food*, 13(1), 228-230.
- Morales, P., Carvalho, A. M., Sánchez-Mata, M. C., Cámara, M., Molina, M., Ferreira, I. C., (2012). Tocopherol composition and antioxidant activity of Spanish wild vegetables. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59, 851-863.
- Mutha, R. E., Tatiya, A. U., Surana, S. J., (2021). Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: An overview. *Future journal of pharmaceutical sciences*, 7, 1-13.
- Nature*, 181 (4617), 1199-1200.
- Njume, C., Afolayan, A. J., Ndip, R. N., (2009). An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*, 3(13), 685-699.
- Noorbakhsh, F., Lotfali, E., Ghajari, A., Ansari, S., Mohammadi, R., Arab-Mazar, Z., (2017). The Effect of *Chenopodium Album* and *Apium Nodiflorum* on the Expression of the Regulatory Gene (aflR) that Produces Aflatoxin in *Aspergillus parasiticus*. *Herbal Medicines Journal (Herb Med J)*, 60-65.

- Ogawa, H., Nishio, T., Yoshikawa, Y., Sadakane, K., Yoshikawa, K., (2023). Chlorogenic Acid Protects DNA against Double-strand Breaks: Evidence from Single Molecule Observation. *Chemistry Letters*, 52(6), 524-527.
- Oyaizu, M., (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- Özler, E., (2021). Sarı halile (*Terminalia citrina roxb. ex. fleming*) türünün antioksidan kapasitesinin ve fenolik içeriklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gümüşhane Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gümüşhane. 71s.
- P Tsakova, A., Surcheva, K. S., Bankova, S. V., Popova, P. M., Peev, R. D., Popivanov, R. P., Paas, E. and G. Pierce., (2002). An Introduction to Functional Foods, Nutraceuticals and Natural Health Products. National Centre for Agri-Food Research in Medicine. <http://www.sbrc.ca/ncarm/introfuncfoods.htm>.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R., (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5, e47.
- Park, Y. K., Koo, M. H., Ikegaki, M., Contado, J. O. S. E., (1997). Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arq. Biol. Technol*, 97-106.
- Patočka, J., Kuča, K., Jun, D., (2004). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase—important enzymes of human body. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 47(4), 215-228.
- Pehlivan, M., Güleriyüz, M., (2004). The importance of raspberries and blackberries for human health. *Garden*, 33 (1).
- Phetcharat, B., Wanida, S., Supita, T., Pennapa, C., (2015). Ameliorative Effect of *Apium graveolens* L. on Scopolamine-Induced Amnesia Mice. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 82-93.
- Popova, M., Stoyanova, A., Valyovska-Popova, N., Bankova, V., Peev, D., (2014). A new coumarin and total phenolic and flavonoids content of Bulgarian celeriac. *Bulgarian Chemical Communications*, 64, 88-93.
- Prakash, D., Suri, S., Upadhyay, G., Singh, B. N., (2007). Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants. *International journal of food sciences and nutrition*, 58(1), 18-28.
- Pramanik, A., Maheshwari, S., Acharya, N., (2024). Medicinal Plants, Antioxidant potential, and applications to aging. In *role of herbal medicines: Management of Lifestyle Diseases*. ISBN: 978-981-99-7703-1, Signapure, 403-413.
- Rahaman, M. M., Hossain, R., Herrera- Bravo, J., Islam, M. T., Atolani, O., Adeyemi, O. S., Owolodun. O. A., Kambizi. L., Daştan. D. S., Calina. D., Sharifi- Rad, J., (2023). Natural antioxidants from some fruits, seeds, foods, natural products, and associated health benefits: An update. *Food Science & Nutrition*, 11(4), 1657-1670.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C., (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

- Sameh, B., Ibtissem, B., Mahmoud, A., Boukef, K., Boughattas, N. A., (2011). Antioxidant activity of *Apium graveolens* extracts. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 1(5-6), 340-343.
- Saxena, M., Dubey, R., (2019). Target enzyme in Alzheimer's disease: Acetylcholinesterase inhibitors. *Current topics in medicinal chemistry*, 19(4), 264-275.
- Sharma, K., (2019). Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics. *Molecular medicine reports*, 20(2), 1479-1487.
- Shinde, A., Ganu, J., Naik, P., (2012). Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: a review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63.
- Slinkard, K., Singleton, V. L., (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.
- Sowbhagya, H. B., (2014). Chemistry, technology, and nutraceutical functions of celery (*Apium graveolens* L.): an overview. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(3), 389-398.
- Sridhar, G. R., Gumpeny, L., (2024). Emerging significance of butyrylcholinesterase. *World Journal of Experimental Medicine*, 14(1).
- Szarek, N., Jaworska, G., Hanus, P., (2024). Profile of phenolic compounds and antioxidant activity of celery (*Apium graveolens*) juices obtained from pulp after α -amylase treatment from *aspergillus oryzae*. *Molecules*, 29(7), 1438.
- Tabet, N., (2006). Acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: anti-inflammatories in acetylcholine clothing. *Age and ageing*, 35(4), 336-338.
- Tardío, J., Sánchez-Mata, M. D. C., Morales, R., Molina, M., García-Herrera, P., Morales, P., Diez-Marques, C., Ruiz-Fernandez, V., Camara, M., Santayana-Pardo-De, M., Gonzalez-Matallana, M. C., Rodriguez-Ruiz, M. B., Mata-Sanchez, D., Isasa-Torija, M. E., Guerrero-Guil, L. J., Boussalah, N., (2016). Ethnobotanical and food composition monographs of selected Mediterranean wild edible plants. *Mediterranean wild edible plants: ethnobotany and food composition tables*, 273-470.
- Thiviya, P., Gamage, A., Piumali, D., Merah, O., Madhujith, T., (2021). *Apiaceae* as an important source of antioxidants and their applications. *Cosmetics*, 8(4), 111.
- Tiring, G., Satar, S., Özkaya, O., (2021). Sekonder metabolitler. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35(1), 203-215.
- Tošović, J., Marković, S., (2016). Structural and antioxidative features of chlorogenic acid. *Croatica Chemica Acta*, 89(4), 535-541.
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., Yangsabai, A., (2018). Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines*, 5(3), 93.
- Tuzlacı, E., (2011a). Türkiye bitkileri sözlüğü. ISBN: 987-6-051-06361-4, İstanbul, 1294s.

- Tuzlacı, E., (2011b). Türkiye'nin yabancı besin bitkileri ve ot yemekleri. ISBN: 978-6-051-06348-5, İstanbul, 528s.
- Ucak, I., Afreen, M., (2022). Nutraceutical and functional food: Enzymes. ISBN: 978-0-323-85052-0, USA, 537-571s.
- Vaz, M., Silvestre, S., (2020). Alzheimer's disease: recent treatment strategies. *European*
- Yağcı, C., Toker, MC., Toker, G., (2008). Flavonoids produced by plant tissue culture. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, (1), 47-58.
- Yang, S. T., Zhang, K., Zhang, B., Huang, H., (2011).3.16-Fumaric acid. *Comprehensive biotechnology, 2nd edn. Academic Press, Burlington*, 163- 177.
- Yılmaz, M. A., (2020). Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC–MS/MS method validation, *Industrial Crops and Products*, 149, 112347.
- Yılmaz, M. A., Taslimi, P., Kılıç, Ö., Gülçin, İ., Dey, A., Bursal, E., (2023). Unravelling the phenolic compound reserves, antioxidant and enzyme inhibitory activities of an endemic plant species, *Achillea pseudoaleppica*. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 41(2), 445-456.
- Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van. 267s.
- Zengin, G., Zheleva-Dimitrova, D., Babacan, E. Y., Polat, R., Çakılcıoğlu, U., Sadeer, N. B., Costa. V. E., Naviglio. D., Gallo. M., Montesano. D., Lorenzo. M. J., Gevrenova, R., (2022). Detailed Chemical Characterization and Biological Propensities of *Malabaila lasiocarpa* Extracts: An Endemic Plant to Turkey. *Chemistry & Biodiversity*, 19(4), e202200068.
- Zhou, Y., Taylor, B., Smith, T. J., Liu, Z. P., Clench, M., Davies, N. W., Rainsford, K. D., (2009). A novel compound from celery seed with a bactericidal effect against *Helicobacter pylori*. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 61(8), 1067-1077.